

# Okolišne i genetičke odrednice pojavnosti i međuovisnosti povišene serumske koncentracije mokraćne kiseline i gihta

---

**Jerončić, Iris**

**Doctoral thesis / Disertacija**

**2014**

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

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:171:444141>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-02-23**



*Repository / Repozitorij:*

[MEFST Repository](#)



**Sveučilište u Splitu  
Medicinski fakultet**

**IRIS JERONČIĆ**

**OKOLIŠNE I GENETIČKE ODREDNICE POJAVNOSTI I  
MEĐUOVISNOSTI POVIŠENE SERUMSKE KONCENTRACIJE  
MOKRAĆNE KISELINE I GIHTA**

**Doktorska disertacija**

**Split, 2014.**

**Sveučilište u Splitu  
Medicinski fakultet**

**Iris Jerončić**

**OKOLIŠNE I GENETIČKE ODREDNICE POJAVNOSTI I  
MEĐUOVISNOSTI POVIŠENE SERUMSKE KONCENTRACIJE  
MOKRAĆNE KISELINE I GIHTA**

**Doktorska disertacija**

**Mentor: doc. dr. sc. Ozren Polašek**

**Split, 2014.**

Rad je izrađen u Centru za globalno zdravlje i na Katedri za javno zdravstvo Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu.

Voditelj rada: doc. dr. sc. Ozren Polašek

Osobitu zahvalnost iskazujem svom mentoru doc. dr. sc. Ozrenu Polašku, dr. med., na stručnoj potpori, savjetima i pomoći.

Zahvaljujem svim kolegama koji sudjeluju u projektu 10,001 Dalmatinac te su mi na sve moguće načine pomogli pri izradi ove radnje.

# Sadržaj

1. UVOD .....	1
1.1. Povijesni okvir .....	2
1.2. Purinski metabolizam .....	4
1.2.1. Sinteza purina .....	5
1.2.2. Razgradnja purina .....	6
1.2.3. Poremećaj purinskog metabolizma .....	6
1.3. Patofiziologija hiperuricemije .....	7
1.3.1. Hiperuricemija.....	7
1.3.2. Asimptomatska hiperuricemija .....	9
1.3.3. Mokraćna kiselina kao antioksidans .....	10
1.3.4. Hiperuricemija uz metaboličke poremećaje .....	13
1.4. Klinički sindromi povezani s hiperuricemijom .....	14
1.5. Giht.....	17
1.5.1. Epidemiologija gihta .....	18
1.5.2. Genetska podloga gihta .....	21
1.5.3. Utjecaj životnog stila i prehrane.....	25
1.5.4. Sekundarni giht .....	27
1.5.5. Giht i saturnizam .....	27
1.5.6. Patogeneza akutnog gihta.....	28
1.5.7. Urični tofi .....	30
1.5.8. Akutni urični artritis .....	31
1.5.9. Giht bez hiperuricemije .....	32
1.6. Popratne bolesti uz giht .....	32
1.7. Dijagnostičke pretrage za giht.....	35
1.7.1. Biokemijske pretrage.....	35
1.7.2. Identifikacija kristala.....	36
1.7.3. Radiološki nalaz .....	36
1.7.4. Diferencijalna dijagnoza gihta .....	37
1.8. Liječenje gihta .....	39
2. CILJEVI I HIPOTEZA .....	41

3. MATERIJALI I METODE	42
3.1. Osnovna obilježja populacije otoka Korčule i Visa	42
3.2. Opis istraživane populacije i uzorka	47
3.3. Etička odobrenja	49
3.4. Mjerenja	50
3.5. Određivanje gihta	53
3.6. Statistička analiza	53
4. REZULTATI	55
5. RASPRAVA	73
5.1. Oksidacijski stres	73
5.2. Antioksidansi i obrana u organizmu	76
5.3. Mokraćna kiselina kao antioksidans	78
5.4. Genetska podloga razine mokraćne kiseline i gihta	89
5.5. Populacijske razlike	92
5.6. Ograničenja istraživanja	93
6. ZAKLJUČAK	95
7. SAŽETAK	97
8. ABSTRACT	98
9. POPIS LITERATURE	99
ŽIVOTOPIS	136
POPIS DODATAKA	139

## POPIS OZNAKA I KRATICA

ABC	- ATP-vežući kompleks (engl. ATP-binding protein)
ABCG2	- ATP-binding cassette sub-family G member 2 protein
ACTH	- Adrenokortikotropin (engl. Adrenocorticotropic hormone)
ADA	- Adenzin-dezaminaza
AIDS	- Sindrom stečene imunodeficijencije (engl. Acquired Immunodeficiency Syndrome)
APC	- Antigen prezentirajuće stanice (engl. Antigen presenting cells)
apo E	- Apolipoprotein
APRT	- Adenin-fosforibozil-transferaza
ASC	- Kaspazni adaptorski proteini (engl. protein activating adaptor for caspase-1)
ATP	- Adenzin-trifosfat
BMI	- Indeks tjelesne mase (engl. Body mass index)
CARD	- engl. Caspase activation and recruitment domains
$C_5H_4N_4O_3$	- Mokraćna kiselina
CNV	- engl. Copy-number variations
CPPD	- Kalcij pirofosfat dihidrat
CRP	- C-reaktivni proteini
CT	- Kompjutorizirana tomografija
DAMP	- Molekularni uzorak opasnosti (engl. Danger-associated molecular patterns)
dGTP	- dezoksi gvanozin trifosfat (engl. deoxyguanosine-triphosphate)
DNA	- Dezoksiribonukleinska kiselina (engl. Deoxyribonucleic acid)
EPQ	- Eysenckov upitnik osobnosti (engl. Eysenck Personality Questionnaire)
EU	- Europska unija (engl. European Union)

FFA	- Slobodne masne kiseline (engl. free fatty acid)
GCKR	- Glukokinazni regulatorni protein (eng. glucokinase regulatory protein)
GHO – 30	- Opći upitnik o zdravlju (engl. General Health Questionnaire 30)
GMP	- Guanozin-monofosfat (engl. guanosine monophosphate)
$h^2$	- Koeficijent heritabilnosti
HDL	- Lipoproteini visoke gustoće (engl. high density lipoprotein)
HGPRT	- Hipoksantin-guanin-fosforibozil-transferaza
IgG	- Imunoglobulinima gama
IL-1	- Interleukin 1
IMP	- Inozin-monoposfat
LDL	- Lipoproteini niske gustoće (engl. low density lipoprotein)
LPS	- Bakterijski lipopolisaharid (engl. Bacterial lipopolysaccharide)
LRRC16A	- engl.gene (protein-coding), leucine rich repeat containing 16A
LRR	- leucinom bogate regije (engl. Leucine-rich repeats)
LTB4	- Leukotrien B <sub>4</sub>
MBL	- Lektin koji veže manan (engl. Mannan-binding lectin)
MCP-1	- Monocitni kemoreaktivni protein 1 (engl. monocyte chemoattractant protein-1)
MCT9	- Transport monokarboksilne kiseline (engl. carnitine efflux transporter)
MR	- Magnetska rezonanca
MyD88	- Gen 88 primarne mijeloidne diferencijacije (engl. Myeloid differentiation primary response)
NF-κB	- Nuklearni čimbenik κB (engl. nuclear factor κB)
NLR	- Nod-u slični receptor (engl. Nod-like receptor)
NOD	- Regija oligomerizacije nukleotida (engl. nucleotide oligomerization domain)



NPT4	- Natrijev fosfat transportni protein (engl. Sodium-Dependent Phosphate Transport Protein 4)
NSAIDs	- Nesteroidni protuupalni lijekovi (engl. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs)
O <sup>2-</sup>	- Superoksidni ion
OAT	- Organski anionski transporter (engl. organic anion transporter)
ONOO <sup>-</sup>	- Peroksinitrit
PAMP	- Molekularni uzorak patogena (engl. Pathogen associated molecular patterns)
PAPA	- Piogeni sterilni artritis, pioderma gangrenozum i akne
PGE2	- Prostaglandin E2
PGN	- Peptidoglikani
pH	- Mjera kiselosti ili lužnatosti neke otopine
PDZK1	- engl. multi-PDZ domain-containing adaptor protein
PLINK	- Program za analizu genoma
PNP	- Purinska nukleozid-fosforilaza
PSTPIP1	- engl. Proline-serine-threonine phosphatase-interacting protein 1
PRP	- engl. Patohogen-recognition receptors
PRR	- Receptor za prepoznavanje uzorka (engl. Pattern recognition receptors)
RFLP	- engl. <i>Restriction Fragment Length Polymorphism</i>
RNA	- Ribonukleinska kiselina (engl. Ribonucleic acid)
ROS	- Reaktivni kisikovi spojevi (engl. Reactive oxygen species)
SAD	- Sjedinjene Američke Države
SAP	- Komponenta serumskog amiloida P (engl. Serum amyloid P component)
SLC22A12	- Organski anionski transporter (engl. Solute carrier family 22 (organic anion/cation transporter), member 12 - URAT1)
SLC22A11	- Organski anionski transporter (engl. Solute carrier family 22 member 11)

(organic anion transporter 4 - OAT4)

- SLC2A9 - Organski anionski transporter (engl. solute carrier family 2 - facilitated glucose transporter)
- SNP - Polimorfizam jednog nukleotida (engl. single-nucleotide polymorphism)
- SOD - Superoksid dismutaza
- SP-A - Surfaktant protein A
- SZO - Svjetska zdravstvena organizacija
- TLR - Toll-u sličan receptor (engl. Toll-like receptor)
- TNF - Tumor nekroza faktor (engl. Tumor necrosis factor)
- Vg - Genetska varijanca
- Vp - Fenotipska varijanca
- WHO - Svjetska zdravstvena organizacija (engl. World Health Organization)
- XD - Ksantin–dehidrogenaza
- XO - Ksantin–oksidaza

# 1. UVOD

Giht je kronična bolest obilježena napadajima artritisa uzrokovanog depozitima kristala mokraćne kiseline unutar zglobova (1). Prevalencija bolesti iznosi 1-2% odraslih u razvijenim zemljama, a bolest zauzima prvo mjesto u učestalosti upalnog artritisa kod muškaraca (2-5). Kod žena se češće pojavljuje nakon menopauze, a kao rizični čimbenici za pojavu gihta su do sada opisani i okolišni i genetski čimbenici (6-9). Giht i povišena serumska koncentracija mokraćne kiseline su povezani s bubrežnim bolestima, ali i s bolestima srčano-krvožilnog sustava te povišenim krvnim tlakom, dijabetesom i metaboličkim sindromom (4,10-12).

Prirodni tijek gihta sastoji se od tri razdoblja: asimptomatske hiperuricemije (stanja povišene serumske koncentracije mokraćne kiseline), akutnih napada s asimptomatskim intervalima i pojave kroničnog artritisa (13-17). Koncentracija serumske mokraćne kiseline i klinička slika gihta ukazuju na poligensku i multifaktorijalnu bolest uvjetovanu složenim međudjelovanjem brojnih gena i čimbenika okoliša. Do sada je opisana genetska podloga ovih svojstava, na način da je opisano devet lokusa povezanih s koncentracijom mokraćne kiseline, od kojih šest kodira proteine bubrežnog transporta (18-20). Genetske varijacije proteina odgovornih za transport su ključ u regulaciji koncentracije mokraćne kiseline.

Kronična hiperuricemija je najsnažniji do sada opisani rizični čimbenik gihta (21-23). Incidencija gihta je 0,5% kod ljudi sa serumskom koncentracijom mokraćne kiseline između 420  $\mu\text{mol/L}$  i 530  $\mu\text{mol/L}$ , te 4,5% kod onih s 540  $\mu\text{mol/L}$  i više. Kod bolesnika s koncentracijom od 540  $\mu\text{mol/L}$  i više, incidencija je 22% nakon pet godina. Mnogi bolesnici s hiperuricemijom nikad ne razviju klinički jasnu sliku gihta (24-29).

## 1.1. Povijesni okvir

Giht, "kralj među bolestima i bolest kraljeva", jedna je od najranije opisanih bolesti. Prvi put je opisana kod Egipćana 2640 god. pr. Kr. Giht je bolest dobro poznata još grčkim i rimskim liječnicima. Hipokrat je opisao povezanost gihta i neumjerenosti u jelu i piću, te je objasnio neravnotežom četiriju tekućina u tijelu i prevagom sluzi. U liječenju je koristio purgative uz dijetu jer je opazio brzo povlačenje znakova bolesti za vrijeme dizenterije (30).

Galen je uočio pojavu bolesti unutar obitelji, sklonost stvaranju bubrežnih kamenaca i pojavu tofa (31). Većina rimskih careva je bolovala od ove bolesti. Često su pored gihta bolovali od alkoholizma i duševnih bolesti. Možda je saturnizam odgovoran za zajedničku pojavnost ovih bolesti. Olovo se nalazilo u vinu posuda u kojima se pripravljalno. Vinom je olovo dodano hrani koja je pripremana u posuđu od bronce i kositra s velikim udjelom olova (32).

Prema istraživanjima giht je za vrijeme Bizanta uzrokovan neumjerenošću u jelu i piću iako je tada naglašena nasljedna komponenta ove bolesti. Koliko je bolest bila uobičajena govori podatak da od 86 careva 14 je imalo giht (33,34). Liječnici su u vrijeme Bizanta poznavali učinak kolhicina. Hermodactylus je lijek iz biljke *Colchicum autumnale* i prvi put ga je opisao u liječenju gihta Jakov Psychristus, osobni liječnik cara Leona I (457. – 474.) (32,35).

Antoni van Leeuwenhoek je 1679. opisao kako izgledaju kristali iz tofa iako njihov kemijski sastav nije bio poznat (31). Kliničku sliku bolesti prvi je opisao engleski liječnik Tomas Sydenham u djelu „Tractus de podagra et hydrope“ 1683. godine opisujući vlastiti doživljaj (31). Njegovo se zapažanje o bolnosti tereta plahte na palcu za vrijeme napadaja često navodi i danas. Osim zahvaćenih zglobova znao je i za bubrežne kamence u ovoj bolesti.

1776. godine iz mokraćnog kamenca Scheele je izolirao mokraćnu kiselinu, nazvao je acidum concretum, a 1797. je istu tvar iz tofa vlastitog uha izolirao Woolaston (31). Fourcroy je mokraćnu kiselinu nazvao acide ourique. Garrod je prvi izolirao mokraćnu kiselinu iz krvi i objavio 1858. godine knjigu Nature and Treatment Gout and Rheumatic Gout (31,32).

Devetnaesto stoljeće u Engleskoj se smatra „zlatnim vijekom“ za ovu bolest. Giht je bio simbol staleškog bogatstva. Lord Chesterfield je zapisao za bolest koja se smatrala „znakom uzvišenosti i plemenitosti“ da je „bolest gospode dok je reumatizam bolest konjušara“ (32).

Nagli porast učestalosti bolesti podudara se sa ukidanjem carina i porastom potrošnje portugalskog vina. U to vrijeme portugalska vina su jako onečišćena olovom zbog čuvanja vina u olovom bogatim posudama (32).

1898. je Fischer opisao mokraćnu kiselinu kao purinski spoj nalik adeninu i guaninu, dijelovima nukleinskih kiselina. Nakon ovih otkrića liječnici su eksperimentalno izazvali bolest injekcijom mokraćne kiseline u tkivo ili u šupljinu zgloba (35-37).

U 18. i 19. stoljeću liječnici su opisali kristale iz tofa, a sredinom 20. stoljeća opisana je hiperuricemija i njena važnost u nastanku bolesti, te poremećaj izlučivanja urata. Kristale iz sinovijske tekućine pacijenata s gihtom, sastavljene od mononatrij urata, dokazali su McCarty i Hollander (31,32). Folin i Denis su 1913. kvantitativno odredili količinu mokraćne kiseline u krvi (32).

Amerikanci su bolest rijetko viđali i vezali su njenu pojavnost uz Europu. 1936. godine objavljen je rad Henrricka i Tysona, Gout: a forgotten disease, koji je ukazao na greške u dijagnostici i često vođenje bolesnika pod drugom dijagnozom (32). Kolhicin za profilaksu recidiva uveo je Cohen, probenecid je uveden 1951., a 1963. alopurinol za kontrolu hiperuricemije (32). 1967. Seegmiller i suradnici su opisali Lesh-Nyhan sindrom i manjak enzima hipoksantin-guanin-fosforibozil-transferaze u tih bolesnika (21,38).

Nakon drugog svjetskog rata raste učestalost ove bolesti, vjerojatno kao posljedica veće potrošnje mesa i alkohola. Hitchings i Gertrude Eliot su 1988. godine dobili Nobelovu nagradu za medicinu zbog njihovog rada u razvoju alopurinola, azatioprina i nekoliko drugih lijekova (31).

## **1.2.Purinski metabolizam**

Mokraćna kiselina je organska tvar sastavljena od ugljika, dušika, kisika i vodika s formulom  $C_5H_4N_4O_3$ . Mokraćna kiselina nastaje razgradnjom nukleinskih kiselina i konačni je razgradni produkt purinskih baza (adenina i guanina). Krvotokom cirkulira u obliku soli urata, a samo 5% vezano je za albumine i globuline plazme (21). Glavni ekskrecijski organ je bubreg. Manja količina izlučuje se urikolizom u crijevima. Ukoliko je u organizmu povećana razgradnja purinskih baza nastaje prevelika količina mokraćne kiseline u serumu i nastaje stanje hiperuricemije (39). Hiperuricemija može biti rezultat manjkavosti enzima metabolizma purinskih baza, pojačanog razaranja stanica zbog radioterapije ili kemoterapije tumora, te povećanog unosa hrane bogate purinima. Hiperuricemija može biti i posljedica poremećenog izlučivanja mokraćne kiseline (40). Mokraćna kiselina ima specifičan mehanizam izlučivanja, najprije se u glomerulima bubrega krv filtrira, zatim se reapsorpcijom dio mokraćne kiseline vraća u krv, a dio se aktivno secernira iz krvi u mokraću. U urinu od ukupne količine filtrirane mokraćne kiseline završi 10% (21). Izlučivanje mokraćne kiseline iz krvi može biti poremećeno i zbog bubrežnih bolesti ili zbog lijekova koji blokiraju njeno izlučivanje (39,40).

Purini su organski ciklički spojevi i sastavni dio nukleotida. Nukleotidi su dio nukleinskih kiselina koji sudjeluju u primanju i prijenosu energije, te završnog signala hormonske poruke (39). Purinske baze izvode se iz purinskog i imidazolskog prstena. Najvažniji purini su adenin i guanin, sastavni su dijelovi dezoksiribonukleinske kiseline i

ribonukleinske kiseline (DNA i RNA). Od purina nastaju: ksantin, hipoksantin i mokraćna kiselina. Koncentracija mokraćne kiseline u krvi ovisi o dobi, spolu, tjelesnoj površini i masi, etničkoj pripadnosti i geografskom položaju (41-43).

Metabolizam purinskih baza može se podijeliti u tri dijela: put biosinteze, put „spašavanja“ i interkonverzija nukleotida (43). Regulatori proizvodnje purina su: sinteza na novo, resinteza i količina iz vani unesenih purinskih tvari. Regulatori uklanjanja purina su razgradnja nukleotida, sinteza mokraćne kiseline i njeno izlučivanje (bubrežno i izvanbubrežno) (41).

### **1.2.1. Sinteza purina**

Dnevna sinteza purina je 4 mmol/dan. Purini se u organizam unose hranom, sintetiziraju se i resintetiziraju iz purinskih baza (40). Regulacija purinske sinteze očituje se nizom povratnih kontrolnih sprega. Čimbenici regulacije su količina supstrata u prethodnom stupnju i alosterijska kontrola. Alosterijska kontrola je trodimenzionalna građa enzimskih proteina (44). Prva u nizu enzimskih reakcija je nastajanje fosforibozil-pirofosfataze iz riboze-5-fosfata i adenozin-trifosfata (ATP-a). Katalizator reakcije je enzim fosforibozil-pirofosfataza-sintetaza. Zatim iz fosforibozil-pirofosfataze i glutamina nastaje fosforibozil-amin uz katalizu enzimom amidofosforibozil-transferaza. Iz fosforibozil-amina nastaje inozin-monofosfat (IMP). IMP je početni spoj za nastanak ATP-a i guanozin-trifosfata (GMP-a). Dio adenina, koji je nastao razgradnjom nukleotida, ne gubi se iz organizma razgradnjom već se spašava uz pomoć enzima adenin-fosforibozil-transferaze (APRT) i ugrađuje u adenozin-monofosfat (AMP), a hipoksantin s pomoću enzima hipoksantin-guanin-fosforibozil-transferaze (HGPRT) u IMP i GMP (44-47).

AMP sudjeluje u specifičnim reakcijama površinskih receptora i održanju homeostaze stanične energije. Osim purinskih baza i nukleozidi (adenozin, inozin i guanozin) se mogu ponovo fosforilirati u odgovarajuće nukleotide uz pomoć enzima kinaza (45,46).

### **1.2.2. Razgradnja purina**

Razgradnja purina odvija se u nekoliko kemijskih reakcija (43-47). Prvo se adenzin razgrađuje u hipoksantin preko inozina uz pomoć enzima adenzin-dezaminaze i nukleozid-fosforilaze. Guanozin se pretvara u ksantin uz enzim purin-nukleozid-fosforilazu. Hipoksantin prelazi u ksantin, a ksantin u mokraćnu kiselinu uz katalizu enzima ksantin-oksidaza. Konačan produkt razgradnje purina je mokraćna kiselina. U tkivnim tekućinama mokraćna kiselina se nalazi u obliku natrijeva urata. 5% mokraćne kiseline vezano je uz albumine i globuline (21,43-47).

Enzim ksantin-oksidaza se nalazi u jetri i tankom crijevu, te u stanicama endotela gdje ima ulogu u cijeljenju ozlijeda i otpornosti na bakterije. Ksantin-oksidaza je flavoprotein s koenzimima molibdenom i željezom. Zbog ovog združenog djelovanja važan je udio metala u mikrookolišu i njihova regulacija zaštitnog učinka mokraćne kiseline u stanjima ishemije i oštećenja tkiva (21,43). Ukupna količina mokraćne kiseline izvan stanice u odrasla čovjeka iznosi 600-1200 mg (39). Svi urati plazme filtriraju se kroz bubrežne glomerule. U proksimalnom dijelu tubula bubrega dolazi do resorpcije. Istovremeno bubrežni tubuli secerniraju urate, da bi se konačno jedan dio ponovo reapsorbirao. Klirens urata iznosi oko 6-8% inulinskog klirensa (41-47).

### **1.2.3. Poremećaj purinskog metabolizma**

Glavna posljedica poremećaja purinskog metabolizma je povećanje koncentracije mokraćne kiseline u krvi - hiperuricemija.



Mogućnost nastanka hiperuricemije posljedica je dvaju evolucijskih procesa:

1. gubitak urikaze koji bi mokraćnu kiselinu mogao razgraditi do alantoina
2. pojava tubularne reapsorpcije urata iz glomerularnog filtrata (21,47-49).

Tijekom evolucije ljudi su izgubili enzim urikazu koja razgrađuje mokraćnu kiselinu, što je dovelo do hipoteze da je upravo visoka koncentracija mokraćne kiseline djelomično zaslužna za produženje životnog vijeka ljudi, kao i za smanjenje učestalosti karcinoma u odnosu na druge sisavce koji žive kratko (9,35-37). Watanabe i suradnici su razvili teoriju po kojoj je inaktivacija enzima urikaze bila evolucijska prednost jer je omogućila prvim lovcima da prežive u uvjetima niskog unosa soli (9). U animalnom modelu na štakorima hiperuricemija je izazvana inhibitorom urikaze (oksonska kiselina). Štakori su stavljeni na dijetu s niskim unosom soli. Došlo je do porasta krvnog tlaka direktno korelirajući s koncentracijom serumske mokraćne kiseline. Porast tlaka bilo je moguće prevenirati sniženjem mokraćne kiseline inhibitorom ksantin oksidaze (alopurinolom). Time se potvrdila veza hipertenzije i mokraćne kiseline u uvjetima niskog unosa soli (9,47-49).

### **1.3. Patofiziologija hiperuricemije**

#### **1.3.1. Hiperuricemija**

Koncentracija mokraćne kiseline u serumu iznad 420  $\mu\text{mol/L}$  u muškarca i iznad 360  $\mu\text{mol/L}$  u žena se najčešće smatra hiperuricemijom. Po fizikalno-kemijskoj definiciji hiperuricemija nastaje pri koncentracije mokraćne kiseline od 416  $\mu\text{mol/L}$ , jer se ispod te koncentracije mokraćna kiselina oslobađa od kristala mononatrijevog urata. Iznad ove koncentracije nastaje precipitacija kristala (40-47).

Hiperuricemija nastaje zbog povećane proizvodnje mokraćne kiseline ili zbog njenog smanjenog izlučivanja: povećanom apsorpcijom prekursora purina, povećanim stvaranjem,

zmanjenim izlučivanjem, smanjenom razgradnjom i kombinacijom ovih nepravilnosti. Povećana koncentracija mokraćne kiseline u urinu upućuje na povećanu proizvodnju, nalazimo je u 10 do 15% bolesnika s primarnim uričnim artritismom i u bolesnika s povećanom razgradnjom stanica tijekom kemoterapije malignih bolesti, ali i kod zdravih ljudi s povećanom potrošnjom nukleoproteina, purina i alkohola (41,48). Smanjeno izlučivanje može biti znak bubrežne bolesti. 85 do 90% bolesnika s uričnim artritismom ima smanjen klirens mokraćne kiseline (21,48-49). U žena Polinezije je opisana izrazito visoka hiperuricemija zbog genetski sniženog klirensa mokraćne kiseline (21,50-53).

Najviše bolesnika s hiperuricemijom su primarni, genetski uvjetovani hiperproduktori. Sekundarna hiperprodukcija nastaje zbog nekih patoloških stanja (mijeloproliferacijske ili limfoproliferacijske bolesti, multiplog mijeloma, sekundarne policitemije, nekih hemoglobinopatija, talasemije, perniciozne anemije, psorijaze, sarkoidoze, gladovanja) (21,38,48). Hiperuricemija zbog smanjenog bubrežnog izlučivanja može biti primarna i sekundarna (54-56). Primarna je posljedica smanjenog klirensa mokraćne kiseline, uzrokovanog neobjašnjenim genetskim poremećajem. Nakon peroralnog opterećenja purinima zdrave osobe izlučuju veće količine mokraćne kiseline nego bolesnici s gihtom. Sekundarna bubrežna hiperuricemija posljedica je kronične bubrežne bolesti koja oštećuje tubularnu sekreciju mokraćne kiseline, a isti je mehanizam nastanka hiperuricemije i kod trovanja olovom (40,41). Tubularnu sekreciju koče neki lijekovi (salicilati, pirazinamid), organske kiseline (mliječna kiselina - razlog hiperuricemije u etilizmu i kod uzimanja furosemida). Diuretici uzrokuju hiperuricemiju zbog pojačane tubularne reapsorpcije (13-15).

Povećana sinteza purina, time i mokraćne kiseline, nastaje zbog nasljednih enzimskih poremećaja, kliničkih poremećaja, uzimanja lijekova i povećanog unosa hrane ili toksina. U hiperuricemije nastale zbog nasljednih enzimskih poremećaja razumijevamo one nastale kod: manjaka hipoksantin-gvanin-fosforibozil-transferaze, hiperaktivnosti fosforibozil-pirofosfat-

sintetaze, manjaka glukoza-6-fosfataze (glikogenoza tip I) (21,39,57,58). Hiperuricemija nastala zbog kliničkih poremećaja nastaje uslijed različitih krvnih bolesti (leukoze, limfoma, Hodgkinove bolest, plazmocitoma, policitemije, hemolitičke i perniciozne anemije, mononukleoze), malignih bolesti i drugih bolesti kao psorijaze, glikogenoza (tipa II, V, VII), adipoziteta ili Downova sindroma. Ove bolesti karakterizira pojačano raspadanje stanica i oslobađanje purina. U treću skupinu ubrajamo hiperuricemiju nastalu zbog uzimanja lijekova, povećanog unosa hrane ili toksina (nukleoproteini, purini, alkohol, fruktoza, pankreasni enzimi, nikotinska kiselina, manjak vitamina B<sub>12</sub>, citotoksični lijekovi, varfarin) (21).

Drugu veliku skupinu poremećaja praćenih hiperuricemijom karakterizira smanjeno izlučivanje mokraćne kiseline bubregom. Ovdje hiperuricemija nastaje zbog nekog drugog primarnog poremećaja (kronično zatajenje bubrega, nefropatija uzrokovana trovanjem olovom, dehidracija, ketoacidoza zbog gladi ili dijabetesa, gestoza, laktacidoza, eklampsija, debljina, hiperparatireoidizam, sarkoidoza, berlioza, obiteljska juvenilna hiperuricemijska nefropatija, medularna cistična bolest bubrega, glomerularna cistična bolest bubrega) (7,11,14,15). U skupinu hiperuricemija nastalih zbog smanjenog izlučivanja bubregom podrazumijevamo i one nastale zbog uzimanja lijekova ili prehrane (etanol, restrikcija soli, diuretici - tiazidi ili Henleove petlje, ciklosporin, niske doze salicilata, etambutol, pirazinamid, laksativi, levodopa, metoksifluran) (23).

### **1.3.2. Asimptomatska hiperuricemija**

Asimptomatska hiperuricemija je česta i nalazi se kod 2 do 18% populacije (43,48). Obično je blaga i traje godinama. Ona ne predstavlja bolest. Do sada nisu objašnjeni razlozi zašto samo mali dio hiperuricemične populacije dobije giht. Rizik za razvoj gihta povećava se povećanjem koncentracije mokraćne kiseline u serumu i trajanjem hiperuricemije (50). Osobito kritična je koncentracija mokraćne kiseline iznad 595  $\mu\text{mol/L}$  (21,41). Rizik je veći

za muškarce nego za žene, a različita stanja i bolesti, lijekovi i stil života mogu uzrokovati povećanu proizvodnju ili smanjeno izlučivanje mokraćne kiseline (59).

Rizik za nastanak nefrolitijaze doseže 50% kada koncentracija mokraćne kiseline u urinu naraste iznad 6 mmol/L. Nađeno je da asimptomatska hiperuricemija ne dovodi do pogoršanja bubrežne funkcije. Rizik nastupa kada hiperuricemija naraste na 660  $\mu\text{mol/L}$  kod muškarca i 600  $\mu\text{mol/L}$  kod žena, te tijekom liječenja malignih bolesti (13-15,50).

### **1.3.3. Mokraćna kiselina kao antioksidans**

Mokraćna kiselina je glavni antioksidans u ljudskoj plazmi. Ona tvori 2/3 antioksidativnog učinka plazme. Unatoč ovoj osobini korelira s razvojem debljine, hipertenzije i kardiovaskularne bolesti, stanjima povezanim s oksidativnim stresom. Jedno od mogućih objašnjenja ovog paradoksa možda je u porastu mokraćne kiseline koji predstavlja pokušaj zaštitnog odgovora domaćina (66). Mokraćna kiselina djeluje kao antioksidans u plazmi, a kao pro-oksidans unutar stanice.

Sposobnost mokraćne kiseline da neutralizira radikale kisika i zaštiti eritrocitne membrane od oksidacije lipida opisao je Kellogg i Fridovich (67), a kasnije Ames i sur. (68). U istraživanjima je proučavan učinak mokraćne kiseline u specifičnim uvjetima dodatka mokraćne kiseline u inkubaciji u vodenim medijima. Model je imitirao stanje fizioloških funkcija kada mokraćna kiselina u krvotoku može inhibirati reaktivne slobodne radikale u krvi, a rezultat su npr. autooksidacije hemoglobina ili proizvodnje peroksida od strane makrofaga (68). Međutim, čak i u plazmi mokraćna kiselina može spriječiti peroksidaciju lipida samo uz nazočnost askorbinske kiseline (vitamina C).

Jedno od glavnih mjesta zaštitnog, antioksidativnog učinka mokraćne kiseline je središnji živčani sustav osobito u stanjima kao što su multipla skleroza, Parkinsonova bolest i moždani udar (69-72). Dok je kronično povišena razina mokraćne kiseline povezana s

povećanim rizikom od moždanog udara (73,74), akutno povećana koncentracija mokraćne kiseline može imati zaštitni antioksidativni učinak na tkivo.

Ovaj učinak prikazan je na kultiviranim neuronima hipokampusa štakora gdje je mokraćna kiselina zaštitila stanice od oksidativnog stresa i iniciranje mokraćne kiseline 24 sata prije začepljenja arterije atenuira ozljedu mozga nastalu akutnom ishemijom u štakora (75).

Mokraćna kiselina je korištena i u eksperimentalnom mišjem modelu alergijskog encefalomijelitisa koji je sličan multiploj sklerozi (71). U ovom modelu je potvrđeno da mokraćna kiselina blokira peroksinitrit (ONOO<sup>-</sup>) posrednika u nitrozilaciji neuronskih proteina i zaustavlja porast leukocita u krvi, što rezultira manjom infiltracijom leukocita u tkivo (71). Askorbinska kiselina (vitamin C) također zaustavlja stvaranje nitrotirozina ali ne blokira krvno-moždanu barijeru i ne pruža zaštitu (72). Mokraćna kiselina ne može djelovati direktno na peroksinitrit u neuronima, ali može djelovati indirektno preko blokade krvno-moždane barijere smanjenjem razine endotelnog dušikovog oksida. Smanjenjem dušičnog oksida smanjuje se težina alergijskog encefalomijelitisa, a mokraćna kiselina smanjuje bioraspoloživost dušikovog oksida u endotelnim stanicama (76,77).

Osim ovog učinka na neurone primjena mokraćne kiseline na stanice jetre tijekom hemoragičkog šoka dovela je do smanjenog upliva neutrofila (78). Ovi rezultati sugeriraju sposobnost mokraćne kiseline da spriječi akutnu aktivaciju osidansima protuupalnih stanica u krvi i time pospješi ukupnu antioksidativnu aktivnost.

Brojna su istraživanja u kojima se pokušavala definirati povezanost mokraćne kiseline, povišenog arterijskog tlaka i srčanih bolesti. Važno pitanje je može li mokraćna kiselina pružiti antioksidativnu zaštitu stanicama srčano-žilnog sustava. Neke studije sugeriraju tu mogućnost. U ispitivanju učinka mokraćne kiseline na srce svinje perfuzija mokraćne kiseline poboljšava funkcionalne odgovore i funkcionalnu stabilnost srca narušenu prisutnošću

oksidansa (79). Druga studija je identificirala mokraćnu kiselinu u plazmi čovjeka kao donositelja dušičnog oksida u interakciji mokraćne kiseline i ONOO<sup>-</sup>. S druge strane mokraćna kiselina in vitro smanjuje bioraspoloživost dušičnog monoksida u stanicama endotela goveđe aorte kao i u adipocitima (80). Neodgovoreno je pitanje hoće li ovi učinci imati fiziološki značaj i hoće li mokraćna kiselina pružiti antioksidativnu zaštitu srcu in vivo. Određene zajedničke komponente kemijskog okoliša u organizmu utječu na antioksidativnu sposobnost mokraćne kiseline. Prisutnost askorbinske kiseline (vitamina C) potrebna je za antioksidativni učinak mokraćne kiseline (81). Kuzkaya i sur. su dokazali jedinstvenost mokraćne kiseline u deaktiviranju peroksinitrita u izvanstaničnom prostoru (82). Mokraćna kiselina ne može deaktivirati superoksid (O<sup>-2</sup>) bez nazočnosti askorbinske kiseline i tiola, apsolutno potrebnih za potpuno deaktiviranje peroksinitrita. Niti jedan od ovih antioksidansa ne može spriječiti reakciju peroksinitrita s tetrahydrobiopterinom što dovodi do sinteze dušikovog oksida (82). U biološkim tekućinama nalaze se i drugi spojevi suprotnog učinka koji mogu onemogućiti mokraćnu kiselinu u antioksidativnom djelovanju. Nazočnost bikarbonata značajno inhibira sposobnost mokraćne kiseline u spriječavanju nitrozilacije tirozina, ključnog oštećenja oksidativnim mehanizmom u stanici (83).

Mokraćna kiselina je moćan čistač ugljikovih i peroksilnih radikala u hidrofilnom okolišu, ali gubi sposobnost uklanjanja u liofilnih radikala i ne može spriječiti radikalnu propagaciju lanaca u lipidnim membranama (84). Istovremeno je peroksinitrozni radikal izuzetno difuzibilan kroz lipidnu membranu i hidrofobni okoliš je pogodniji za nitrozilaciju tirozina (85,86).

Iznesene fizikalnokemijske spoznaje objašnjavaju zašto je antioksidativni učinak mokraćne kiseline izražen samo u hidrofilnom okruženju bioloških tekućina kao što je plazma.

### 1.3.4. Hiperuricemija uz metaboličke poremećaje

Mokraćna kiselina utječe na endotel smanjenjem endotelnog dušičnog oksida i interakcijom s toksičnim supstratima kao što su slobodni radikali. Ključnu ulogu u remodeliranju krvnih žila ima inzulinemija koja svojim višestruko negativnim učinkom dovodi do povećane apsorpcije mokraćne kiseline i povišenja razine serumske mokraćne kiseline. Štetni učinci inzulinemije su: aktivacija renin-angiotenzin-aldosteron sustava, retencija natrija i vode, aktivacija simpatikusa, poticaj proliferacije glatkog mišićja intime i povišenje tonusa krvnih žila, te povećano stvaranje superoksida i slobodnih radikala (87).

Inzulin, proinzulin i amilin aktiviraju renin-angiotenzin-aldosteron sustav spovišenjem razine angiotenzina II i slobodnih radikala (9,87). Intenzivno se istražuje povezanost mokraćne kiseline s metaboličkim sindromom. Jedna od hipoteza govori da fruktoza u hrani i bezalkoholnim pićima, ne i ona iz voća, dovodi do porasta serumske koncentracije mokraćne kiseline koja se može dovesti u vezu s rizikom za obolijevanje od metaboličkog sindroma. Mokraćna kiselina djeluje inhibitorno na sintezu dušikovog oksida koji je potreban za djelovanje inzulina u prijenosu glukoze u stanicu (88,89).

Inzulinska rezistencija i poremećaji metabolizma mokraćne kiseline su dijelovi metaboličkog sindroma (9). Hiperinzulinemija djeluje višestruko: snižava bubrežno izlučivanje mokraćne kiseline, povećava tubularnu reapsorpciju vode i elektrolita, pa i mokraćne kiseline iz primarnog urina, povećava oksidacijsku sposobnost enzima uključenih u metabolizam mokraćne kiseline, te aktivira angiotenzinski sustav (21). Nije poznato kojim mehanizmom inzulinska rezistencija utječe na nastanak gihta, odnosno odlaganje kristala mokraćne kiseline u tkiva (9,86-88).

Hiperuricemija se javlja u 25% bolesnika s neliječenom hipertenzijom, 50% onih koji uzimaju diuretike i 75% onih s malignom hipertenzijom (90-94). Mehanizmi ove povezanosti su: smanjen protok kroz glomerule, time i filtracija koja rezultira pojačanom resorpcijom

mokraćne kiseline, mikrovaskularna oštećenja s ishemijom tkiva, ishemija s povišenjem laktata koji blokira sekreciju mokraćne kiseline u proksimalnom tubulu, te ishemija povećava produkciju slobodnih radikala putem ksantin-oksidade (78-80,94).

Hiperuricemija se veže uz povećanu vrijednost indeksa tjelesne mase BMI (*body mass index*) kao pridruženi čimbenik metaboličkog sindroma. Nepoznata veza između hiperuricemije i pretilosti je leptin (9,87,88). Hiperglikemija inducira oksidativni stres putem produkata glikozilacije i slobodnih radikala stvaranjem pseudohipoksije. Promjene se zovu glukotoksičnost i za posljedicu imaju gubitak antioksidansa u intimi krvne žile. U takvom mikrookolišu gubi se antioksidativni učinak mokraćne kiseline i ona postaje prooksidans (60,61). Vrijednosti mokraćne kiseline u gornjoj, fiziološkoj trećini raspona zajedno s hiperuricemijom su toksični čimbenik koji uz ostale (lipotoksičnost, glukotoksičnost i hiperinzulinemija) doprinosi oštećenju endotela i ubrzanju razvoja ateroskleroze.

U početku aterogeneze mokraćna kiselina u serumu je vodeći antioksidans i pokazatelj antioksidativnog učinka plazme. Tijekom napredovanja procesa iz antioksidativnog prelazi u prooksidativni čimbenik. Okruženje u kojem se stvaranje plaka događa (kiselost, manjak drugih antioksidativnih molekula, snižena razina dušičnog oksida) pridonosi štetnom učinku mokraćne kiseline. U nestabilnom aterosklerotskom plaku dolazi do apoptoze i nekroze, novih izvora purina (adenina i gvanina) za sintezu mokraćne kiseline (61). Unutar plaka dolazi i do krvarenja i oslobađanja metala bakra i željeza koji sudjeluju u reakcijama akumuliranja produkata oksidativnog stresa (9,87).

#### **1.4. Klinički sindromi povezani s hiperuricemijom**

Nasljedne metaboličke bolesti vezane uz poremećaj metabolizma purina su raznovrsna skupina bolesti ovisna o enzimskom deficitu. Na njih se posumnja u slučajevima ponavljanih novorođenačkih konvulzija, nenapredovanja u tjelesnoj težini, nejasnog neurološkog ili



mentalnog deficita, ponavljanih infekcija, bubrežnih bolesti i mišićne slabosti. Poremećaji mogu istovremeno zahvatiti više organskih sustava, a mogućnosti liječenja su razmjerno skromne. Lijek izbora je često alopurinol. Postoje prva iskustva enzimskog nadomjesnog liječenja i primjene genske terapije. Poznavanjem enzimskog deficita moguća je i perinatalna dijagnostika (21,40).

Urolitijazna dijateza može biti jedini znak hiperuricemije i bez ostalih znakova gihta. Uzroci su povećano izlučivanje mokraćne kiseline i smanjena kiselost mokraće (40). S druge strane, mutacije gena koji nose informacije za enzime u biosintetskom putu nukleotida mogu dovesti do smanjenja potrebne količine nukleotida i nakupljanja intermedijera. Nedostatak enzima hipoksantin-guanin-fosforibozil-transferaze uzrokuje nasljednu bolest koja se prenosi recesivno, spolno vezano (21,38,40). Poremećaj se očituje hiperprodukcijom urata i neurološkim sindromom kompulzivnog autodestruktivnog ponašanja koji uključuje: duševnu zaostalost, spastičnost, koreoatetozu, autoagresija, hematurija, urolitijaza i bubrežno zatajenje.

Zbog nedostatka HGPRT ne mogu se iskoristiti hipoksantin i guanin za ponovnu sintezu purina već se pretvaraju u mokraćnu kiselinu. Zbog ovog gubitka pojača se sinteza na novo što povećava količinu mokraćne kiseline. Uz spastičnost i mentalni deficit u dobi od dvije do tri godine, djeca s ovom bolesti grizu usnice ili prste unatoč boli. Djeca su agresivna i prema drugim osobama (21). Kod dojenčadi se na pelenama može opaziti narančasti trag kristala mokraćne kiseline.

Kelley-Seegmiller sindrom je djelomičan nedostatak ovog enzima i uzrokuje konvulzije, umjerenu mentalnu retardaciju te moguću spinalnu ataksiju. Uz neurološke simptome dolazi do gihta sa stvaranjem tofa i bubrežnim kamencima (21,43).

Odnos između odsutnosti transferaze i neuroloških znakova nije opisan. Moždane stanice možda ovise o putu spašavanja pri sintezi IMP-a i GMP-a. Moguće je da se stanice

oštećuju nakupljanjem međuprodukata. Sindrom naglašava važnost puta spašavanja purina, te objašnjava autodestruktivnost nastalu nedostatkom jednog enzima (21).

Rezultat povišene aktivnosti fosforibozil sintetaze je povišena vrijednost fosfo-riboza-pirofosfata, te povećana sinteza mokraćne kiseline. Poremećaj enzima je spolno nasljedan, vezan uz X kromosom, obolijevaju muškarci, a žene su asimptomatski prenositelji. Klinička slika kod ovog enzimskog poremećaja je pojava neurorazvojnih poremećaja u ranom djetinjstvu, gluhoća, a kasnije stvaranje kamenaca, giht i neurološki deficit (21,42,95).

Nedostatnost enzima adenin-fosforibozil-transferaze pojavljuje se kao porodična bolest, prenosi se autosomno recesivno. Bolesnici ne mogu ponovo upotrijebiti adenin nastao razgradnjom purina. Adenin se izlučuje u velikoj količini mokraćom ili se uz pomoć ksantin-oksidadze oksidira u 8-hidroksi-adenin i 2,8-dihidroksi-adenin. Ovaj produkt oksidacije adenina je pedeset puta slabije topljiv od mokraćne kiseline i može biti uzrokom stvaranja mokraćnih kamenaca (43,96,97).

Ksantinurija je poremećaj nastao manjkom ksantin-oksidadze. Smanjena je oksidacija hipoksantina u ksantin i u mokraćnu kiselinu. Nasljeđuje se autosomno recesivno. Kod ovih bolesnika u krvi postoji hipouricemija, a u mokraći velika količina hipoksantina i ksantina. Nastank ksantinskih bubrežnih kamenaca je opasnost ovog enzimskog poremećaja, a kod djece možemo vidjeti mentalno zaostajanje, miopatiju, artritis, uroinfekcije i hematuriju (21,42).

U većine bolesnika s ovim poremećajem nalazimo kombiniranu imunodefocijenciju i nedostatak enzima adenzin-dezaminaze (ADA). Djeca s ovim poremećajem rano umiru od infekcija (otitis, faringitis, uroinfekcije). Više od polovice djece ima neurološki deficit. Opisana je i imunodefocijencija s nepotpunom proizvodnjom limfocita T zbog nedostatka purinske nukleozid-fosforilaze (PNP) i autoimune bolesti. U oba poremećaja zbog manjka

enzima remeti se sinteza RNA i selektivno se u T-stanicama nakuplja dGTP, otrovan purinski metabolit (21,42,95) .

Poremećaj enzima adenzin-dezaninaze (ADA) se nasljeđuje dominantno i očituje hemolitičkom anemijom i smanjenjem ATP-a u eritrocitima. Razlog ove enzimske hiperaktivnosti nije poznat. Derivati folne kiseline potrebni su kao kofaktor u sintezi purinskog prstena. Nedostatak folata ili nemogućnost uporabe zbog manjka vitamina B<sub>12</sub> mogu poremetiti sintezu purina (43,97).

## 1.5. Giht

Posebno mjesto u kliničkim sindromima povezanim uz hiperuricemiju zauzima giht (39). Giht ili urični artritis je recidivirajuća upala jednog ili više zglobova zbog prezasićenosti mokraćnom kiselinom i odlaganja kristala mokraćne kiseline, sklonosti stvaranju tofa i deformaciji zglobova, bubrežnih kamenaca i urične nefropatije (1-4,32,98).

Definicije ove bolesti obuhvaćaju mnoga stanja sa stalno povećanom koncentracijom mokraćne kiseline u plazmi (hiperuricemijom). Njemački naziv za urični artritis *gicht* je preinačen u giht i prihvaćen kao najučestaliji naziv za ovu bolest. Podagra je stariji naziv koji se vezao uz promjene nožnog palca (32). Klinički znakovi bolesti su: akutni kristalični artritis, žarišno nakupljanje urata (tofi), bubrežna kalkuloza i isuficijencija (1-4,99,100).

Simptomi su posljedica zasićenja tkivnih tekućina i mokraće mokraćnom kiselinom te taloženja njenih kristala. Taloženje kristala u sinovijalnoj tekućini dovodi do akutnog kristaličnog artritisa (artritis urica). Upala nastaje kada kristali mononatrijeva urata aktiviraju lizosome i izazovu lizu leukocita (1-6). Aktivira se Hagemanov sustav i sustav komplementa (101,102). Taloženjem kristala u vezivnom tkivu nastaju tofi, a taloženjem u bubrežnoj meduli kronični intersticijski nefritis koji može uzrokovati kroničnu bubrežnu isuficijenciju

(100,101). Taloženje kristala mokraćne kiseline u mokraći dovodi do stvaranja bubrežnih kamenaca (11,14,15).

Giht se javlja kao stečena i kao nasljedna bolest te se klasificira kao:

1. primarni ili idiopatski – hiperuricemija je nastala zbog pogreške metabolizma,
2. sekundarni – hiperuricemija je nastala zbog druge bolesti ili uzimanja lijekova (102).

Podjela se može temeljiti na načinu nastanka hiperuricemije u smislu hiperprodukcije (metabolički) ili hiposekrecije (renalni) oblik bolesti. Često nije moguće razlučiti o kojem je obliku bolesti riječ jer bolesnici imaju povećanu produkciju i smanjenu sekreciju (100-102).

### **1.5.1. Epidemiologija gihta**

Epidemiološkim studijama se nastojalo poboljšati razumijevanje međuovisnosti okoliša i genetskih čimbenika koji utječu na kroničnu hiperuricemiju i giht. Posebno se istražuje utjecaj kumulirajućih faktora: pretilosti, alkohola, rase, spola, dobi i specifičnih prehrambenih navika. Znanje transportnih mehanizama poboljšalo je razumijevanje genetskih utjecaja na giht i relevantno je za razumijevanje učinaka lijekova koji mogu povećati ili smanjiti izlučivanje mokraćne kiseline bubregom (103).

Pascual i Pedraz navode rezultate epidemiološkog istraživanja u gradu Rochesteru, tijekom razdoblja od 1977. do 1978. i od 1995. do 1996. gdje su zabilježeni svi slučajevi gihta u tom gradu (104). Utvrđeno je dvostruko povećanje stope primarnog gihta u kasnijem razdoblju u usporedbi s ranijim. Incidencija sekundarnog gihta uzrokovanog primjenom diuretika se nije povećala.

U velikoj studiji iz Tajvana, analizirana su klinička obilježja 1079 kineskih pacijenata s gihtom između 1993. i 2000. te uspoređeni s ranijim serijama, u jednoj četvrtini pacijenata iz novije grupe, bolest je počela prije 30 godine, a u cijeloj grupi, prvi napad dogodio se

između trećeg i petog desetljeća (68,2%), a ne između četvrtog i šestog desetljeća, kao što se navodilo u starijim istraživanjima. Osim toga, incidencija gihta kod žena je porasla (8,0%), a incidencija tofa je visoka (16,8%). Treća studija, također iz Tajvana, koja uspoređuje značajke gihta u bolesnika s dijagnozom između 1983. i 1991. s onima dijagnosticiranim između 1992. i 1999., u drugoj skupini, dob bolesnika na početku bolesti je 2,7 godina manja. Značajan postotak oboljelih žena i obiteljska prisutnost bolesti bila je viša nego prije. Postoci pretilosti, hipertrigliceridemije i nefrolitijaze su veći, a postotak hipertenzije i visoke razine kolesterola niži. Ove studije iz različitih dijelova svijeta pokazuju da je učestalost i težina kliničke slike gihta veća, a već dobro poznata udruženost hiperuricemije i gihta s prehranbenim navikama je vjerojatno uzrok inzulinske rezistencije. Rezultati iz siromašnih zemalja u traženju povezanosti bubrežnog izlučivanja mokraćne kiseline i niske kalorijske dijeta pokazali su bolje izlučivanje mokraćne kiseline bubregom, te time i smanjenje koncentracije mokraćne kiseline u serumu. Važnost unosa alkohola je navedena u drugoj studiji, također iz Tajvana, koji je utvrdio da omjer struka i visine, što ukazuje na središnju pretilost, ima značajan utjecaj na linearni porast nastanka gihta, neovisno o indeksu tjelesne mase. Kroz povezanost gihta sa sindromom inzulinske rezistencije, hiperuricemija i giht su povezani s kardiovaskularnim bolestima i smanjenjem životnog vijeka. Osim toga, hiperuricemija je priznata kao nezavisni faktor rizika za kardiovaskularne bolesti, iako sve studije ne dokazuju ovu neovisnu povezanost hiperuricemije s kardiovaskularnim bolestima. Istraživanja potvrđuju i prekomjernu aktivnost fosforibozil-pirofosfat-sintetaze u mladih žena s hiperuricemijom i razvojem nefrolitijeze (104).

Giht utječe na više od 1% odraslih u Americi i jedan je od najčešćih artritisa među muškarcima. Podatci govore za porast učestalosti gihta koja se potencijalno može pripisati nedavnim promjenama u prehrani i načinu života, poboljšanju zdravstvene skrbi, te produljenju životne dobi (105,106). Tu su i faktori rizika za hiperuricemiju i giht na koje ne

možemo utjecati, a uključuju dob i spol. Prevalencija gihta se povećava izravno s dobi, povećana dugovječnost stanovništva u razvijenim zemljama može pridonijeti većoj učestalosti gihta s udruženošću kroz druge bolesti povezane sa starenjem poput metaboličkog sindroma i povišenog krvnog tlaka. Liječenje ovih bolesti, kao što je davanje tiazidnih diuretika za hipertenziju, može biti jedan od faktora rizika. Iako se giht smatra prvenstveno muškom bolešću jednaka je spolna raspodjela među starijim pacijentima (5,107). Povećanje učestalosti gihta u svijetu ukazuje na potrebu za identificiranjem pacijenata s hiperuricemijom i početnim procesom bolesti, prije nego što su kliničke manifestacije gihta postale vidljive (105).

Incidenciju možemo iskazati po spolu, rasi, zanimanju ili koncentraciji mokraćne kiseline u serumu, na godinu, dvije, pet. U zapadno europskim zemljama incidencija gihta je od 0,20 do 0,35 na 1000 stanovnika. U Sjedinjenim Američkim Državama je 3,2 na 1000 stanovnika (108). Incidencija gihta je 0,5% kod ljudi sa serumskom koncentracijom mokraćne kiseline između 420  $\mu\text{mol/L}$  i 530  $\mu\text{mol/L}$ , te 4,5% kod onih s 540  $\mu\text{mol/L}$  i više. Kod bolesnika s koncentracijom od 540  $\mu\text{mol/L}$  i više, incidencija je 22% nakon pet godina. Međutim, mnogi bolesnici s hiperuricemijom nikad ne razviju klinički jasnu sliku gihta (109-111).

Prevenciju iskazujemo na cjelokupnu populaciju, po spolu, na starije osobe od zadanog broja godina ili na odraslo stanovništvo. Najveći broj bolesnika opisan je na Novom Zelandu i to 7,8% ukupnog stanovništva. Stanovništvo Novog Zelanda je posljednje desetljeće izloženo velikim promjenama u prehrani. Izrazito je povećana potrošnja masti i alkohola, a time i energetska vrijednost hrane (103,112).

Porast učestalosti gihta veže se uz stil života, prehrambe navike, bolju zdravstvenu skrb i produženi životni vijek (102,103). U Engleskoj se učestalost gihta povećala s 0,3% na 1% ukupne populacije između 1970. i 1990. godine (4-6). Porast je primijećen u Sjedinjenim

Američkim Državama krajem prošlog stoljeća (6,20). U Engleskoj se pretpostavlja da je od 2000. do 2005. 1,4% populacije imalo giht (105).

U Velikoj Britaniji boluje 1,26% stanovnika, od toga u Engleskoj 0,3%, Walesu 0,2% i Škotska 0,13% stanovnika. U Sjedinjenim Američkim državama podatci su različiti, od 0,35% do Framinghama 1,5% stanovnika starosti 58 godina. Prikazane su i razlike u pojedinim etničkim skupinama kao u Seattleu gdje boluje 2,5% odraslih Filipinaca i 0,3% ne-Filipinaca (17,113-116).

Giht je čest i u drugim dijelovima svijeta Kini, Polineziji, Novom Zelandu i subsaharskoj Africi (21). U istočnoj Kini promjenom životnog stila i prehrane, prevalencija je 2008. godine procijenjena na 1,14% promjenom životnog stila i prehrane (4,14,117). Učestalost se povećava s povećanjem konzumacije mesa, morske hrane, fruktoze, alkohola (118-121). Povrće s visokim sadržajem purina i umjereno konzumiranje vina nemaju učinka, dok konzumacija mliječnih proizvoda, vitamina C i kave smanjuje serumsku razinu mokraćne kiseline (121-125).

Za giht je karakteristična proširenost po svim zemljopisnim širinama i različita pojavnost u različitim vremenskim periodima zapadne civilizacije.

### **1.5.2. Genetska podloga gihta**

Već je u vrijeme Galena giht je smatran obiteljskom bolešću. U obitelji bolesnika s gihtom nađena je i hiperuricemija. Uočena je povezanost klirensa mokraćne kiseline u bolesnika s gihtom i njihovih rođaka. Ovim se pretpostavilo da postoji više genskih transporta u bubregu (31,32).

Giht se javlja u bolesnika s potpunim i nepotpunim manjkom enzima hipoksantinguanin-fosforibozil-transferaze (HGPRT) vezanim uz x-kromosom. Opisane su promjene aktivnosti i drugih enzima kao: manjak glukoza-6-fosfataze, povećana aktivnost fosfribozil-

pirofosfat-sintetaze, povećana aktivnost glutation-reduktaze, smanjena sposobnost globulina za vezanje mokraćne kiseline (21,38,41).

U samo 5% bolesnih se nalazi abnormalnost enzima, a u većine bolesnika se ne može dokazati nasljedna greška enzima. Po nekim autorima obilježje nekog gena može u određenim okolnostima uzrokovati hiperuricemiju. Ovim se opisuje prirodni nedostatak enzima za bubrežnu ekskreciju mokraćne kiseline u Filipinaca. Hiperuricemija kod njih nije zapažena dok ne prihvate zapadnjački način prehrane (21,104).

Provedena istraživanja ukazuju na to da je koncentracija serumske mokraćne kiseline i klinička slika gihta poligeniska i multifaktorijalna bolest uvjetovana međudjelovanjem više gena i čimbenika okoliša. Nasljednu podlogu ovih svojstava tvori devet lokusa povezanih s koncentracijom mokraćne kiseline, šest ih kodira proteine bubrežnog transporta (18-20). Genetske varijacije proteina zaduženih za transport odgovorni su za regulaciju koncentracije mokraćne kiseline.

Čak 90% dnevnog unosa filtriranog kroz bubrege reapsorbira se posredovanjem anionskog transportera SLC22A12 (URAT1). Polimorfizmi SLC22A12 su povezani s povišenom razinom serumske mokraćne kiseline i smanjenim izlučivanjem mokraćne kiseline. Gubitak funkcije uzrokovan mutacijom u SLC22A12 uzrokuje hipouricemiju u populaciji Japana. Učinak SLC22A12 je teško interpretirati zbog bliske neravnoteže s topljivim transporterom SLC22A11 (126-129). SLC22A12 kodira protein URAT1, dio anionskog transportera, koji sudjeluje u prijenosu mokraćne kiseline kroz stanicu, a SLC22A11 kodira protein OAT4 lokaliziran u staničnoj membrani proksimalnih tubula, koji služi u prijenosu mokraćne kiseline.

Najjači utjecaj na serumsku koncentraciju mokraćne kiseline pronađen je na SLC2A9 genu, koji kodira protein GLUT9. Protein SLC2A9 (GLUT9) djeluje kao ekskrecijski transporter iz tubularnih stanica (130-132). SLC2A9 transporter ima dvije varijante: dugu



izraženu na bazolateralnoj membrani stanica proksimalnih tubula bubrega i kratku na apikalnoj strani. Ovaj protein je i transportni sustav za fruktozu te je moguće da fruktoza poboljšava bubrežnu reapsorpciju mokraćne kiseline. U mehanizmu nastanka metaboličkog sindroma opisana je fruktozom inducirana hiperuricemija kao značajan čimbenik rizika. Duga izoforma SLC2A9 snažno je izražena na membrani jetrenih stanica, glavnog mjesta sinteze purina u ljudi. SLC2A9 je izražen u hrskavičnim stanicama zglobova, mjestu taloženja kristala mokraćne kiseline u gihtu, što ovaj protein čini odgovornim za transport mokraćne kiseline unutar zgloba. Najjači spolno-specifičan učinak nađen je na alelu rs734553 (SLC2A9) s dvostruko jačim učinkom na koncentraciju mokraćne kiseline u žena, dok s druge strane alel rs2231142 (ABCG2) ima jači učinak kod muškarca. ABCG2 gen kodira transporter u ATP-vežućem kompleksu (ABC) izražen na apikalnom dijelu membrane stanica proksimalnih tubula bubrega i transporter je nukleozidnih analoga purina. U Rotterdamskoj i Framinghamskoj studiji identificiran je kao značajna detriminanta koncentracije serumske mokraćne kiseline i gihta kao rizičnog faktora ateroskleroze (116).

SLC17 sadrži tri člana obitelji gena (SLC17A3, SLC17A1 i SLC17A4). SLC17A3 kodira transporter za natrijev fosfat (NPT4), a SLC17A1 kodira NPT1. Bubrežni transport monokarboksilata poput laktata i urata ovise o kombinaciji kotransportera natrijevog i urat aniona. Transport natrija ovisi o monokarboksilnim transporterima SLC5A8 i SLC5A12.

Otkriveni su i dodatni geni zaduženi za transport mokraćne kiseline: SLC22A11, glukokinazni regulatorni protein (GCKR), LRRC16A i PDZK1 (17,133,134).

SLC16A9 gen odgovoran je za transport monokarboksilne kiseline (MCT9) kroz stanične membrane. Drugi identificirani lokus je GCKR odgovoran za fosforilaciju glukoze u jetri. Inzulin smanjuje bubrežno izlučivanje natrija i urata. Bubrežno izlučivanje mokraćne kiseline je povezano sa stupnjem inzulinske rezistencije. Inzulinska rezistencija je pak povezana sa smanjenom oksidativnom fosforilacijom u jetrenim mitohondrijima, što vodi do

povećanih koncentracija koenzima A i adenzina. Povećana koncentracija adenzina može uzrokovati bubrežnu retenciju natrija, mokraćne kiseline i vode, što dovodi do hiperuricemije (135-138).

Za genetičko-epidemiološku analizu računamo heritabilnost ili nasljednost nekog svojstva. Heritabilnost izražavamo preko njenog koeficijenta ( $h^2$ ). Za provedbu analize potrebno je definirati dvije skupine podataka, jednu s podacima o fenotipskim svojstvima i drugu koja sadržava podatke o rodbinskim vezama (9).

Stupanj do kojeg geni organizma doprinose kompleksnoj osobini naziva se heritabilnost. Mjerenje heritabilnosti neke osobine je relativno - u varijabilnijem staništu ono ima veći utjecaj na krajnju varijaciju osobine. Heritabilnost je statistički podatak koji se odnosi na proporciju promatrane varijance u skupini pojedinaca, a koja se može pripisati utjecaju gena, odnosno proporcija fenotipske varijance koja se može pripisati genotipskoj varijanci. Heritabilnost se odnosi na razinu populacije, ne pojedinca, i to na određenu populaciju u određeno vrijeme. Heritabilnost nije stabilna već se mijenja u vremenu i među populacijama.

**Koeficijent heritabilnosti ( $h^2$ )** - broj koji nam pokazuje procjenu stupnja poligenetskog utjecaja na određenu crtu.

On je jednak omjeru  $V_g/V_p$ , pri čemu je:

$V_g$  genetska varijanca izazvana nasljeđivanjem različitih genetskih varijacija

$V_p$  je fenotipska varijanca (opaženo obilježje ili opažena varijacija) (9)

**Dva tipa okolinskih efekata, zajednička i nezajednička okolina** – zajedničku čine svi okolinski utjecaji koji pojedince čine sličnima (npr. ista socijalna klasa), dok se specifična okolinska komponenta odnosi na utjecaje koji imaju jedinstvene efekte na svakog pojedinca (npr. red rođenja).

### 1.5.3. Utjecaj životnog stila i prehrane

Pojavnost gihta i način života odavno su poznati (30). Učestalost gihta nakon drugog svjetskog rata naglo je porasla. Većina bolesnika s gihtom ima prekomjernu tjelesnu težinu. Smanjenjem tjelesne težine dolazi do smanjenja koncentracije mokraćne kiseline u serumu i urinu.

Oko dvije trećine dnevnog opterećenja purinom nastaje endogeno iz prometa stanica, a jedna trećina je produkt prehrane. Purinom bogate namirnice uključuju životinjsko meso (govedina, svinjetina, janjetina, mesne preradevine i mesne ekstrakte), morske plodove (riblje filete, tuna, škampi, jastog, školjke, itd.), a biljke (kvasac, grašak, grah, leća, šparoge i gljive). S druge strane, mliječni proizvodi (mlijeko, sir, jogurt, sladoled), žitarice i njihovi proizvodi (kruh, tjestenina, žitarice), povrće, voće, orašasti plodovi, šećeri i slastice su niskog sadržaja purina (117-121).

U istraživanju Hyon K. Cho i suradnika koji su tražili povezanost konzumacije purinima bogate hrane, mliječnih proizvoda i unosa proteina i rizika za nastanak gihta u muškaraca dokazali su da je konzumacija mesa i morskih plodova povezana s povećanim rizikom od gihta, dok je potrošnja mlijeka i mliječnih proizvoda, osobito mliječnih proizvoda niskog sadržaja masti, povezana sa znatno smanjenim rizikom od gihta (118,119). Nasuprot tome, umjeren unos purinima bogatog povrća ili proteina nije bio povezan s povećanim rizikom od gihta. Opisan je i zaštitni učinak određenih namirnica kao što su vitamin C i kava (122,123).

U dosadašnjim istraživanjima interakcije između genetskih varijanti gena za glukozni transporter (SLC2A9) i prehrambenih navika u regulaciji serumske mokraćne kiseline rezultati su nam pokazali značajno smanjenje koncentracije mokraćne kiseline s povećanjem konzumacije mlijeka, kiselog vrhnja, pačjeg mesa, puretine i jaja. Sudionici su prikupljeni iz dvije izolirane zajednice na hrvatskim otocima Visu i Korčuli. Tri polimorfizma pojedinačnih

nukleotida (SNP) iz gena SLC2A9 (rs1014290, rs6449213 i rs737267) korelirana su s prehrambenim navikama i koncentracijom mokraćne kiseline. Jedina značajna povezanost pronađena je između konzumacije krumpira i rs737267, a skoro značajna interakcija pronađena je između konzumacije bezalkoholnih pića i rs1014290. Povećana konzumacija bezalkoholnih pića u interakciji s genotipom TT na rs1014290 povećala je serumsku koncentraciju mokraćne kiseline, te se čini da je metabolički utjecaj bezalkoholnih pića određen pozadinskim genotipom rs1014290 (122-124).

Konzumacija alkohola ima višestruku ulogu u nastanku bolesti i pogoršanju simptoma. Alkohol povećava tjelesnu masu osobe zbog kalorijske vrijednosti, te na ovaj način povećava koncentraciju mokraćne kiseline. Alkohol pojačava razgradnju nukleotida adenina i na ovaj način pridonosi hiperuricemiji, te uzrokuje laktacidemiju i ketozu koje smanjuju sekreciju mokraćne kiseline u tubulima bubrega i time pridonosi hiperuricemiji (139-144).

U jednoj od najvećih studija u kojoj se pratio učinak alkohola na giht je istraživanje Massachusetts General Hospital, Harvard Medical School, Boston, American College of Rheumatology i Case Western Reserve University, Cleveland. Istraživanje je provedeno na 47.000 muških sudionika tijekom 12 godina. Učinak piva je objašnjen rezultatima po kojim se može zaključiti da je konzumacija alkohola povezana sa povećanim rizikom od gihta. Pivo sadrži najviše purina. Konzumacija male količine piva (dva do četiri piva tjedno) povećava rizik za giht za 25%. Oni koji piju dvije ili više piva na dan povećavaju rizik za nevjerojatnih 200%. Žestoka pića su u ovom istraživanju prošla nešto povoljnije. Oni koji su konzumirali male količine žestokih pića povećali su svoj rizik za giht, ali oni koji piju svaki dan rizik su povećali za 60%. Vino je pobjednik kada je u pitanju piće po izboru za bolesnike s gihtom. Iako vino također sadrži purine, unutar studije se zaključilo da konzument ne bi imao mjerljiv učinak na rizik od ove bolesti (140,144,145).

Od svih alkoholnih pića pivo zauzima posebno mjesto zbog bogatstva purinom porijeklom iz kvasca koji se koristi prilikom proizvodnje ovog pića (21).

#### **1.5.4. Sekundarni giht**

Sekundarni giht nastaje kao posljedica neke primarne bolesti. Često nastaje tijekom bolesti krvi i krvotvornih organa, malignih bolesti, kronične bubrežne isuficijencije, trovanja olovom i uzimanja nekih lijekova. Rjeđa pojavnost ove bolesti vezana je uz primarnu pojavu psorijaze i glikogenoza tipa II, V i VII (58,146).

Giht se javlja u bolesnika s krvnim bolestima i bolestima krvotvornih organa kao što su: policitemija, leukemija, plazmocitom, perniciozna anemija, talasemija, hemolitička anemija, Hodgkinova bolest, Waldenströmova hiperglobulinemija i limfosarkom (21,58,148,149). U svim ovim bolestima dolazi do pojačane razgradnje stanica, oslobađanja purina i u konačnici povećane vrijednosti koncentracije serumske mokraćne kiseline.

Glavni ekskrecijski organ za mokraćnu kiselinu je bubreg. Manja količina mokraćne kiseline izlučuje se urikolizom u crijevima. Kronična isuficijencija bubrega čest je uzrok hiperuricemije. 20% hiperuricemičnih bolesnika su i bubrežni bolesnici. Hiperuricemija nastaje kada se glomerularna filtracija smanji za više od pola. Do smanjenja glomerularne filtracije na pola hiperuricemija se ne događa zbog pojačane ekskrecije mokraćne kiseline u nefronu i ekstrarenalne ekskrecije crijevom (148,150,151).

#### **1.5.5. Giht i saturnizam**

Povećana pojavnost gihta u aristokracije Rimskog carstva se vezuje uz visok sadržaj olova u vinima. Starorimska vina su završavala proces vrenja u olovnim posudama gdje se razvijao se olovni acetat. Vino je uz to bilo i neizostavni dodatak jelima. Hranu su pak

pripremali u kositrenim i brončanim posudama ponovo s visokim sadržajem olova. Sve to doprinijelo je trovanju olovom (152-156).

Trovanje olovom, pojava simptoma i izloženost olovu ne moraju biti u isto vrijeme. 1963. godine je opisana epidemija gihta u Queenslandu u Australiji (32). Bolesnici su u djetinjstvu bili izloženi olovu preko olovne bijele boje kojom su bojane terase. U odrasloj dobi je kod njih opisana isuficijencija bubrega i time smanjena mogućnost izlučivanja mokraćne kiseline.

Hiperuricemije uzrokovane lijekovima čine 20% svih hiperuricemija zbog njihovog izlučivanja putem bubrega (151,157). Lijekovi koji izazivaju hiperuricemiju su: salicilati (u malim dozama inhibiraju tubularnu sekreciju urata, a u velikim dozama inhibiraju reapsorpciju), klortiazid, furosemid, klortalidon, etakrinska kiselina, acetazolamid, pirazinamid, etambutol, epinefrin, norepinefrin, angiotenzin, ciklosporin, nikotinska kiselina i levodopa (13-15,23).

### **1.5.6. Patogeneza akutnog gihta**

Prva klinička manifestacija bolesti je najčešće akutni urični artritis. Hiperuricemija je prisutna u serumu godinama prije pojave prvih znakova bolesti (4).

Akutna upala zgloba može nastati i kod normalne vrijednosti mokraćne kiseline u serumu zbog smanjene mogućnosti plazme za vezanje soli mokraćne kiseline. Lokalna zasićenost mokraćnom kiselinom, lokalno sniženje tjelesne temperature i smanjenje kiselosti zglobne tekućine također pridonose pojavi znakova bolesti (13,26). Kristali iz sinovijalne ovojnice zgloba lako dopijuju u zglobnu šupljinu neovisno o koncentraciji. Prelazak kristala uvjetovan je degeneracijom zglobne hrskavice i pritiskom na zglob sa strane. Ovim se mehanizmom objašnjava najčešća zahvaćenost nožnog palca (108).

Taloženje kristala aktivira medijatore upale (102). Bolest se očituje naglom i oštrom boli, toplinom, oteklinom i ograničenom pokretljivošću u zglobovima. Kristali soli mokraćne kiseline aktiviraju: neutrofilne leukocite, fagocite, trombocite, mastocite, periferne živce, sistem komplementa i faktore koagulacije (40-74).

Osim aktivacije ovih elemenata upale oslobađaju se kalikrein, bradikinin i metaboliti arahidonske kiseline (prostanglandini i leukotrien B<sub>4</sub>) te time pojačavaju upalu (61,157-160).

Leukotrien B<sub>4</sub> citotoksičnim djelovanjem omogućuje prodiranje leukocita kroz stijenke kapilara i njihovo usmjereno kretanje prema žarištu upale. Leukociti fagocitiraju kristale, koji preko leukotriena izazivaju degranulaciju lizosoma, otapanje membrana i oslobađanje enzima i kemotaktičkih faktora (78,148).

Kristali mokraćne kiseline razaraju lizosome i liposome u prisutnosti testosterona ili kolesterola, ali ne i estradiola. To se veže uz veću pojavnost kod muškog spola. Vaskularni endotel ima centralnu ulogu u patogenezi upale. Citokini (TNF-tumor necrosis factor i IL-1 interleukin 1) glavni su posrednici u endotelijalnoj aktivaciji upale (55,61,156).

Kristali urata prekriveni su imunoglobulinima (IgG) ili apolipoproteinom (apo E). Imunoglobulini reagiraju s Fc receptorima na staničnim membranama (32,55,61). Tako potaknute stanice fagocitiraju kristale unutar fagolizosoma. Nakon što se razgradi ovojnica imunoglobulina, vodikove veze izazovu oslobađanje enzima iz fagolizosoma razaranjem njihovih ovojnica. Razaranjem same stanice aktiviraju se upalni medijatori: kemotaktički faktori, lizosomski enzimi, prostanglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>), leukotrien B<sub>4</sub> (LTB<sub>4</sub>), interleukini-1 i 6 (IL-1 i IL-6), kisikovi radikali i kolagenaze (148,157,158).

Nakon aktivacije slijedi vaskularna kongestija i upliv neutrofila, monocita, makrofaga, plazma stanica i limfocita. Kristali obloženi imunoglobulinima izazivaju upalnu reakciju i mogu biti resorbirani. Drugi kristali obloženi apolipoproteinom E mogu inaktivirati fagocitozu i mogu ostati mirni, bez upalne reakcije (32,51,61).

### **1.5.7. Urični tofi**

Tofi su nakupine kristala soli mokraćne kiseline, natrijevog urata monohidrata, u tkivu i predstavljaju osnovnu leziju ove bolesti. Talože se pretežito u vezivnom tkivu, sinovijalnoj ovojnici zgloba ili u hrskavici (4,32). Uz kristale su dokazani imunoglobulini i komponente komplementa, a okružen je mononuklearima, divovskim stanicama, histiocitima i fagocitima, mononuklearima i polinuklearima (159,160). Tofi se međusobno mogu spajati, a prodorom upalnih promjena nastali granulomi mogu zahvatiti kost. Starenjem tofi se okružuju vaskularnom i fibroznom ovojnicom. Najčešće se nalaze na koži, hrskavici ušne školjke, sinoviji i zglobnim hrskavicama, periartikularno, u kosti, u burzama, tetivama, bubrezima (148,156).

Kod neliječenih bolesnika tofi se spajaju, ponekad egzulceriraju na površinu kože, mogu se inficirati, kalcificirati, destruirati kost, te znatno deformirati zahvaćene zglobove (32,148).

Promjene bubrega mogu se uočiti i prije zglobnih simptoma. Kora bubrega može biti stanjena, a srž i piramide sadržavati bijele nakupine soli mokraćne kiseline. Oko nakupina nalaze se divovske stanice, limfociti i plazma stanice. Posljedica ovih promjena je intersticijalna fibroza. Glomeruli degeneriraju, pigmentiraju i zadeblja im se bazalna membrana. Posljedica ovih promjena je hijalinizacija glomerula, atrofija tubula uz vaskularnu hipertrofiju i fibrozu intersticija. Asimptomatska hiperuricemija ne uzrokuje bubrežnu isuficijenciju, već je bubrežna isuficijencija rezultat hipertenzije i ateroskleroze (160-162)).

#### **– Nefrolitijaza kod bolesnika s gihtom**

Za nastanak bubrežnih kamenaca presudna su tri čimbenika: trajno kisela mokraća, hiperurikozurija i dehidracija s posljedično malom količinom koncentriranog urina.



Bubrežni kamenci su tisuću puta češći u bolesnika s gihtom nego u općoj populaciji. Kamenci se sastoje od mokraćne kiseline i njenih soli, rjeđe od kalcijevog oksalata ili fosfata (11,163).

– **Nefropatija**

**a) Kronična urična nefropatija**

Nastaje zbog dugotrajne hiperuricemije i taloženja kristala mokraćne kiseline u tkivo bubrega. Rezultat taloženja je upalna reakcija s posljedičnom fibrozom koja dovodi do hipertenzije i kronične isuficijencije bubrega. Simptomi mogu biti albuminurija i slabo koncentrirani urin. Ne postoji korelacija između zglobnih i bubrežnih promjena kod bolesnika s gihtom (160,164).

**b) Akutna urična nefropatija**

Nastaje zbog taloženja slabo topljive mokraćne kiseline u tubulima bubrega. Najčešće nastaje u sekundarnim oblicima bolesti, malignim limfomima i mijeloproliferativnim bolestima, u febrilnih ili dehidriranih bolesnika. Razlog je preveliko razaranje i dotok purinskih baza u bubreg. Stanju pogoduje i upotreba nekih lijekova kao niskih doza salicilata ili diuretika (160).

### **1.5.8. Akutni urični artritis**

Prvi napadaj uričnog artritisa najčešće se javlja u do tada zdravom zglobu i debljeg muškarca srednjih godina. Odlikuje se naglim, vrlo bolnim početkom, noću, u tarzometafalangealnom zglobu palca (podagra). Ovaj zglob zahvaćen je u 78% bolesnika (1,32,29). Nešto rjeđe su zahvaćena stopala, gležnjevi, koljeno (gonagra), šaka (heiragra) i rame (omagra). Prvi napad mogu provocirati lijekovi, preobilni obrok i konzumacija alkohola. Zglob je jako bolan sa svim znakovima upale. Unutar zgloba je upalna tekućina s obiljem leukocita i kristala mokraćne kiseline. Koža iznad zahvaćenog zgloba je tanka, glatka, sjajna,

napeta i jako topla. Znakovi bolesti se tijekom nekoliko dana pojačavaju, a nakon toga se spontano povuku. Osim promjena na zglobu povišena je tjelesna temperatura (3,4,98). U krvnoj slici nalazimo jako ubrzanu sedimentaciju i leukocitozu. Upala se može premještati sa zgloba na zglob i trajati tjednima. Giht može nalikovati erizipelu, flegmoni i tromboflebitisu. Bolest je karakterizirana remisijama i recidivima. U početku su remisije dugotrajne, dok u neliječenih bolesnika su napadaji sve češći, bolniji i zahvaćaju više zglobova (29,100,148).

### **1.5.9. Giht bez hiperuricemije**

Upala zgloba se može javiti bez hiperuricemije, često kod pojačanog izlučivanja mokraćne kiseline ili kod bolesnika koji uzimaju diurtike ili alopurinol. Normouricemija može nastati i u bolesnika s reduciranom tjelesnom težinom te kod onih koji apstiniraju od alkohola (28).

U Framinghamskoj studiji 33% bolesnika s koncentracijom serumske mokraćne kiseline ispod 416  $\mu\text{mol/L}$  zadovoljilo je kriterije bolesti. I hladnoća zbog brže precipitacije kristala može pogodovati razvoju kliničke slike. Mokraćna kiselina pri temperaturi od 37°C je topljiva do koncentracije od 416  $\mu\text{mol/L}$ . Pri temperaturi od 30°C precipitacija nastupa pri koncentraciji od 268  $\mu\text{mol/L}$  (28,166).

## **1.6. Popratne bolesti uz giht**

### **a) Pretilost**

Većina bolesnika s gihtom ima povećanu tjelesnu težinu. Bubrezi pretilo osobe su opterećeni tjelesnom masom, masnom infiltracijom i aterosklerotskim promjenama (9,87). U većini istraživanja koja prate povezanost mokraćne kiseline i pretilosti našla se direktna korelacija, pogotovo s centralnim tipom pretilosti (167). U istraživanjima otočkih populacija

Visa i Orkneya (Škotska) nađena je povezanost koncentracije mokraćne kiseline s koncentracijom glukoze na tašte, triglicerida, lipoproteinima visoke gustoće (HDL), BMI, opsega struka i sistoličkog i dijastoličkog krvnog tlaka (168).

### **b) Hipertenzija**

Hipertenziju ima oko 70% bolesnika s gihtom. Opasnost ove zajedničke pojavnosti je što liječenje hipertenzije povećava vjerojatnost hiperuricemije učinkom lijekova na bubreg, vjerojatno zbog smanjenog izlučivanja mokraćne kiseline smanjenim protokom kroz bubreg i povećane vaskularne rezistencije bubrega. Rezultat je smanjena glomerularna filtracija i nefroskleroza. Primjenom diuretika rizik od hiperuricemije je dvostruk (93,94,110).

Short i suradnici su pokazali da je mokraćna kiselina bila povezana s oboljevanjem i smrti od kardiovaskularnih bolesti (169-174). U istraživanju utjecaja mokraćne kiseline na ukupnu smrtnost i na smrtnost od kardiovaskularnih bolesti u populaciji zdravih muškaraca iz Finske, Niskanen i suradnici su potvrdili da su osobe s koncentracijom mokraćne kiseline u gornjoj trećini raspodjele imale 4,7 puta veći rizik za smrt zbog kardiovaskularne bolesti i 1,7 puta veći rizik za smrt od bilo koje druge bolesti u odnosu na osobe u donjoj trećini raspodjele mokraćne kiseline u serumu, nakon kontrole dugih čimbenika rizika (175).

### **c) Šećerna bolest**

U većine bolesnika s gihtom opažena je intolerancija na glukozu, a šećerna bolest u do jedne četvrtine bolesnika. Zapaženo je urikozurično djelovanje glikozurije i smanjena koncentracija mokraćne kiseline u serumu kod bolesnika s gihtom kod kojih se razvije šećerna bolest. Pretpostavke su da mokraćna kiselina i njeni metaboliti djeluju citotoksično na Langerhansove otočiće. Do 50% bolesnika s šećernom bolesti ima hiperuricemiju, a tek mali dio (do 9 %) razvije klasične znakove upale zgloba (88-90).

U istraživanju intervencije među ispitanicima srednje dobi s povećanom tolerancijom glukoze, Niskanen i suradnici su pokazali povezanost između koncentracije mokraćne kiseline i obolijevanja od šećerne bolesti tipa 2, kao i njenu povezanost s promjenama u koncentraciji glukoze i inzulina (175).

#### **d) Ateroskleroza**

Bolesnici bolesni od gihta najčešće umiru od kardiovaskularnih i cerebrovaskularnih bolesti. Kristali mokraćne kiseline aktiviraju trombocite na izlučivanje serotonina i ADP, tako oštećuju endotel krvnih žila i pogoduju nastanku ateroskleroze. Sami trombociti u bolesnika s gihtom kraće žive. U bolesnika s gihtom povišene su i serumske vrijednosti lipoproteina (90-92,139). Mokraćna kiselina je snažan antioksidans i štiti tkiva od ozljeda kisikovim radikalima (9). Međutim u mikro uvjetima uznapredovalih aterosklerotskih naslaga antioksidativna svojstva mokraćne kiseline se mijenjaju i ona postaje prooksidans, te pridonosi oksidaciji lipoproteina u plaku i napredovanju ateroskleroze (9). Temeljem rečenog mokraćna kiselina se smatra pokazateljem rizika za razvoj kardiovaskularnih bolesti i bolesti bubrega.

Posebno je značenje hiperuricemije u okviru metaboličkog sindroma gdje je udružena s šećernom bolešću rezistentnom na inzulin, hipertenzijom, dislipidemijom i androgenim tipom pretilosti (9,87-89). Intenzivno se istražuje ova povezanost. Jedna hipoteza govori o povezanosti fruktoze u hrani i osvježavajućim bezalkoholnim pićima koja dovodi do porasta serumske mokraćne kiseline. Ovaj učinak nije opažen kod unosa fruktoze iz voća. Mokraćna kiselina smanjuje sintezu dušikovog oksida (NO) time smanjuje djelovanje inzulina kod unosa glukoze u stanicu (176).

Koncentracija mokraćne kiseline izravno korelira sa sastavnicama metaboličkog sindroma (9,177). Ovu povezanost nalazimo opisanu u dva istraživanja u populaciji SAD-a

(178), a i kod dječaka iz Arkhangelska u Rusiji u dobi od 7 do 17 godina, kod kojih je serumska mokraćna kiselina korelirala s koncentracijom triglicerida, glukoze na tašte, sistoličkim i dijastoličkim tlakom, kolesterolom i lipoproteinima niske gustoće (LDL) (179). Choi i Ford su pokazali na reprezentativnom uzorku odrasle populacije SAD-a da prevalencija metaboličkog sindroma raste kako raste koncentracija mokraćne kiseline u serumu. Ukazali su i na povezanost između serumske mokraćne kiseline i središnjeg tipa pretilosti, povišene koncentracije triglicerida i glukoze na tašte, snižene koncentracije HDL kolesterola i povišenog krvnog tlaka (180).

Hiperuricemija u populaciji Kine bila je povezana s 1,62 puta većom šansom za oboljevanje od metaboličkog sindroma kod muškaraca i kod žena, a najjača korelacija s mokraćnom kiselinom zabilježena je kod opsega struka i koncentracije triglicerida (180,181).

## **1.7. Dijagnostičke pretrage za giht**

Europska liga protiv reumatizma donijela je 2006. godine preporuke otkrivanja i liječenja (183). Analiza aspirata s nalazom kristala mokraćne kiseline je glavna dijagnostička metoda. Ultrazvuk, kompjutorizirana tomografija (CT), magnetska rezonanca (MR) su pomoć u dijagnozi i procjeni gihta. Ultrazvuk može detektirati tofe, erozije te nakupine kristala unutar hrskavice kao hiperehogene nepravilne linije na površini hrskavice. MR je od pomoći pri procjeni zahvaćenosti kralježnice. CT-om se vizualiziraju koštane erozije (183-186).

### **1.7.1. Biokemijske pretrage**

Prilikom upalnih promjena na zglobovima u krvi bolesnika nalaze se svi znakovi upale. Po prestanku simptoma sedimentacija se brzo vraća na normalne vrijednosti.

Posebno je važan pregled urina i to pH urina. Normalne vrijednosti su od 4,8 do 7,5, a u bolesnika s gihtom urin je lagano kiseo 5,5. Ako je pH urina nižih vrijednosti mokraćna kiselina ne disocira te je sklona taloženju i stvaranju kamenaca (1,3,4,32).

U urinu se mogu naći proteinurija, leukociturija, eritrociturija ili hematurija praćena kolikama uzrokovanih kamencem. Često je smanjena glomerularna filtracija pa je klirens kreatinina smanjen. U većine bolesnika nalazimo patološki nalaz klirensa mokraćne kiseline. Normouricemija ne isključuje giht ukoliko postoje klinički znakovi bolesti jer u akutnom napadaju koncentracija mokraćne kiseline je često niža nego prije napada (185). Često nalazimo i hiperlipoproteinemiju kao posljedicu pretilosti ili konzumacije alkohola.

### **1.7.2. Identifikacija kristala**

Kristali se određuju u polariziranom svjetlu kada se očituju zlatnožuti kristali. Kristali čija os leži okomito na optičku os kompenzatora polariziraju plavo (184,186). Ova dvostruka lomnost kristala siguran je znak natrijevog kiselog urata monohidrata. Svaki tof, sekret ili zglobni izljev bi trebalo pretražiti na kristale (186-194).

### **1.7.3. Radiološki nalaz**

Na rendgenskim slikama tofi u mekom tkivu se ne vide. Trajanjem kalcificiraju i postaju vidljivi. Na zglobnim hrskavicama izgled je jednak artroznim promjenama. Na kostima tofi daju karakterističnu sliku: okrugla, ovalna, prozirna žarišta sa sklerotičnim rubom i uzure na rubovima kosti. Veliki tofi mogu potisnuti preostali korteks što stvara izbočinu na površini i poput ljuske ovija tofus. Tofi se mogu međusobno spajati i time izazivati velike destrukcije zglobova i kosti (186,187).

Za bubrežne kamence kompjutorizirana tomografija je metoda izbora jer kamenci imaju svoju sjenu koja se razlikuje od sjene tumora (32).

#### **1.7.4. Diferencijalna dijagnoza gihta**

Akutna upala zgloba najčešće se zamijeni s flegmonom. Infekcija u gihtom zahvaćenom zglobu nastane egzulceracijom tofa i prodorom bakterija u tkivo. Često se zamijeni s erizipelom, tromboflebitisom, burzitisom, traumatskim ozljedama zgloba, psorijatičkim artritisom, sarkoidozom, artrozom, peritendinitisom i tendinitisom. Veliki tofi mogu nalikovati tumorima, peiostalnom sarkomu, hondrosarkomu ili osteolizi (32).

Klinički je najteže razlikovati giht i pseudogiht. Pseudogiht je nastao nakupljanjem kristala kalcijevog pirofosfata unutar zgloba. Pregled aspiriranih kristala u polarizacijskom mikroskopu razlikovat će ove dvije bolesti. Negativno dvolomni kristali su građeni od natrijevog kiselog monohidrata urata, a pozitivno dvolomni kristali kalcijevog pirofosfata govore za pseudogiht (187, 190-193).

Klinička slika gdje svaki monoartritis, muškarca srednjih godina praćen oteklinom, crvenilom, pogotovo na nožnom palcu govori u prilog gihtu (195-203). Od laboratorijskih pretraga slijede pregled krvne slike i urina, određivanje sedimentacije eritrocita, koncentracije mokraćne kiseline u urinu i serumu, sposobnost koncentriranja urina, kreatinin i klirens mokraćne kiseline i kreatinina, glukoza, trigliceridi i kolesterol, kalcij i fosfor, elektroforeza serumskih proteina i lipoproteina (204-207). Rendgenske slike zahvaćenih zglobova mogu potvrditi dijagnozu. Dodatne pretrage su ultrazvuk abdomena i intravensku urografiju (203,100).

Potrebno je isključiti maligne, hematološke i druge teške bolesti koje uzrokuju pojačanu proizvodnju purina i sekundarni giht, te ispitati aktivnost HGPRT enzima (21).

Posebnu pažnju obratiti obiteljskoj anamnezi, bubrežnim bolestima i neurološkim simptomima u početku bolesti u djetinjstvu, mladosti i u žena prije menopauze (32).

Nakon ovih pretraga možemo pristupiti identifikaciji kristala u zglobu ili tofu (190-194).

Za postavljanje dijagnoze potrebno je šest pozitivnih kriterija od predloženih trinaest Komisije američkog reumatološkog društva (4,101).

#### **Američko reumatološko društvo - šest pozitivnih kriterija**

1. više od jednog napadaja akutnog artritisa,
2. maksimum upale nastao unutar jednog dana,
3. napadaji u jednom zglobu,
4. crvenilo zgloba,
5. bol i otok prvog metatarzofalangealnog zgloba,
6. napadaj prvog metatarzofalangealnog zgloba jedne strane,
7. napadaj tarzalnog zgloba jedne strane,
8. tof dokazan ili sumnjiv,
9. hiperuricemija,
10. asimetričan otok na rendgenskoj slici,
11. subkortikalne ciste bez erozija na rendgenskoj slici,
12. kristali natrijevog kiselog urata monohidrata u zglobu za vrijeme napadaja,
13. negativna kultura zglobne tekućine za vrijeme napadaja.



## 1.8. Liječenje gihta

Liječenje gihta podrazumijeva uklanjanje svi mogućih razloga koji su do bolesti doveli ukoliko je to moguće. Na ovaj način se produlji period između dva napada bolesti, sprječavaju recidivi i smanjuju posljedice (208-212).

Akutni napad ove bolesti liječi se nesteroidnim protuupalnim lijekovima (NSAIDs): fenilbutazonom, indometacinom, diklofenakom, ibuprofenom, ketoprofenom, naproksenom i oksikamima.

Ova skupina lijekova izaziva teške nuspojave od kojih su najčešće promjene gastrointestinalnog trakta s krvarenjima (216-222).

### a) Kolhicin

Kolhicin je alkaloid lukovica i sjemenja mrazovca (*Colchicum autumnale*). Kolhicin zaustavlja diobu stanice, inhibira fagocitozu kristala, zaustavlja upliv granulocita, ameboidno gibanje i pucanje membrana lizosoma. Najjači učinak ima na inhibiciju kemotaksije leukocita. Simptome akutnog napada ovaj lijek ukloni u sat do dva kod većine bolesnika, ali zbog mogućih neželjenih pojava prednost se daje drugim lijekovima (223-225)

Koristi se u medicini još od 1763. kada je prvi put upotrijebljen za liječenje gihta. Dva francuska kemičara, P.S. Pelletier i J. Caventon su 1820. g. prvi put izolirali ovaj alkaloid. Izoliran ima izgled blijedožutog praška koji na svjetlosti potamni i skoro je bez mirisa. Slabo je topljiv u vodi, a dobro se otapa u kloroformu i etanolu.

Kolhicin je citostatik jer kada se doda u određenoj količini zaustavlja mitozu stanica tako što sprječava stanično diobeno vreteno, odnosno, polimerizaciju mikrotubula. Veže se za protein tubulin i inhibira njegovu funkciju. Tubulin je građevni element koji u stanicama sudjeluje u izgrađuje vlaknaste strukture mikrotubula. Od njih je izgrađeno diobeno vreteno i niti koje pomažu kretanje leukocita i fagocitozu. Blokadom tubulina kolhicinom ometena je i

stanična dioba te kretanje leukocita i fagocitoza. Pored učinka na diobu stanica i blokadu tubulina ima i druga učinke na organizam čovjeka: snižava tjelesnu temperaturu, smanjuje upalne reakcije u zglobovima koje su posljedica taloženja mokraćne kiseline u njima, djeluje na aktivnost probavnog sustava i centra za disanje i dr.

#### Farmakološki učinci kolhicina

1. Inhibicija formiranja diobenog vretena - kolhicin vezuje tubulinski dimer, sprječava pretvorbu tubulina, tako zaustavlja stanice u mitotskoj metafazi, što dovodi do smrti stanice.
2. Protuupalni učinci zbog ometanja lizosoma - kolhicin smanjuje neutrofilnu degranulacijsku aktivnost, prijanjanje i kemotaksiju, inhibira migraciju neutrofila u upalno područje. Osim toga, ometa stanične adhezijske molekule i selektivnu ekspresiju molekula na površini stanice, čime sprječava aktivaciju T stanica i prijanjanje na endotelne stanice, te i na taj način inhibira upalni odgovor.
3. Uloga zaustavljanja formiranja vezivnog tkiva istražena je u pokusima na životinjama. Istraživanja in vitro pokazala su da kolhicin može inhibirati proliferaciju fibroblasta, inducirati inhibiciju kolagena, mRNA kao i sintezu proteina, te poboljšati aktivnost kolagenaza povećanjem aktivnosti proteaza (MMP) -1, MMP- 9, čime se smanjuje proizvodnja i taloženje kolagena, time ima važnu anti-fibrozu ulogu.
4. Inhibicija mastocita i oslobađanje histaminskih granula, inhibicija  $\beta$  stanica gušterače za oslobađanje inzulina i inhibicija granula melanina unutar melanocita.
5. Kolhicin može smanjiti tjelesnu temperaturu, inhibirati respiratorni centar i poboljšati učinak simpatomimetičkih lijekova, suziti krvne žile s posljedičnim povećanjem krvnog tlaka. Kolhicin stimulira i neurone, poboljšava funkciju probavnog trakta, te mijenja neuromuskularnu funkciju. Budući kolhicin inhibira diobu stanica može utjecati na metabolizam proteina u stanicama tumora, inhibiciju RNK polimerazne aktivnosti, aktivnost membranskih lipida i sintezu aminokiselinskih transportera na staničnoj membrani. Ovim

inducira apoptozu u raznim solidnim tumorima. Prijašnje su studije in vitro u stanicama glioma pokazale da kolhicin značajno inhibira rast i utječe na indukciju apoptoze stanica.

Blokadom izgradnje mikrotubula blokira se migracija leukocita u zglobove s nataloženim kristalima urata te se blokira fagocitoza istih. Ovim je spriječeno lučenje mliječne kiseline na mjestu taloženja kristala i njihovo još jače kristaliziranje. Na ovaj način zaustavlja se upalna reakcija i bol. Doza od 0,5 mg do 1 mg kolhicina dana svaka 2 sata ublažava napad gihta unutar 12 sati, a za 1-2 dana napad u potpunosti prestaje. Maksimalna doza kolhicina iznosi 5 mg dnevno. Kada se unese u većim količinama u organizam nakon nekoliko sati mogu se javiti neželjeni učinci kolhicina. Simptomi trovanja su: oštra bol u želucu, mučnina, povraćanje i proljev (ali zbog njegove relativno spore resorpcije, tek oko 3 sata nakon unošenja u organizam), puls je ubrzan i slab, a otrovana osoba jako iscrpljena. Proljev može biti i krvav zbog zaustavljanja umnažanja stanica crijevnih resica što dovodi do hemoragijskog gastroenteritisa. Kolhicin može štetno djelovati i na bubrege.

#### **b) Sintetski glukokortikoidi i adrenokortikotropin (ACTH)**

Ovi lijekovi izuzetno dobro djeluju u zaustavljanju upalne reakcije u vremenu do dva dana. Zbog mogućih nuspojava i postojanja drugih lijekova prvog izbora rijetko se upotrebljavaju. Ponekad se apliciraju lokalno na zglob iako i kod takve aplikacije djeluju na cijeli organizam (226).

Liječenje hiperuricemije se provodi iako sama nije bolest. Postupno se provodi smanjenje tjelesne težine, ograničenje unosa mesa i druge purinom bogate hrane kao i alkohola. Treba racionalizirati upotrebu lijekova s učinkom na mokraćnu kiselinu, hipertenziju liječiti izbjegavanjem diuretika i obratiti pažnju na dovoljan unos tekućine (227-228). Indikaciju za upotrebu hipouricemičnih lijekova imaju bolesnici s tofima i učestalim

napadima artritisa, bolesnici s izrazitom hiperprodukcijom mokraćne kiseline i bolesnici s nefrolitijazom i hiperurikozurijom (229-231).

### **c) Inhibitori ksantinoksidaze i urikozurici**

Urikozurici su lijekovi koji pojačavaju izlučivanje mokraćne kiseline inhibicijom reapsorpcije u tubulima i inhibitori ksantinoksidaze koji zaustavljaju produkciju mokraćne kiseline (229-231). Daju se bolesnicima s normalnom ekskrecijom mokraćne kiseline i pojavom tofa.

Inhibitori ksantinoksidaze daju se bolesnicima s pojačanom sekrecijom mokraćne kiseline i onima s nefrolitijazom ili isuficijencijom bubrega. Najpoznatiji inhibitor ksantinoksidaze je alopurinol. Alopurinol kočenjem enzima odgovornog za sintezu smanjuje koncentraciju mokraćne kiseline u serumu i u urinu (229,231).

Od urikozurika najčešće je u upotrebi probenecid koji povećava koncentraciju mokraćne kiseline u urinu, a smanjuje u serumu. Kod upotrebe ovog lijeka potreban je povećan unos vode u organizam (232-234). Uz ovaj lijek u upotrebi su sulfinpirazon i sve češće benzbromaron. Alkalizacijom urina natrijevim bikarbonatom i povećanjem diureze smanjuje se vjerojatnost nastanka kamenaca (235). Izuzetno je važna edukacija pacijenata o pravilnom načinu prehrane, učinku alkohola, količini uzete vode i načinu uzimanja lijekova (236-241).

## **2. CILJEVI I HIPOTEZA**

Glavni cilj ovog istraživanja bio je istražiti učestalost i međuovisnost povišene serumske koncentracije mokraćne kiseline i gihta u populaciji otoka Korčule, Visa i šireg područja grada Splita. Uz to, dodatni ciljevi bili su ustanoviti postoje li razlike u genetskoj podlozi, obrascima ponašanja ili drugim obilježjima osoba koje imaju povišenu koncentraciju mokraćne kiseline a nemaju giht, u odnosu na one ispitanike koji imaju giht te izračunati pojavnost (incidenciju) gihta kod ispitanika u kojih je utvrđena povišena koncentracija mokraćne kiseline u serumu.

Disertacija se temeljila na dvije hipoteze

H1) Klinički nalaz serumske hiperuricemije nije jedinstveni ni dovoljan kriterij za predviđanje pojave gihta

H2) Genetski biljezi mogu se koristiti za predviđanje pojave gihta

### 3. MATERIJALI I METODE

#### 3.1. Osnovna obilježja populacije otoka Korčule i Visa

Otok Korčula pripada južno-Jadranskim otocima. Otok je površine od 279,03 km<sup>2</sup>. Na otoku postoje dva velika naselja (Vela Luka na zapadu i Korčula na istoku) i veći broj manjih naselja (Slika 3.1).



Slika 3.1. Zemljopisni položaj i veća naselja otoka Korčule

Otok Korčula bio je nastanjen prapovijesti. Arheološki tragovi ukazuju na tragove ljudskog obitavanja još u gornjem paleolitu pred oko 20 000 godina. U 6. stoljeću pr. Kr. otok su naselili Grci, najprije kod Vele Luke, a kolonisti otok nazivaju Corcyra Melaina (Crna). Nešto kasnije na drugom kraju otoka, na području današnje Lumbarde dolaze Grci s otoka Visa (Isse) osnivajući naseobinu. Na otoku Korčuli od tada se bilježi uglavnom kontinuirano obitavanje ljudi. U brončanom dobu na brojnim lokalitetima nalazimo naseobine stanovnika Ilira (241).

U prvom stoljeću otok su, kao i cijelu Dalmaciju, osvojili Rimljani nazvavši je Ilirikom. Rimsko Carstvo zaposjeda otok i vrši progon starosjedioca. U 7. stoljeću do obale Jadrana prodiru Slaveni - Hrvati.

Bježeći pred nadiranjem Slavena iz Salone romansko stanovništvo došlo je na otoke Brač, Hvar i Korčulu, a nakon smirivanja prilika većina se vratila u stara prebivališta, a ostali asimilirali s doseljenicima. U ranom srednjem vijeku naseljavaju se na otok Slaveni iz doline Neretve, asimilirajući preostale Romane.

Godine 1000. Venecija zauzima dalmatinske gradove i otoke, te pod njenu vlast dolazi i Korčula. Nakon toga uprava nad Korčulom se često mijenjala: Veneciju smjenjuju hrvatsko - ugarski kraljevi, ponovno Venecija, od 1413. - 1420. Dubrovačka Republika. Zatim od 1420. do 1797. godine Venecija. Kada je Napoleon srušio Venecijansku Republiku, Dalmaciju je na kraće vrijeme zauzela Austrija, ali ubrzo dolaze Francuzi (242).

U razdoblju od 1804. do 1805. g. Korčula je promijenila gospodare: Francuze i Ruse, a od 1807. godine do 1813. godine vladaju Francuzi, potom Englezi do 1815. g. kada je na Bečkom kongresu odlučeno o novim granicama europskih država. Dalmacija dolazi pod austrijsku upravu i ostaje do kraja I. svjetskog rata, tek 1921. g. pripojena je Kraljevini Srba Hrvata i Slovenaca, koja potom dobiva ime Jugoslavija. Zlatno doba naših otoka je druga polovica 19. stoljeća. Dvadesetih godina dvadesetog stoljeća siromaštvo, uzrokovano propašću vinograda i teškom gospodarskom situacijom u zemlji i svijetu, prisiljava značajan broj obitelji na iseljavanje u inozemstvo (pretežno Južna Amerika), što se itekako osjetilo na popisu 1931. godine. U tom razdoblju je prema nekim procjenama iz Blata i Vele Luke iselilo oko 2500 stanovnika. Novi značajniji gubici su u Drugom svjetskom ratu 1943. i početkom 1944. zbog zbjega masovnih razmjera u izbjegličkim logorima Egipta (najveći El Shatt) i južne Italije (242,243). Stanovništvo Hrvatskih otoka se smanjuje od dvadesetih godina dvadesetog stoljeća. Otoci bliže kopnu i oni koji su mostovima spojeni s kopnom uspijevaju zadržati, pa čak i povećati broj stanovnika.

Tablica 3.1. Otok Korčula – Pregled prema stanovništvu po mjestima otoka Korčule

Naselje	1981	1991	2001	2001/1991
Vela luka	4,398	4,464	4,379	-62
Blato	3,861	4,093	3,630	<b>-457</b>
Korčula	2,953	3,232	3,101	-103
Žrnovo	1,184	1,267	1,300	35
Lumbarda	1,040	1,102	1,223	<b>122</b>
Smokvica	1,002	1,125	1,020	-105
Čara	669	797	566	-229
Račišće	511	456	465	10
Pupnat	512	488	433	-57
Potirna	13	14	21	7
<b>UKUPNO</b>	<b>16,143</b>	<b>17,038</b>	<b>16,138</b>	<b>-839</b>

U Tablici 3.1. prikazan je pregled stanovništva otoka Korčule u zadnja tri desetljeća sa vidljivim negativnim prirodnim prirastom. Od svih stanovnika otoka najznačajnije se smanjio broj Blačana dok je Lumbarda povećala broj stanovnika do 2001. (244). Radi usporedbe u Tablici 3.2. prikazana je struktura populacije Vele Luke i Blata

Tablica 3.2. Stanovništvo Vele Luke i Blata prema migracijskim obilježjima 2001.

Naselja	Ukupno	Od rođenja živi u istom naselju	Doseljeno u naselje stanovanja								
			Iz Hrvatske					Iz inozemstva			
			Ukupno	Iz drugog naselja iste općine	Iz druge općine iste županije	Iz druge županije	Ukupno	Iz BiH	Iz Makedonije	Iz Slovenije	Iz Srbije
Vela Luka	4380	3255	1125	0	446	355	321	152	4	11	73
Blato	3680	2876	804	6	274	280	236	111	6	6	8

Izvor: Popis stanovništva, kućanstva i stanova 2001., Stanovništvo prema migracijskim obilježjima, po naseljima, DZS, Zagreb (245).



Otok Vis pripada srednjodalmatinskom arhipelagu. Površina otoka iznosi 90,3 km<sup>2</sup>, dug je 17 km, a širok 8 km. Po popisu stanovnika iz 2001. ima 4338 žitelja, ali stvaran broj ljudi koji živi na otoku je znatno manji. Na otoku Visu postoje dva veća mjesta: Komiža i Vis, te niz manjih sela i zaseoka. Popis stanovništva u Komiži se vodi već oko 150 godina, a Komiža danas ima najmanji broj stanovnika od tada i to negdje oko 1523. U općinu Komiža osim samog grada Komiže ulazi i područje Podšpilje s naseljima Žena Glava, Podšpilje, Duboka, Podhumlje i Borovik, selo Oključna na sjevernom dijelu otoka Visa te otoci Svetac, Jabuka, Palagruža, Biševo i Brusnik (Slika 3.2). Ukupan broj stanovnika Grada je 1.960, od toga u samom naselju Vis 1.776 (246).



Slika 3.2. Naselja na otoku Visu

U doba najvećeg prosperiteta otoka (za vrijeme Austro-Ugarske uprave) na njemu je živjelo gotovo 10.000 stanovnika (Popis 1910.) Većinsko i jedino autohtono stanovništvo otoka su Hrvati, čiji udio u ukupnoj populaciji iznosi 94.1 %. Veća naselja, gradići na otoku su Vis (1.776 stanovnika) i Komiža (1.523 stanovnika).

Prvo naselje na mjestu današnjeg Visa, pod imenom Issa, osnovali su grčki kolonisti sa Sicilije u IV. stoljeću pr. Kr. Antička Issa se razvijala kao urbani i gospodarski centar ovog dijela Jadrana i poslužila je kao baza za naseljavanje dalmatinskog kopna (Epetion/Stobreč i Tragurion/Trogir).

Funkcionirajući kao polis (grad-država), Issa je svoju samostalnost uspjela očuvati sve do I. stoljeća pr. Kr. kada postaje dio Rimskog carstva. Nakon toga Vis gubi značenje i samo se povremeno javlja u srednjovjekovnim izvorima. Iako je otok Vis bio prilično udaljen od kopna, privlačio je ljude iz različitih krajeva – iz Dubrovačke Republike, Boke Kotorske, otoka Korčule, Brača, Hvara, Zlarina. Posebno treba istaknuti velik broj stanovnika iz Poljica, Makarskog primorja kao i one koji se spominju kao Morlaci, Vlasi i Turci. Najraniji statistički podaci važni za Vis mogu se pronaći u knjigama rođenih, vjenčanih i umrlih iz 1587. godine. Devetnaesto stoljeće je razdoblje najburnije viške povijesti. Česte smjene vlasti i pojačani migracijski procesi mogu biti razlog osipanja stanovništva otoka od kraja devetnaestog stoljeća do danas (246,247).

Raspadom Austro-Ugarske, otok Vis potpada pod talijansku okupaciju (1918. - 1921.), a zatim postaje dio Kraljevine Srba, Hrvata i Slovenaca (SHS). Prije Drugog svjetskog rata, područje tadašnje općine Vis (jednako današnjem Gradu) je imalo 4.189 stanovnika, a mjesto Vis 3.189 (Popis 1931.). Od tada broj stanovnika stalno opada.

Doba Kraljevine SHS, kasnije Jugoslavije, razdoblje je prve krize otoka, uzrokovane gubitkom velikog tržišta za otočko ribarstvo. Po izbijanju Drugog svjetskog rata, otok Vis je ponovno 1941. okupirala Italija. Nakon kapitulacije Italije u rujnu 1943. vlast na otoku preuzimaju Partizani. Otočko stanovništvo koje nije bilo sposobno za borbu evakuirali su Britanci u logor El Shatt na Sinaju, gdje su mnogi Višani i umrli zbog loših uvjeta života. Povratak iz Egipta bio je tijekom 1946. godine. U socijalističkoj Jugoslaviji, Vis je zbog svog strateškog položaja bio otok zatvoren za strance (zabrana dolaska stranaca je ukinuta tek 1989.) (246,247).

Tablica 3.3. Otoci Korčula i Vis – stanovništvo

Otok	1981	1991	2001	2001/1991
Korčula	16,143	17,038	16,138	-839
Vis	4,094	4,338	3,565	-765

U Tablici 3.3. prikazano je smanjenje ukupnog broja stanovnika na otocima Korčuli i Visu. Oba otoka imaju negativan prirast s visokim udjelom stanovnika treće životne dobi (Vis 2001. 20%). Otok Vis je na Popisu 2011. imao smanjenje ukupnog broja stanovnika u oba svoja grada - Visu, za 40 stanovnika manje, dok je u Komiži čak 168 stanovnika manje (244,248).

### 3.2. Opis istraživane populacije i uzorka

Otočne populacije Republike Hrvatske čine metapopulaciju genetičkih izolata s dobro dokumentiranom demografskom poviješću (249). Na ovim izoliranim populacijama provedena su istraživanja kroničnih bolesti (249,23). U obavljenim istraživanjima prikazana je smanjena genetska i okolišna raznolikost otočnih populacija zbog čega se one smatraju prikladnima za istraživanje multifaktorijskih i poligenetskih bolesti (250).

Prema zemljopisnom položaju i povijesnim podacima za ove otoke, njihovo stanovništvo se može smatrati genetički izoliranom populacijom i odabrano je za ovo istraživanje zbog navedenih značajki, što ga čini prikladnim za istraživanje gihta i njegove povezanosti s okolišnim i genetskim rizičnim čimbenicima. Osim dobro poznate demografske povijesti, populacija ovih otoka odabrana je za istraživanje zbog dobre infrastrukture zdravstvenog sustava, suradljivosti obiteljskih liječnika, dostupnosti genealoških podataka kao i interesa stanovnika za sudjelovanje u istraživanju.

Ispitanici u ovom istraživanju potječu iz tri populacije: otok Vis, otok Korčula te grad i šire područje grada Splita. Istraživanje na Visu se provedeno 2003. i 2004. godine, na Korčuli 2007. godine, dok je u Splitu provedeno 2009. godine. Prema osnovnom obilježju

radilo se o presječnom istraživanju prigodnog uzorka, jer su ispitanici dragovoljno pristupali istraživanju nakon pozivanja putem sredstava javnog informiranja i poštanskih pozivnica poslanih svim stanovnicima istraživanih područja (ovo se odnosi na otoke Vis i Korčulu). Zbirni prikaz načina pozivanja ispitanika prikazan je u Tablici 3.4.

Tablica 3.4. Prikaz načina pozivanja stanovnika otoka Korčule na sudjelovanje u istraživanju

Broj	Način pozivanja	Detaljni opis
1	Poštanski poziv	Izrađen je poziv koji je poslan stanovnicima pojedinog sela na otocima Visu i Korčuli, ovisno o planu pozivanja. Na Visu su pozivi slani svim registriranim građanima, dok su na Korčuli pozivi slani u Račišće, a kasnije u Korčulu, Pupnat, Lumbardu i Žrnovo.
2	Prezentacija projekta	Osim izravnih poziva za sudjelovanje u istraživanju, stanovnici otoka bili su pozivani i na kratke prezentacije o projektu, kojima je cilj bio povećati zanimanje za provođenje projekta. Ovakve prezentacije održane su u Račišću i Žrnovu, Komiži i Visu.
3	Radijska emisija	U dogovoru s radio-stanicom u Korčuli provedene su tri kontakt-emisije u kojima je prikazan projekt, a stanovnici su imali priliku postavljati pitanja vezana uz projekt. U drugim mjestima nisu provedene radijske emisije.
4	Poster i plakati	Tijekom provođenja projekta na otocima su kontinuirano, na određena mjesta, postavljani plakati i poster s informacijama kojima je bio cilj održati trajnu informiranost stanovnika o provođenju projekta.
5	Pozivi putem lokalne vjerske zajednice	U drugom dijelu istraživanja na otoku Korčuli su u pozivanje uključeni i članovi dvije lokalne vjerske zajednice koji su među svojim članovima proširili informaciju o provođenju projekta.
6	Osobni kontakti	Tijekom trajanja projekta održavani su i mnogobrojni osobni kontakti s istaknutim članovima zajednice koji su zamoljeni da pomognu prilikom pozivanja ispitanika. Ovaj način bio je glavni mehanizam za uključivanje u Splitu.

Kriteriji uključivanja su: punoljetnost ispitanika, njegova sposobnost samostalnog odlučivanja te da je nakon upoznavanja s ciljevima istraživanja potpisani informirani pristanak. Iz istraživanja su isključeni ispitanici s malignom bolešću zbog hiperprodukcije purina i ispitanici s bubrežnim zastojem zbog nemogućnosti izlučivanja mokraćne kiseline.

Ispitanici iz ove skupine zbog navedenih razloga uvelike se razlikuju od drugih ispitanika s hiperuricemijom (251).

Po svojem ustroju istraživanje je temeljno, opservacijsko, presječno istraživanje s praćenjem podskupine ispitanika, a provedeno je na tri pod-uzorka; odrasla populacija otoka Visa (N=1024), otoka Korčule (N=969) i šireg područja grada Splita (N=535).

Osim presječnog dijela istraživanja, podskupina ispitanika je i praćena kroz vrijeme. Na Visu je praćenje provedeno tijekom 2011. godine, što je osam godina nakon prvotnog istraživanja. Pozivi su poslani svim ispitanicima, a odazvalo ih se ukupno 402 (postotak odziva 39,2%). Uz to, za njih 139 zabilježen je podatak o smrti, tako da je ukupan postotak odziva ili nemogućnosti odziva zbog smrtnog ishoda iznosio 52,7%. Na Korčuli se u ponovno mjerenje odazvalo ukupno 216 ispitanika, što je postotak odziva od 41,1% (od ukupno 525 koji su bili pozvani). U Splitu se od 477 pozvanih na ponovni pregled odazvalo njih 251, što je bio postotak odziva od 52,6%.

### **3.3. Etička odobrenja**

Za provedbu ovog istraživanja financiranje je najvećim dijelom odobrio Medical Research Council, Human Genetics Unit iz Edinburgha, Škotska, Velika Britanija, u okviru njihovog programa istraživanja genetske podloge kroničnih bolesti kod ljudi. Manji dio istraživanja financiralo je i Ministarstvo znanosti, obrazovanja i športa RH. Stoga je bilo potrebno dobiti dva etička odobrenja za provedbu projekta, koja su i ishođena: - Multi-Centre Research Ethics Committee for Scotland i Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.

Odobrenje obaju odbora je uključivalo mogućnost da ispitanici svojevolumno sudjeluju u istraživanju i da mogu iz njega u bilo kojem trenutku svojevolumno izaći, bez potrebe za obrazloženjem svoje odluke, zatim potrebu za primjenom informiranog pristanka prije uključivanja u istraživanje, kao i potrebu za održavanjem potpune anonimnosti za sve ispitanike nakon uključivanja u istraživanje.

### **3.4. Mjerenja**

Upitnik koji je korišten u ovom istraživanju sastojao se od cijelog niz pitanja, normiranih upitnika, kao i upitnika koji su razvijeni za potrebe ovog istraživanja (Dodatak 4).

Upitnik je sadržavao anamnestičke podatke, koji su uključivali pitanja o najčešćim kroničnim bolestima. Ispitanik je mogao odgovoriti je li ima određenu bolest, kad je ona dijagnosticirana i koje lijekove koristi u liječenju te bolesti. Posebno su izdvojene bolesti: povišeni krvni tlak, koronarna bolest srca, moždani udar, shizofrenija, manija/depresija, zloćudni tumor, šećerna bolest, giht, glaukom, upala zglobova, bubrežna bolest, želučani vried i astma ili alergija. Ispitanici su također mogli navesti sve lijekove koje koriste, bez ograničenja prema liječničkoj dijagnozi.

Normiranim upitnicima prikupljeni su podatci o ponašajnim čimbenicima rizika. Upitnici su uključivali Anketni upitnik SZO za anginu pektoris (252) (eng. WHO rose angina questionnaire), Anketni upitnik EU o respiratornom zdravlju (253) (eng. the European Community Respiratory Health Survey). Korišten je anketni upitnik o prehrambenim navikama i upitnik o pokazateljima socioekonomskog statusa, koji su razvijeni za potrebe ovog istraživanja. Korišten je i opći upitnik o zdravlju od 30 pitanja (254) (eng. General Health Questionnaire 30, GHO – 30) koji je jedan od najčešće korištenih upitnika za procjenu blagih nepsihotičnih duševnih poremećaja, te Eysenckov upitnik o osobnosti (255) (eng. Eysenck Personality Questionnaire, EPQ) koji uključuje procjenu neuroticizma,

ekstrovertnosti, psihoticizma i sklonost laganju. Za ispitivanje poremećaja spavanja korišteni su upitnici: upitnik o budnosti (eng. Munich chronotype questionnaire) (256), upitnik o pospanosti (eng. Epworth sleepiness scale) (257) i upitnik o prekidima disanja u snu (Berlin sleep apnoea questionnaire) (258).

Kako bi se osigurao visoki postotak odgovora na sva pitanja i omogućilo objašnjenje značenja pojedinih pitanja kada je to bilo potrebno, ispitanike su prema upitniku intervjuirali posebno educirani istraživači.

Posebna pažnja u ovom istraživanju pridružena je načinu prehrane. Način prehrane za svakog je ispitanika detaljno ispitan posebnim upitnikom koji je sastavljen za potrebe ovog istraživanja. Pitanja o prehrani obuhvaćala su broj dnevnih obroka, način pripremanja hrane, posebne oblike prehrane (dijeta), količinu tekućine koja se unosi u organizam i dodatke prehrani (vitamini i minerali). Upitnikom su prikupljeni i podatci o učestalosti konzumiranja raznih namirnica podijeljenih u skupine: mlijeko i mliječni proizvodi, meso i mesne prerađevine, organi i iznutrice, divljač, perad, ribe i riblje prerađevine, jaja, povrće, voće i voćni proizvodi, žitarice i proizvodi, konditorski proizvodi, industrijski proizvodi, pića i napici.

Konzumacija alkohola zabilježena je kao količina alkohola mjerena u litrama koja se konzumira u tjedan dana. Posebno je bilježena količina piva, vina i žestokog alkohola.

Tjelesna aktivnost mjerena je za vrijeme aktivnog dijela dana (posla koje ispitanik redovito obavlja), kao i u slobodno vrijeme. Ispitanik je mogao odgovoriti je li njegova tjelesna aktivnost uglavnom sjedeća, laka, umjerena ili teška.

Svaki ispitanik u ovom istraživanju mogao se karakterizirati kao pušač, nepušač ili bivši pušač. Za one koji su se karakterizirali kao pušači zabilježen je broj cigareta koje puše dnevno i tijekom koliko godina su pušači, a za bivše pušače broj cigareta koje su pušili dnevno i prije koliko godina su prestali pušiti.

Istraživanje socioekonomskog statusa uključilo je razinu obrazovanja (mjerenu brojem završenih razreda škole), zanimanje, radni status, subjektivnu procjenu materijalnog stanja ispitanika u odnosu na druge stanovnike te imovinski status (posjeduje li osoba/obitelj: vodovod, dva TV-a, WC s ispiranjem, stroj za pranje suđa, kupaonicu, kompjuter, centralno ili plinsko grijanje, biblioteku (više od 100 knjiga), drvene podove, umjetničke slike/predmete), telefon, automobil, videorekorder, vikendicu/drugi stan, škrinju za zamrzavanje, brod).

Za svakog ispitanika prikupljeni su genealoški podatci. Podatci o rodbinskim vezama uključivali su ime i (djevojačko) prezime majke i oca, kao i baka i djedova. Za sve osobe u rodoslovnom stablu zabilježen je datum i mjesto rođenja. Prema mjestu rođenja baka i djedova, podrijetlo ispitanika podijeljeno je na nekoliko skupina. Za ispitanike čije su bake i djedovi rođeni na Visu ili Korčuli pripisalo im se podrijetlo iz Visa ili Korčule. Za ispitanike kojima je barem jedan predak bio podrijetlom s otoka, a ostali predci iz ostatka Hrvatske ili drugih država, definirano je mješovito podrijetlo. Temeljem ovih podataka i njihove provjere na temelju genetičkih biljega, izrađena je matrica rodbinskih veza koju smo koristili za izračunavanje heritabilnosti.

Mjerenje serumske koncentracije mokraćne kiseline provedeno je u certificiranom laboratoriju „Salzer“, Bukovčev trg 3, 10000 Zagreb, korištenjem urikaze i ultraljubičastog zračenja. Serum za analizu dobiven je iz uzorka periferne krvi, koji je ispitanicima uziman ujutro, dok su bili na prazan želudac. Nakon centrifugiranja i odvajanja sastavnica krvi, serum je odmah zamrzavan na  $-70^{\circ}\text{C}$ , dok je supernatant s leukocitima korišten za izdvajanje DNK-a. Nakon izdvajanja pomoću Nucleon kitova, DNK je poslan u tvrtku Illumina, koja je provela genotipizaciju. Genotipizacija je provedena korištenjem genetskih panela (Illumina HumanHap 300 s 317,053 biljega za Vis i Illumina HumanCNV 370 s 346,026 biljega za Korčulu i Split). U analizi su korišteni oni biljezi koji su u prethodnim istraživanjima bili



povezani sa serumskom koncentracijom mokraćne kiseline, koji spadaju u gene SLC2A9, SLC22A12, SLC16A9, GCKR, SLC22A11, ABCG2, PDZK1, SLC17A3 i LRRC16A.

### **3.5. Određivanje gihta**

Kriteriji uključivanja bili su da je ispitanik punoljetan, sposoban sam za sebe odlučivati te da je nakon upoznavanja s ciljevima istraživanja potpisao informirani pristanak (Dodatak 3). Iz istraživanja su isključeni ispitanici s malignom bolešću zbog hiperprodukcije purina i ispitanici s bubrežnim zastojem zbog nemogućnosti izlučivanja mokraćne kiseline. Ispitanici iz ove skupine zbog navedenih razloga uvelike se razlikuju od drugih ispitanika s hiperuricemijom (251).

Osim provedbe najvećeg dijela analize među ispitanicima koji su otprije uključeni u ovo istraživanje, dio disertacije zasnivan je na prikupljanju podatka o pojavi gihta među osobama koje su u prvom dijelu istraživanja imale povišenu serumsku koncentraciju mokraćne kiseline, ali bez znakova gihta. Ispitanici kojima je tijekom inicijalnog pregleda ustanovljena povišena koncentracija serumske mokraćne kiseline bili su ponovno pozivani na pregled, i tom prilikom im je postavljena dijagnoza gihta.

### **3.6. Statistička analiza**

U statističkoj analizi korištene su parametrijske metode (prosjek, t-test) u slučaju normalne raspodjele podataka, ili odgovarajuće neparametrijske metode u slučaju odstupanja od takve raspodjele (medijan, interkvartilni raspon, Mann-Whitneyev test). Raspodjela je bila analizirana Kolmogovor-Smirnovljevim testom. Kategorijske varijable su analizirane hi-kvadrat testom. Odrednice pojave gihta i izolirane povišene koncentracije mokraćne kiseline su analizirane i korištenjem logističke regresije, s ciljem procjene snage povezanosti pojedinih

prediktorskih varijabli i ishoda – prisutnosti gihta ili povišene koncentracije mokraćne kiseline. Također, korištena je i procjena snage povezanosti gihta s genetskim biljezima, kojom je ustanovljen postotak varijance koju objašnjava pojedini biljeg. U analizi je korišten i brojčani podatak o ukupnosti gena povezanih s razinom mokraćne kiseline u serumu (engl. *genetic score*), koji je bio izračunat korištenjem programa PLINK. Također je u analizi podataka korištena i cjelogenomska analiza (engl. *genome-wide association study*), u kojoj su analizirani ispitanici s gihtom i oni bez gihta, kako bi se pokušali ustanoviti geni koji pridonose pojavi gihta. Sve analize su provedene korištenjem statističkog programa R, s razinom statističke značajnosti postavljenom na  $P < 0,05$  (uz iznimku cjelogenomske studije, u kojoj je razina značajnosti bilja postavljena na  $P < 10^{-8}$ ).

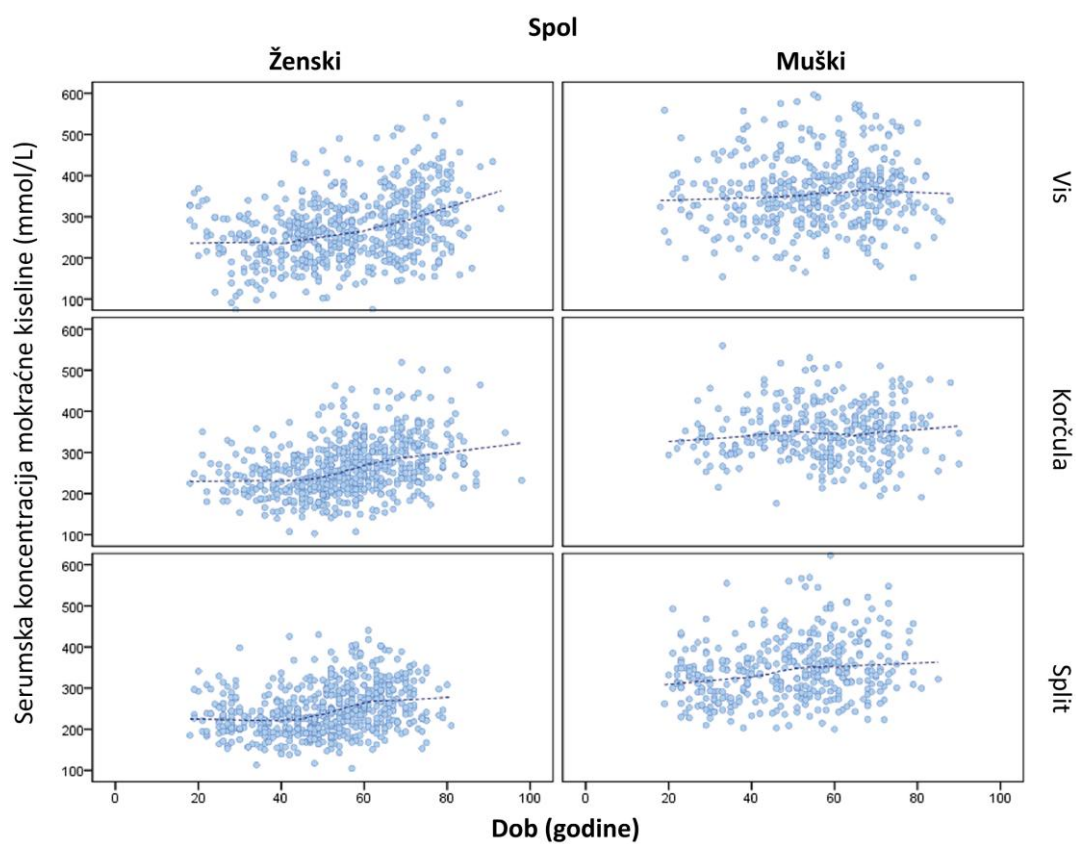
## 4. REZULTATI

Ovim istraživanjem obuhvaćeno je ukupno 3.006 ispitanika, u tri pod-uzorka; Vis, Korčula i Split (Tablica 4.1). Osnovna usporedba ova tri pod-uzorka ukazala je na postojanje opsežnih razlika u svim analiziranim varijablama, od dobi i spola, preko socioekonomskog stanja, do pokazatelja vezanih uz metabolizam mokraćne kiseline i giht (Tablica 4.1). Zbog izraženih razlika, već u ovom koraku analize korištene su metode za uklanjanje učinka zbunjivanja (*engl. confounding*) te je korištena izravna standardizacija na temelju opće Europske populacije. Rezultati su upućivali na gotovo dvostruko veću dobno-standardiziranu prevalenciju hiperuricemije kao i veću dobno-standardiziranu prevalenciju gihta na otoku Visu (Tablica 4.1).

Tablica 4.1. Usporedba ispitanika iz tri analizirana pod-uzorka

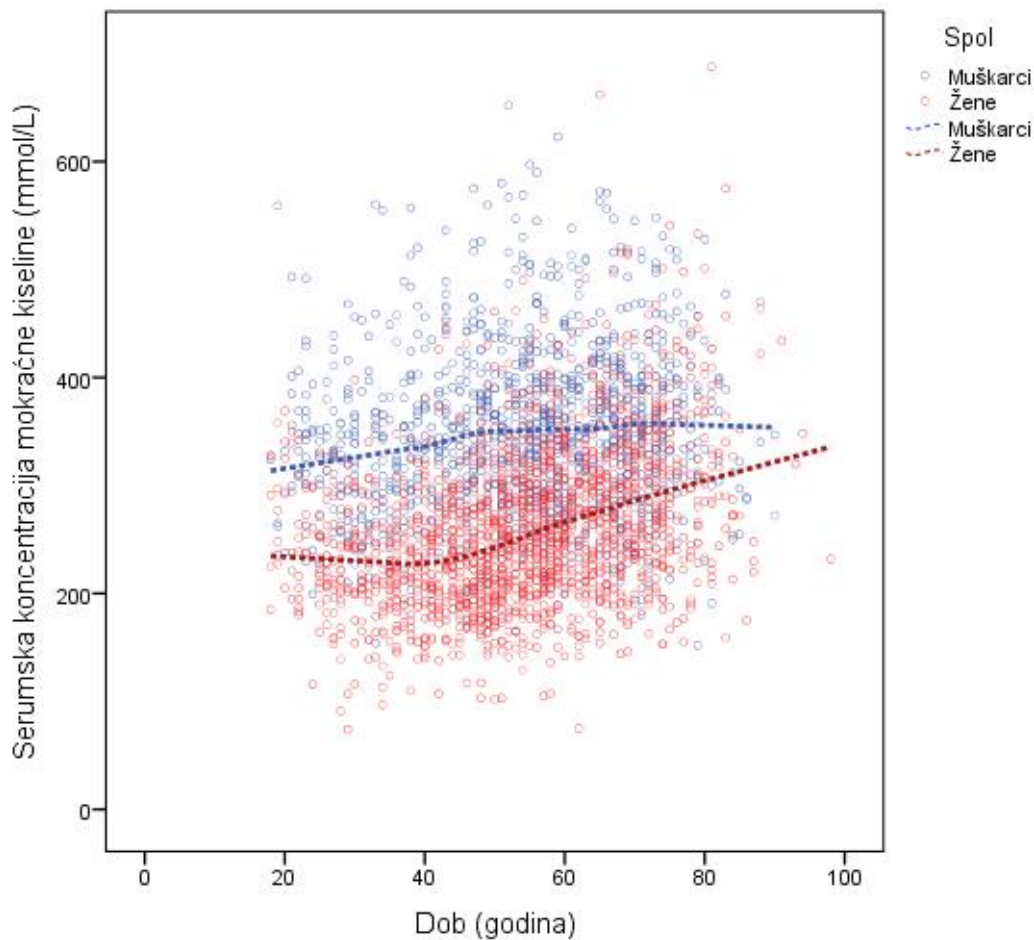
Varijabla	Vis (n=1.025)	Korcula (n=969)	Split (n=1.012)	P
Dob; prosjek±SD	56,10±15,62	56,26±14,15	50,28±14,42	<0,001
Spol; n (%)				
Muškarci	426 (41,6)	345 (35,6)	395 (39,0)	0,024
Žene	599 (58,4)	624 (64,4)	617 (61,0)	
Materijalni status (indeks)	9,45±2,75	10,47±2,79	11,29±2,45	<0,001
Razina obrazovanja (broj završenih razreda škole)	9,98±3,60	10,86±3,35	13,14±3,02	<0,001
Indeks tjelesne mase (kg/m <sup>2</sup> )	27,25±4,07	27,85±3,91	26,73±4,00	<0,001
Serumska razina mokraćne kiseline (SMK; mmol/L)	309,65±94,62	292,86±76,90	285,65±79,94	<0,001
Hiperuricemija bez znakova gihta (SMK>403 mmol/L); n (%)	143 (14,0)	84 (8,8)	79 (8,3)	<0,001
Stand. prevalencija [95% RP]	9,9 [7,2-12,1]	5,6 [3,4-6,9]	6,1 [4,1-8,0]	-
Giht; n (%)	65 (6,4)	46 (4,7)	32 (3,2)	0,003
Stand. prevalencija [95% RP]	3,3 [1,1-5,3]	2,2 [0,6-3,3]	1,7 [0,3-2,7]	-

Analiza koncentracije mokraćne kiseline ukazala je na različit spolno-vezani obrazac (Slika 4.1). U sva tri pod-uzorka ustanovljen je sličan obrazac koncentracije mokraćne kiseline ovisno o dobi; kod muškaraca je zabilježen postepeni i kontinuirani porast promjena početnih vrijednosti ostvarenih u mlađim dobnim skupinama, dok je kod žena zabilježena izraženija promjena i povećanje koncentracije mokraćne kiseline u dobi od 40-60 godina (Slika 4.1).



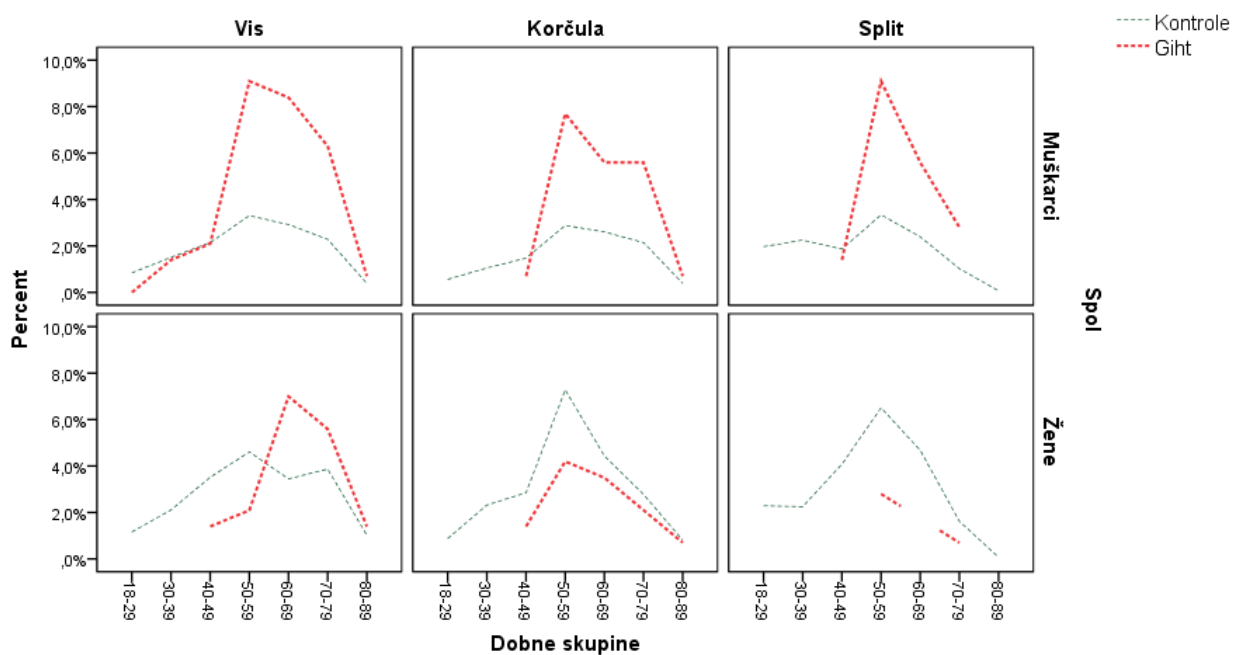
Slika 4.1. Graf rasapa serumske koncentracije mokraćne kiseline i dobi, prema spolu i pod-uzorku. Linija na svakom prikazu označava lokalno otežanu regresijsku liniju (engl. *locally weighted scatterplot smoothing*)

Koncentracija mokraćne kiseline u ranoj odrasloj dobi bila je mnogo veća kod muškaraca, a najsnažnije je bila izražena u dobi od oko 40 godina (prosječna razlika između muškaraca i žena iznosila je oko 120 mmol/L; Slika 4.2). Smanjenje ove razlike počinje u dobi od oko 45 godina i nastavlja se sve do najstarijih dobnih skupina, u kojima se gotovo događa i izjednačavanje koncentracija mokraćne kiseline među muškarcima i ženama (Slika 4.2).



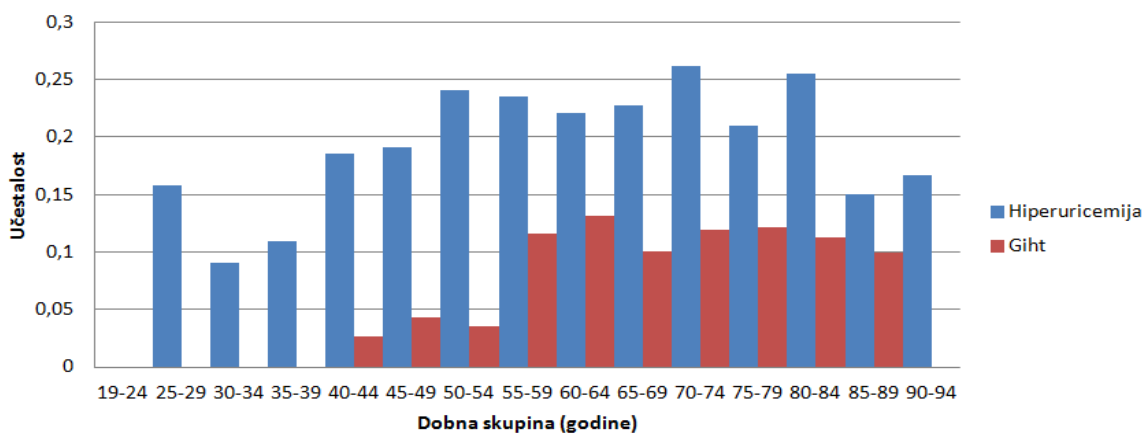
Slika 4.2. Graf rasapa serumske koncentracije mokraćne kiseline i dobi, prema spolu, za sva tri poduzorka zajedno. Linija označava lokalno otežanu regresijsku liniju (engl. *locally weighted scatterplot smoothing*) za muškarce (plavo) i žene (crveno).

Analiza učestalosti gihta prema pod-uzorku i spolu ukazala je na nešto drugačiji obrazac; najviše gihta među muškarcima zabilježeno je u dobnoj skupini 50-59 godina u sva tri pod-uzorka, dok je kod žena obrazac bio različit u svakom pod-uzorku (Slika 4.3). Najviše gihta među ženama zabilježeno je u Visu, s čak do 7% učestalosti u dobnoj skupini 60-69 godina, dok je u preostala dva pod-uzorka učestalost bila izraženo niža, a u Splitu čak i toliko niska da u nekim dobnim skupinama nije zabilježen niti jedan slučaj (Slika 4.3).

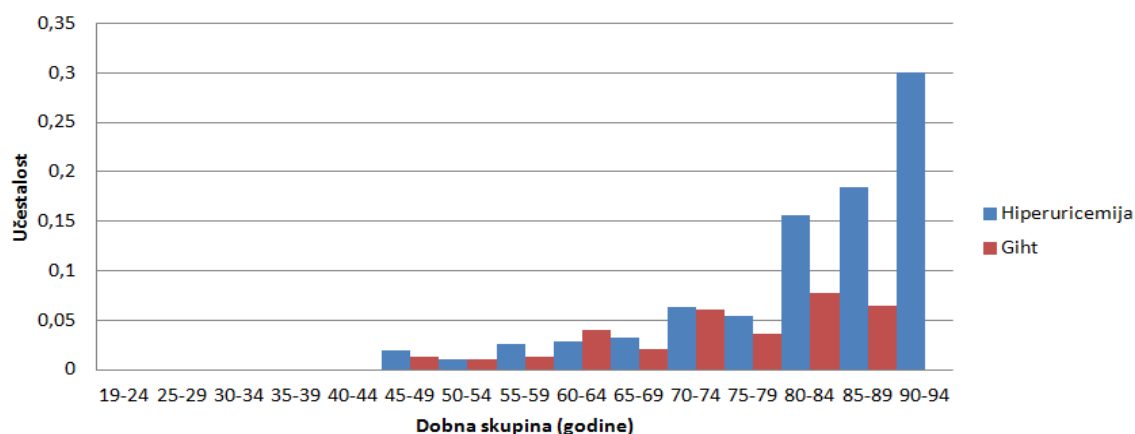


Slika 4.3. Učestalost gihta prema spolu i pod-uzorku. Crvena iscrtna linija označava ispitanike s gihtom, dok crna označava kontrole. Linija je iscrtna jer se radi o presječnim, a ne longitudinalnim podacima.

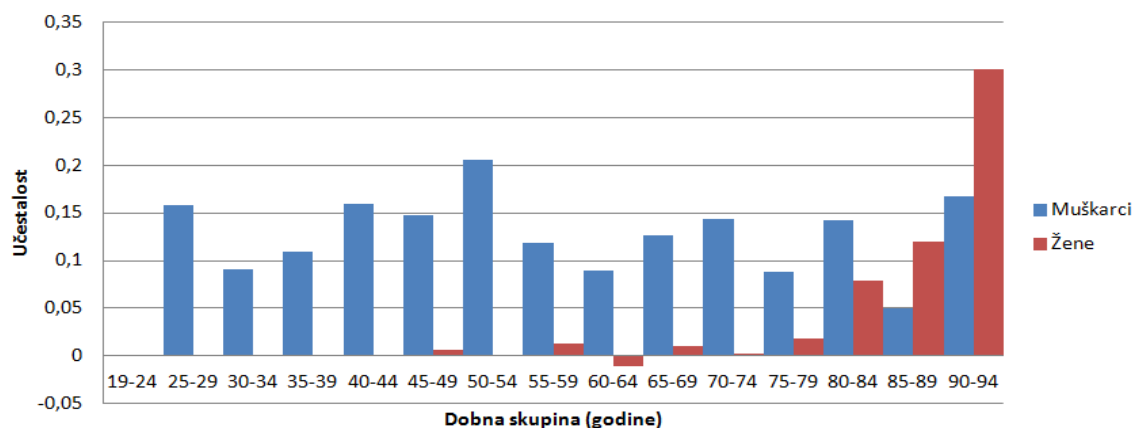
Usporedba učestalosti hiperuricemije i gihta na cijelom uzorku ukazala je na vrlo izražene razlike prema spolu. Kod muškaraca je učestalost izolirane hiperuricemije bila između 15 i 25% i nije pokazivala velike promjene prema dobi (Slika 4.4). Istovremeno, giht se pojavljivao u kasnijim dobnim skupinama, a obrazac njegovog pojavljivanja imao je gotovo Gaussov oblik krivulje, s malom učestalošću u nižim dobnim skupinama (40-55 godina), najveću učestalost u starijim skupinama i trend smanjivanja učestalosti u najstarijim dobnim skupinama (Slika 4.4). Kod žena je obrazac bio potpuno drugačiji, obilježen gotovo eksponencijalnim rastom učestalosti i hiperuricemije i gihta s porastom dobi (Slika 4.5). Razlika učestalosti hiperuricemije i gihta kod muškaraca i žena također je imala potpuno drugačiji obrazac, obilježen gotovo stabilnim odnosom ova dva stanja kod muškaraca i eksponencijalnim povećanjem razlike kod najstarijih dobnih skupina kod žena (Slika 4.6).



Slika 4.4. Učestalost hiperuricemije i gihta prema dobnim skupinama kod muškaraca



Slika 4.5. Učestalost hiperuricemije i gihta prema dobnim skupinama kod žena



Slika 4.6. Razlika učestalost hiperuricemije i gihta prema dobnim skupinama kod muškaraca i žena

Detaljnija analiza ukazala je na veliku razliku učestalosti i hiperuricemije i gihta kod žena prije menopauze i onih u menopauzi ( $\chi^2=19,17$ ;  $P<0,001$ ), ukazujući na razlike metabolizma mokraćne kiseline u pre- i post-menopauzi. Ovaj rezultat bio je različit među poduzorcima, s najsnažnije izraženom razlikom na Visu ( $\chi^2=11,12$ ;  $P<0,001$ ), slabije izraženim na Korčuli ( $\chi^2=6,29$ ;  $P=0,006$ ), dok je u Splitu ta razlika bila statistički neznčajna ( $\chi^2=9,76$ ;  $P=0,669$ ).

Analiza dijela uzorka koji je bio praćen kroz vrijeme ukazala je na relativno velik postotak pojave gihta kod ispitanika s povišenom razinom serumske mokraćne kiseline. U



razdoblju praćenja sudjelovalo je ukupno 869 ispitanika, s ukupno 5,300 osoba-godina. Pri tome je među ispitanicima s otoka Visa zabilježeno ukupno 33 nova slučaja gihta, u Korčuli 11, a u Splitu 12 novih slučajeva gihta (Tablica 4.2). Relativni rizik za cijelo razdoblje praćenja kretao se od 4,96 do 11,14 (Tablica 4.2), dok je izračun otežanog relativnog rizika (za omogućavanje izravne usporedbe sva tri pod-uzorka) iznosio 6,92 [5,75-8,34].

Tablica 4.2. Prikaz rezultata nakon provedenog razdoblja praćenja

Varijabla	Vis (n=402)	Korčula (n=216)	Split (n=251)
Trajanje razdoblja praćenja	8 godina	5 godina	4 godine
Incidentni giht među ispitanicima s hiperuricemijom; n (%)	15 / 46 (32,6)	6 / 21 (28,6)	4 / 23 (17,4)
Incidentni giht među ispitanicima bez hiperuricemije; n (%)	18 / 356 (5,06)	5 / 195 (2,56)	8 / 228 (3,51)
Prosječna godišnja incidencija gihta među ispitanicima s hiperuricemijom; %	4,08	5,71	4,35
Prosječna godišnja incidencija gihta među ispitanicima bez hiperuricemije; %	0,63	0,51	0,88
Relativni rizik hiperuricemije za nastanak gihta (cijelo razdoblje praćenja)	6,45 [3,50-11,90]	11,14 [3,72-33,41]	4,96 [1,62-15,21]

Analiza genetskih biljega u pod-uzorcima ukazala je na postojanje statistički značajne razlike u učestalosti pojedinih genotipova, posebice izraženoj za gen SLC2A9 (Tablica 4.3). Ovaj gen imao je najveću učestalost rijetkih recesivnih genotipova u populaciji otoka Visa (genotip CC za rs1312697 bio je dvostruko češći nego u Splitu i Korčuli, kao i genotip AA za rs13131257 te GG za rs737267; Tablica 4.3). Rezultati su govorili u prilog selektivnoj razlici genotipskih frekvencija, koja je najizraženija bila upravo u populaciji otoka Visa.

Tablica 4.3. Učestalost genotipova u tri pod-uzorka

SNP	Genotip	Vis	Korčula	Split	P
rs1797052 (PDZK1)	AA	5 (0,5)	3 (0,3)	0 (0)	0,142
	AG	89 (9,1)	104 (11,1)	63 (12,4)	
	GG	885 (90,4)	834 (94,1)	444 (87,6)	
rs1298954 (PDZK1)	AA	141 (14,4)	140 (14,9)	59 (11,6)	0,393
	AG	439 (44,9)	440 (46,8)	241 (47,5)	
	GG	398 (40,7)	361 (38,4)	207 (40,8)	
rs780094 (GCKR)	AA	204 (21,0)	169 (18,0)	105 (20,7)	0,153
	AG	479 (49,3)	464 (49,4)	265 (52,3)	
	GG	288 (29,7)	306 (32,6)	137 (27,0)	
rs1312697 (SLC2A9)	AA	394 (40,6)	537 (57,2)	262 (51,7)	<0,001
	AC	436 (44,9)	330 (35,2)	213 (42,0)	
	CC	141 (14,5)	71 (7,6)	32 (6,3)	
rs2227833 (SLC2A9)	AA	192 (19,9)	283 (30,4)	113 (22,3)	<0,001
	AG	456 (47,2)	447 (48,1)	278 (54,8)	
	GG	318 (32,9)	200 (21,5)	116 (22,9)	
rs13131257 (SLC2A9)	AA	74 (7,6)	38 (4,1)	19 (3,7)	<0,001
	AG	381 (38,9)	246 (26,2)	187 (36,9)	
	GG	525 (53,6)	654 (69,7)	301 (59,4)	
rs6449213 (SLC2A9)	AA	558 (57,5)	668 (71,3)	323 (63,7)	<0,001
	AG	345 (35,6)	233 (24,9)	171 (33,7)	
	GG	67 (6,9)	36 (3,8)	13 (2,6)	

Tablica 4.3. Učestalost genotipova u tri pod-uzorka, nastavak

SNP	Genotip	Vis	Korčula	Split	P
rs1014290 (SLC2A9)	AA	464 (47,3)	605 (64,3)	289 (57,0)	<0,001
	AC	412 (42,0)	286 (30,4)	198 (39,1)	
	CC	104 (10,6)	50 (5,3)	20 (3,9)	
rs737267 (SLC2A9)	AA	504 (51,7)	659 (70,3)	334 (65,9)	<0,001
	AG	385 (39,5)	250 (26,7)	163 (32,1)	
	GG	86 (8,8)	29 (3,1)	10 (2,0)	
rs2231122 (ABCG2)	AA	5 (0,5)	6 (0,6)	7 (1,4)	0,056
	AC	128 (13,1)	161 (17,1)	82 (16,2)	
	CC	845 (86,4)	772 (82,8)	417 (82,4)	
rs9358853 (LRRC16A)	AA	17 (1,7)	22 (2,4)	11 (2,2)	0,001
	AG	229 (23,4)	295 (31,7)	152 (30,0)	
	GG	733 (74,9)	615 (66,0)	344 (67,9)	
rs9393372 (SLC17A1)	AA	161 (16,5)	235 (25,1)	126 (24,9)	<0,001
	AC	503 (51,5)	474 (50,6)	254 (50,1)	
	CC	312 (32,0)	228 (24,3)	127 (25,0)	
rs922379 (SLC17A1)	AA	132 (14,0)	217 (23,2)	126 (24,9)	<0,001
	AG	481 (51,0)	471 (50,4)	250 (49,3)	
	GG	330 (35,0)	246 (26,3)	131 (25,8)	
rs2222203 (SLC16A9)	AA	73 (7,5)	65 (6,9)	33 (6,5)	0,966
	AC	350 (35,9)	343 (36,5)	184 (36,3)	
	CC	552 (56,6)	531 (56,5)	290 (57,2)	
rs2078237 (SLC22A12)	AA	200 (20,5)	208 (22,5)	115 (22,7)	0,233
	AG	484 (49,6)	434 (47,0)	262 (51,7)	
	GG	292 (29,9)	281 (30,4)	130 (25,6)	
rs505802 (SLC22A12)	AA	444 (45,4)	459 (49,7)	221 (44,9)	0,129
	AG	433 (44,2)	379 (41,1)	231 (47,0)	
	GG	102 (10,4)	85 (9,2)	40 (8,1)	

Sljedeći korak analize bio je usmjeren prepoznavanju i predviđanju hiperuricemije i gihta, korištenjem genetskih biljega. U prvom modelu je korištena hiperuricemija kao prediktor, pri čemu je kao prediktor uvršten i kohortni učinak, tj. pripadnost pod-uzorku (Tablica 4.4). Rezultati su potvrdili povezanost nekoliko biljega s pojavom hiperuricemije, i to posebno biljega iz gena SLC2A9 i GCKR (Tablica 4.4). Provedba istog oblika analize s gihtom kao prediktorskom varijablom ukazala je na nepostojanje statistički značajnih rezultata niti za jedan od analiziranih biljega (Tablica 4.5).

Tablica 4.4. Povezanost analiziranih biljega s pojavom hiperuricemije, logistička regresija

	B	SE	Wald	s.s.	P	OR	95% CI	
Pod-uzorak								
Vis			14,45	2	0,001			
Korčula	-0,59	0,16	13,74	1	<0,001	0,56	0,41	0,76
Split	-0,38	0,18	4,47	1	0,034	0,68	0,48	0,97
Genetski biljezi								
rs1797052	-0,03	0,05	0,43	1	0,514	0,97	0,87	1,07
rs1298954	-0,02	0,03	0,46	1	0,497	0,98	0,92	1,04
rs780094	-0,07	0,03	4,49	1	0,034	1,16	1,33	1,01
rs1312697	-0,10	0,12	0,69	1	0,407	0,91	0,73	1,14
rs2227833	0,10	0,04	8,80	1	0,003	1,11	1,04	1,19
rs13131257	0,02	0,06	0,09	1	0,764	1,02	0,91	1,14
rs6449213	0,03	0,12	0,05	1	0,821	1,03	0,81	1,31
rs1014290	-0,17	0,14	1,51	1	0,219	0,85	0,65	1,11
rs737267	0,04	0,10	0,15	1	0,701	1,04	0,86	1,25
rs2231122	-0,01	0,06	0,01	1	0,936	1,00	0,89	1,12
rs9358853	-0,02	0,04	0,48	1	0,488	0,98	0,91	1,05
rs9393372	-0,11	0,14	0,69	1	0,407	0,89	0,69	1,17
rs922379	0,12	0,09	1,58	1	0,209	1,13	0,94	1,35
rs2222203	-0,05	0,04	1,30	1	0,254	0,95	0,88	1,04
rs2078237	0,00	0,03	0,01	1	0,912	1,00	0,94	1,07
rs505802	0,06	0,04	2,76	1	0,097	1,06	0,99	1,14

Tablica 4.5. Povezanost analiziranih biljega s pojavom gihta, logistička regresija

	B	SE	Wald	s.s.	P	OR	95% CI	
Pod-uzorak								
Vis			14,47	2	0,001			
Korčula	-1,25	0,33	14,46	1	0	0,29	0,15	0,55
Split	-0,36	0,30	1,40	1	0,238	0,70	0,39	1,27
Genetski biljezi								
rs1797052	-0,04	0,10	0,15	1	0,699	0,96	0,80	1,16
rs1298954	-0,05	0,06	0,68	1	0,409	0,96	0,86	1,07
rs780094	-0,05	0,06	0,64	1	0,424	0,96	0,86	1,07
rs1312697	0,06	0,20	0,08	1	0,779	1,06	0,72	1,55
rs2227833	0,09	0,06	2,15	1	0,143	1,10	0,97	1,24
rs13131257	0,10	0,11	0,72	1	0,395	1,10	0,88	1,37
rs6449213	-0,02	0,23	0,01	1	0,926	0,98	0,63	1,53
rs1014290	-0,14	0,24	0,32	1	0,574	0,87	0,54	1,41
rs737267	-0,01	0,18	0,00	1	0,952	0,99	0,70	1,41
rs2231122	0,04	0,12	0,14	1	0,706	1,05	0,83	1,31
rs9358853	-0,09	0,06	2,32	1	0,128	0,91	0,81	1,03
rs9393372	-0,06	0,26	0,06	1	0,808	0,94	0,56	1,56
rs922379	0,04	0,18	0,05	1	0,824	1,04	0,73	1,49
rs2222203	0,07	0,08	0,87	1	0,351	1,08	0,92	1,26
rs2078237	0,00	0,06	0,00	1	0,969	1,00	0,89	1,12
rs505802	0,00	0,07	0,00	1	0,97	1,00	0,87	1,15

Korištenje genomskog zbroja (engl. *genomic score*) pokazalo je kako je on bio bolji u predviđanju pojave gihta i hiperuricemije nego pojedinačni biljezi u općenitom linearnom modeliranju (Tablica 4.6). Ukupni postotak varijance u najsloženijem modelu iznosio je 30,9%, a svi modeli za žene su imali veći postotak objašnjene varijance nego za muškarce (Tablica 4.6).

Tablica 4.6. Postotak objašnjene varijance u općenitom linearnom modeliranju, u četiri modela koji su se razlikovali po setu prediktorskih varijabli, razina mokraćne kiseline

	Model 1 (dob, spol i pod- uzorak)	Model 2 (genomski zbroj)	Model 3 (pojedini biljezi)	Model 4 (dob, spol, prehrana, navike, pod-uzorak i genomski zbroj)
Vis				
Žene	7,7	3,9	0,0-2,0	11,2
Muškarci	0,2	0,1	0,0-0,1	0,2
Ukupno	17,4	1,5	0,0-1,7	18,9
Korčula				
Žene	10,5	4,9	0,0-1,7	16,9
Muškarci	0,2	2,5	0,0-1,1	2,3
Ukupno	25,3	2,6	0,0-1,6	30,8
Split				
Žene	3,4	4,5	0,0-1,8	7,9
Muškarci	0,3	0,8	0,0-0,6	0,5
Ukupno	19,2	2,4	0,0-1,4	21,4
Zbrojeni uzorci				
Žene	8,1	3,9	0,0-1,6	17,5
Muškarci	0,1	0,7	0,0-1,0	1,1
Ukupno	20,1	1,8	0,0-1,7	30,9

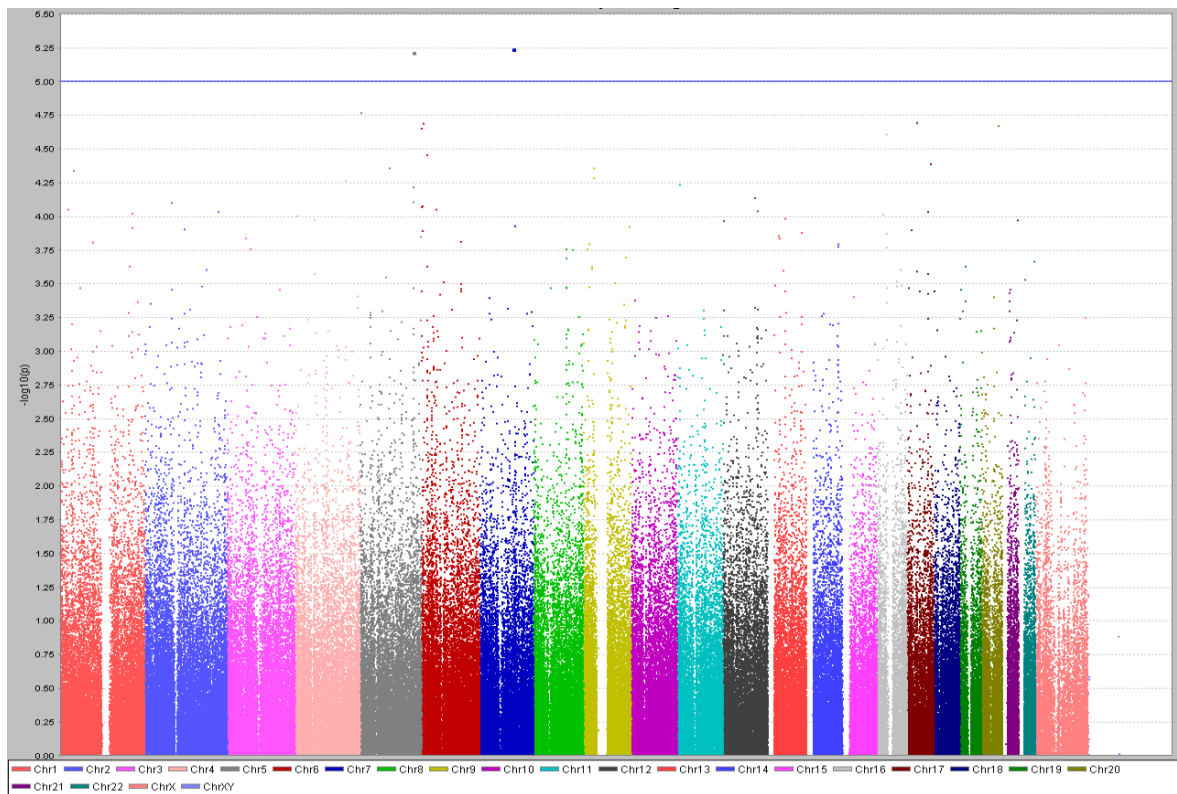
Korištenje genomskog zbroja i podatka o hiperuricemiji kao prediktora incidentnog gihta pokazalo je da je dio varijance pojave gihta uistinu pripisiv genetici u modelu logističke regresije (Tablica 4.7). Vrlo široki rasponi pouzdanosti ukazivali su na heterogenost ove varijable, uz istovremeno dosta visok omjer izgleda od 2,99. Ovakav rezultat govori u prilog uvjetovanoj povezanosti, u kojoj postoje heterogene pod-skupine nejednake snage povezanosti. Unatoč tome, najsnažnija razina povezanosti zabilježena je za dijagnostički podatak o hiperuricemiji (Tablica 4.7).

Tablica 4.7. Prediktori pojave gihta u cijelom uzorku (model 1) i pojave incidentnog gihta (model 2)

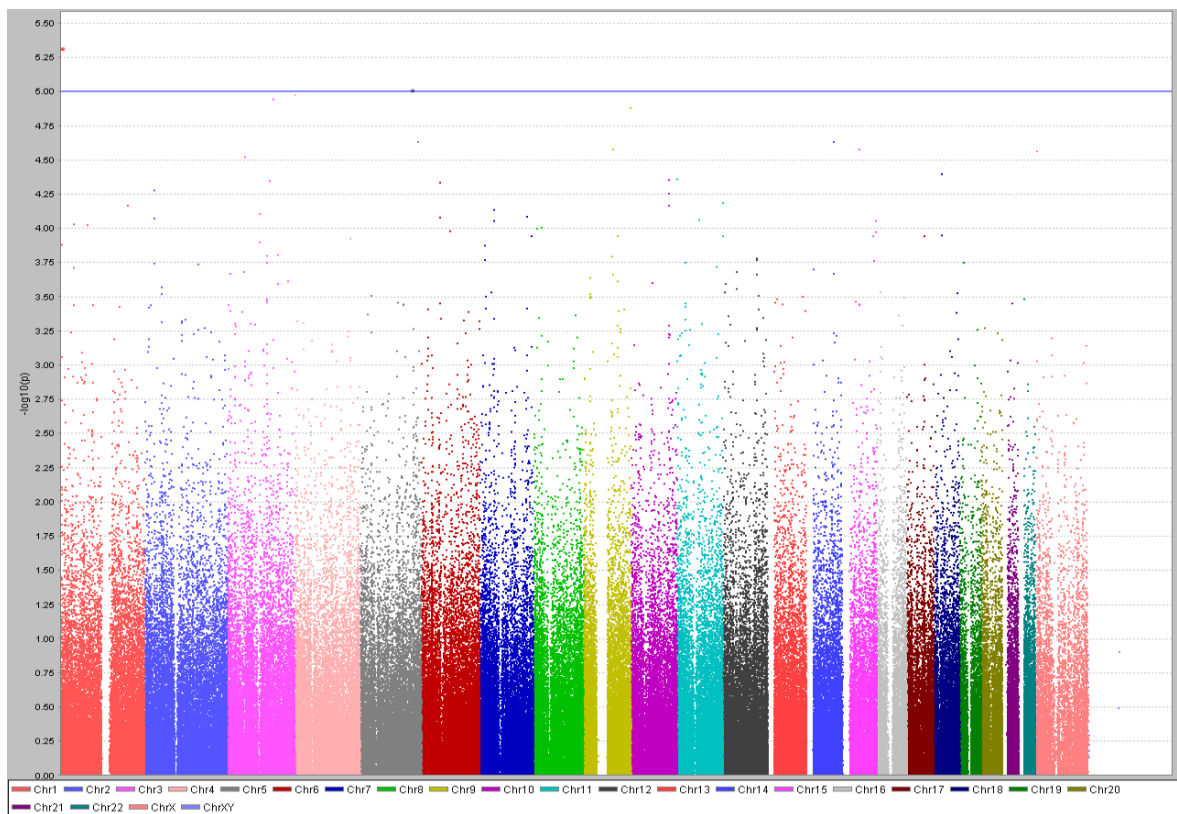
Prediktor	Model 1 (cijeli uzorak)	Model 2 (incidentni giht)
Dob	1,03 [1,01-1,05]	1,08 [1,04-1,12]
Spol	0,79 [0,37-1,69]	0,72 [0,15-3,51]
Genomski zbroj	0,82 [0,10-7,08]	2,99 [0,05-192,53]
Hipeuricemija	2,13 [1,71-3,06]	3,96 [1,77-5,28]
Indeks tjelesne mase	1,02 [0,99-1,04]	0,99 [0,94-1,03]
Prehrana bogata purinima	1,12 [0,87-1,95]	2,05 [1,78-3,05]

Cjelogenomska analiza provedena na pojedinim pod-uzorcima nije pokazala statistički značajne rezultate, već je u sve tri populacije bilo samo nekoliko sugestivnih rezultata koji nisu dostizali statističku značajnost (Slika 4.7-12). Tek je korištenje meta-analize potvrdilo jedan statistički značajan rezultat (SLC2A9) za razinu mokraćne kiseline, dok za giht niti meta-analiza nije dala statistički značajan rezultat (Slika 4.13, 4.14).

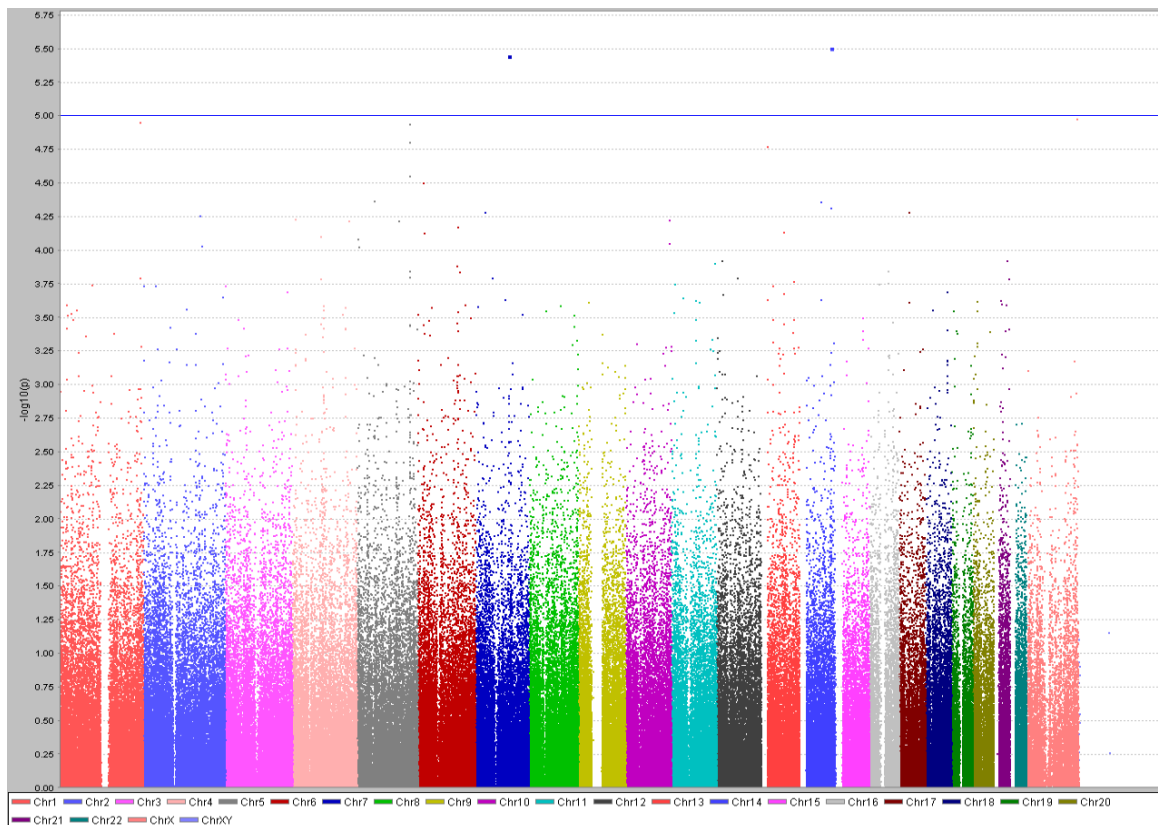




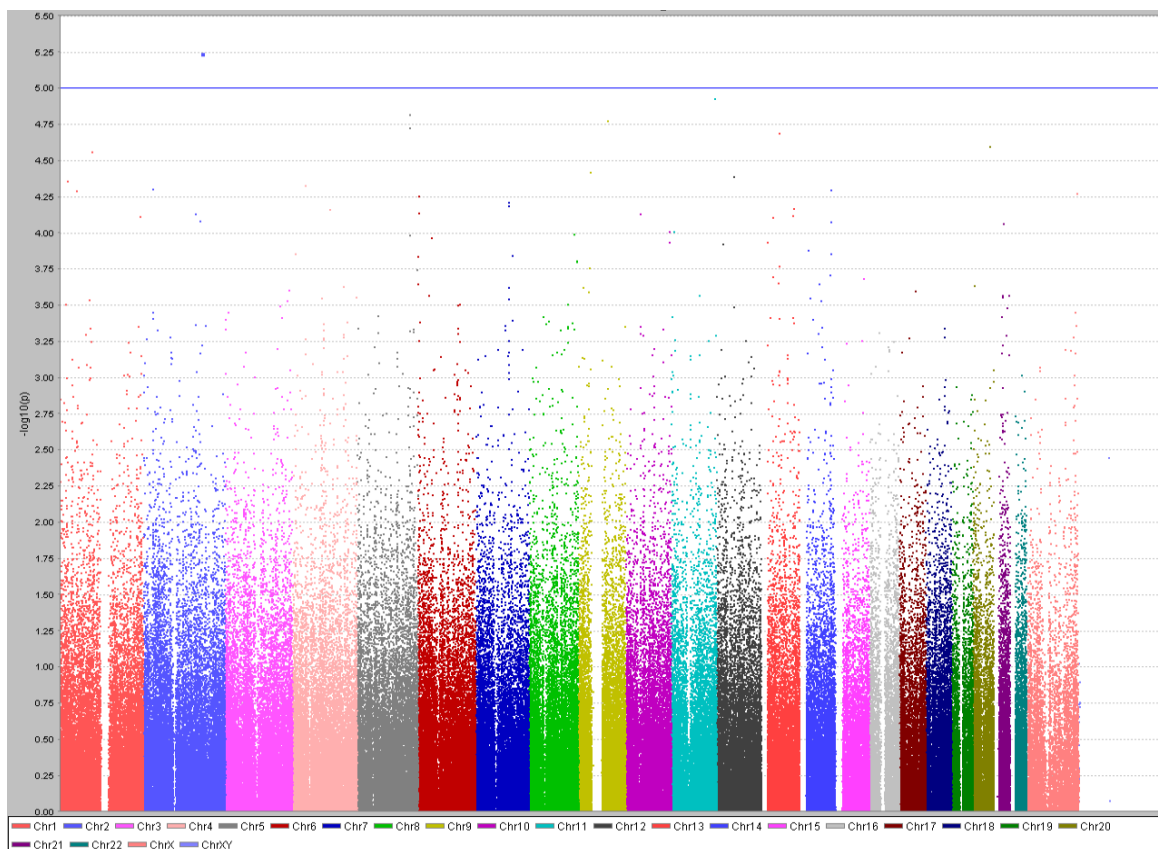
Slika 4.7. Cjelogenomska asocijacijska analiza razine mokraćne kiseline na Visu



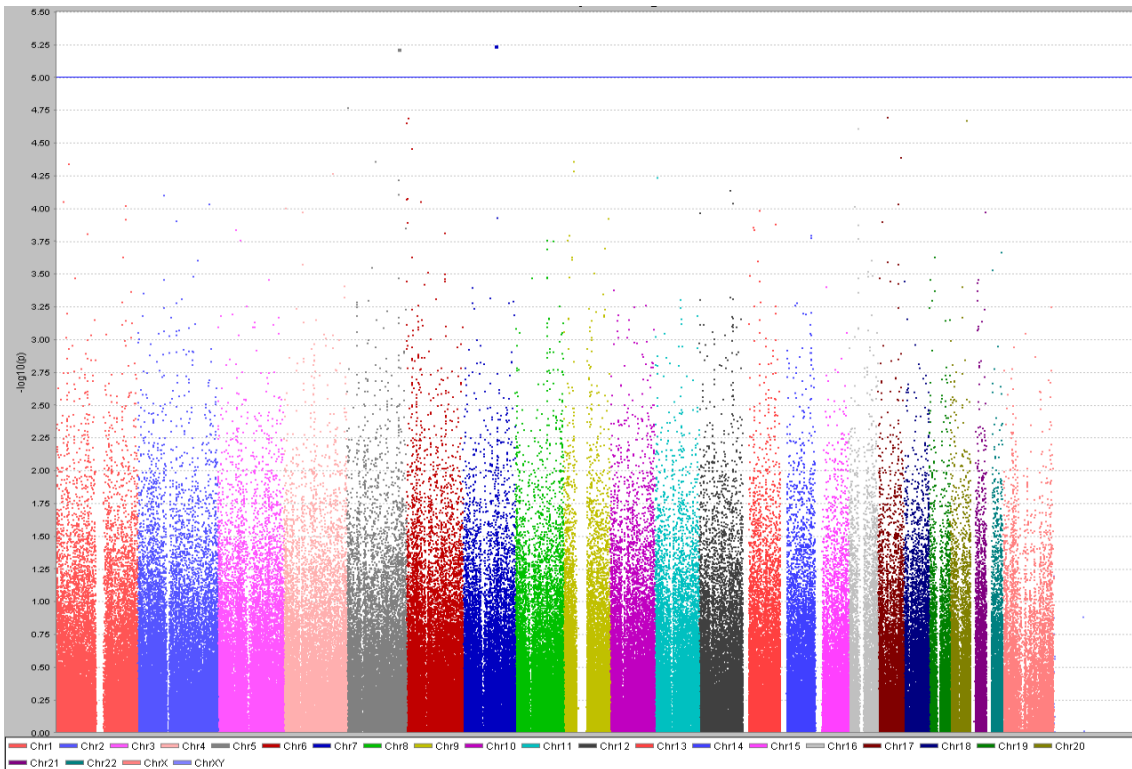
Slika 4.8. Cjelogenomska asocijacijska analiza razine mokraćne kiseline na Korčuli



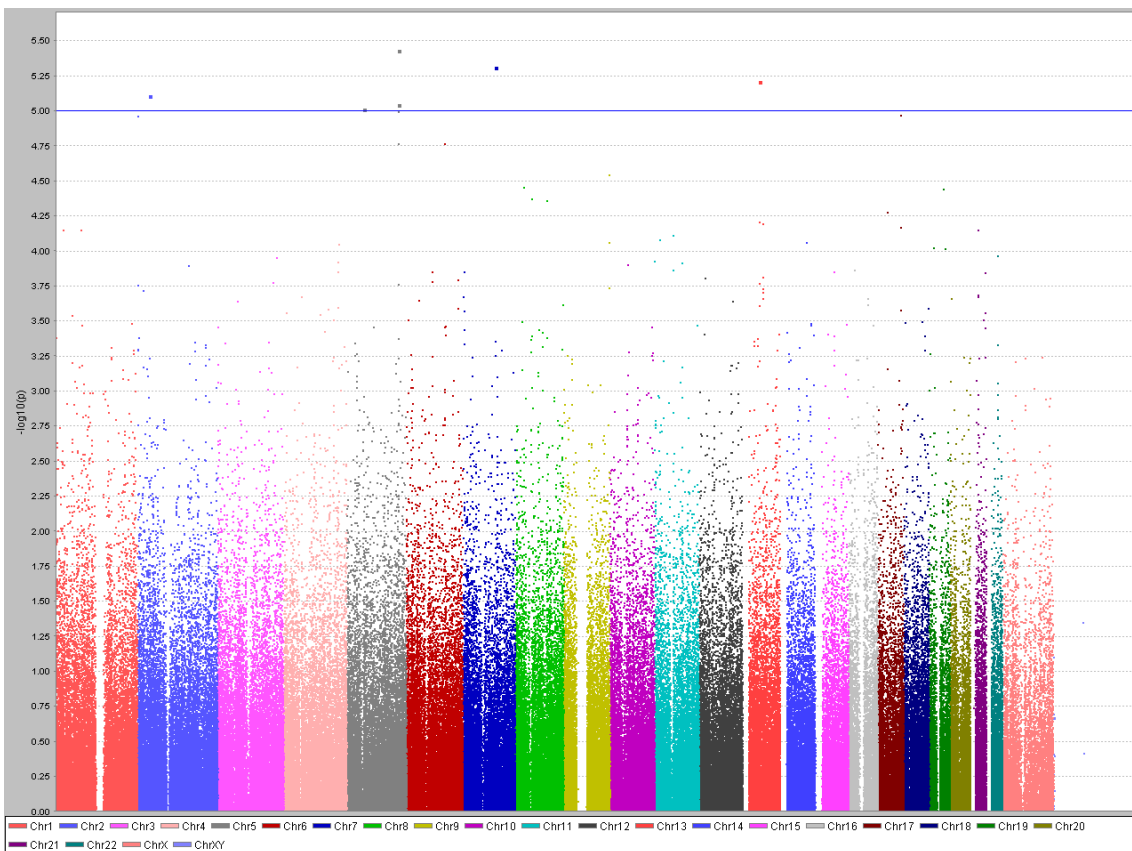
Slika 4.9. Cjlogenomska asocijacijska analiza razine mokraćne kiseline u Splitu



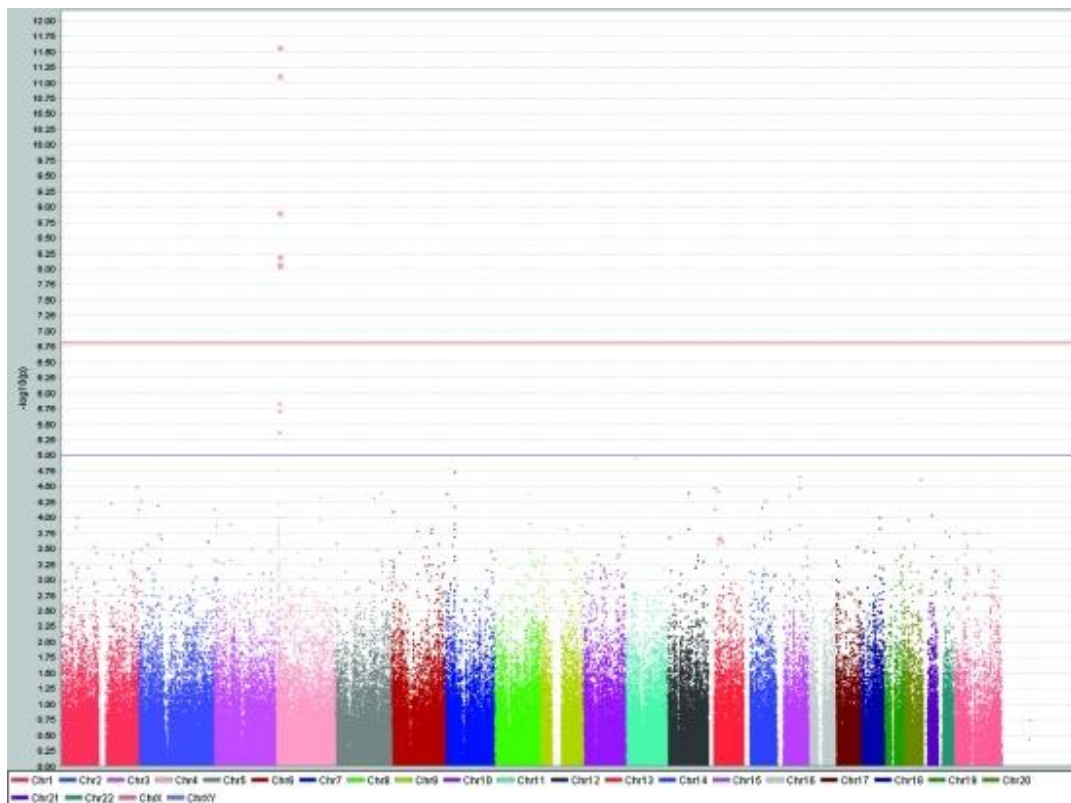
Slika 4.10. Cjlogenomska asocijacijska analiza gihta na Visu



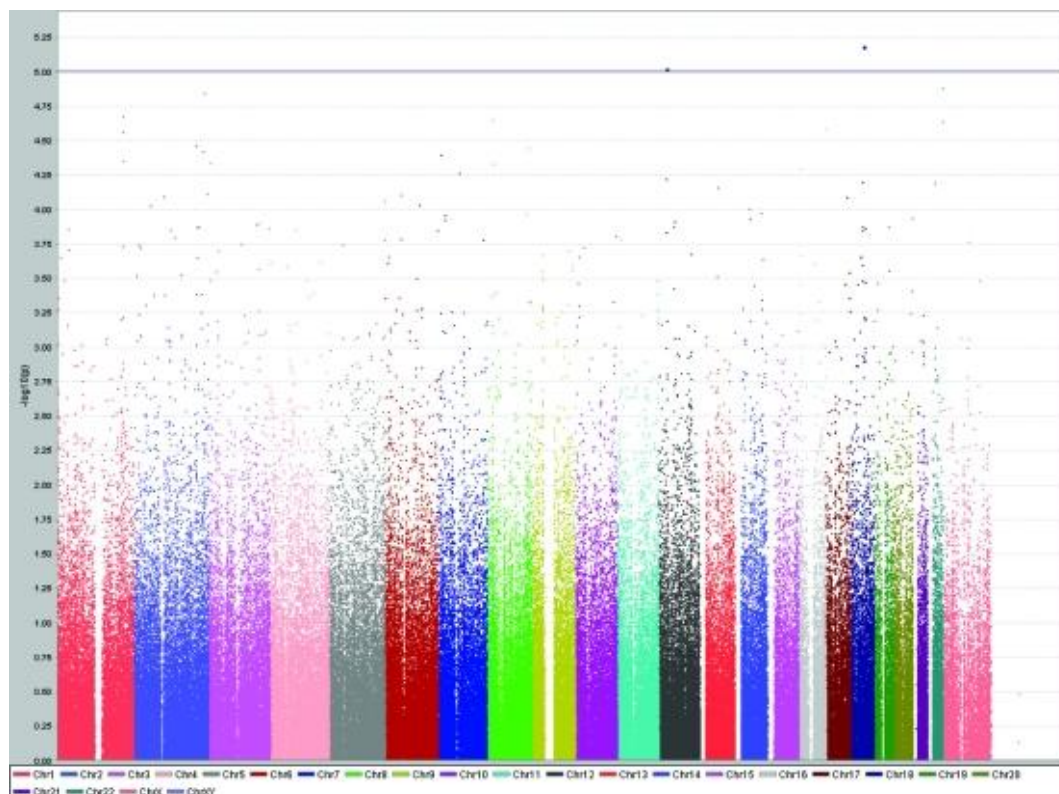
Slika 4.11. Cjelogenomska asocijacijska analiza gihta na Korčuli



Slika 4.12. Cjelogenomska asocijacijska analiza gihta u Splitu



Slika 4.13. Meta-analiza razine mokraćne kiseline u sva tri uzorka



Slika 4.14. Meta-analiza gihta u sva tri uzorka

## 5. RASPRAVA

Rezultati ovog istraživanja ukazuju na hiperuricemiju kao najsnažniji prediktor pojave incidentnog gihta. Snaga ove povezanosti bila je dosta velika, no dizajn ovog istraživanja nije mogao nedvojbeno postaviti uzročno-posljedičnu povezanost, već samo potvrditi snagu povezanosti. Hiperuricemija je bila još snažniji prediktor pojave incidentnog gihta, što govori u prilog kontinuiranoj prirodi pojave simptoma gihta, povezanih s progresivno većim koncentracijama serumske mokraćne kiseline.

### 5.1. Oksidacijski stres

Oksidacijski stres je poremećena ravnoteža između antioksidansa i pro-oksidansa u korist oksidansa, u kojem središnju ulogu ima citokrom oksidaza (259,260). Međutim, ovaj proces stvara i oko 1-3% elektrona koji izbjegnu uobičajeno kretanje, izlaze iz membrana i stvaraju slobodne radikale, koji su odgovorni za oštećenja staničnih struktura (261-263). Osim uobičajenog nastanka, razni poremećaji mogu poremetiti ovu ravnotežu i povećati šansu za nastanak slobodnih radikala, poput bakterijskih i virusnih infekcija, mehaničkih oštećenja ili raznih toksina. Oksidacijski stres nastaje zbog gubitka reducirajućih tvari (antioksidansa), povećanja oksidirajućih tvari (pro-oksidansa) te nakupljanja oštećenih i promijenjenih molekula. Hiperoksija također može uzrokovati neravnotežu zbog povećanog „curenja“ elektrona u mitohondrijima.

Uloga oksidacijskog stresa važan je čimbenik u mnogim bolestima, poput upalnih bolesti - artritisa (264), vaskulitisa (264), glomerulonefritisa (265), sistemskog lupusa (266), akutni respiracijski distres sindrom (267), ishemijske bolesti srca (268), moždani udar (269), crijevna ishemija (270), neurološke bolesti (multipla skleroza (271), Parkinsonova bolest (272), Alzheimerova bolest (273)), povišenja arterijskog tlaka (274), AIDS (275), emfizema pluća (276), presađivanja organa (277), alkoholizma (278) i pušenja (279).

Slobodni radikali su čestice s nesparenim elektronom u vanjskoj ljusci. ROS (reaktivni kisikovi spojevi – reactive oxygen species) predstavljaju reaktivne kemijske oblike nastale nepotpunom redukcijom kisika, a dijele se u dvije skupine spojeva: slobodne radikale (superoksid, hidroksilni radikal, peroksilni radikal, alkoksilni radikal, hidroperoksilni radikal) i spojeve koji nisu slobodni radikali (vodikov-peroksid, hipokloritna kiselina, ozon, singletni kisik). Kisik nije molekula koja izravno izaziva oksidacijski stres, ali je preteča svih ROS. Osim nepotpune redukcije kisika u mitohondrijima reaktivni oblici kisika mogu nastati i pomoću drugih mehanizama i reakcija.

Polimorfonuklearni leukociti sadrže membranski enzim NADPH oksidazu koji, kad se aktivira, koristi elektron iz reduciranog oblika nikotinamid adenin dinukleotid fosfata (NADPH) za redukciju molekuskog kisika. Ova reakcija je važna u nespecifičnom imunološkom odgovoru. Ona omogućava uništavanje mikroba nakon fagocitoze pomoću kisika (280). Stanice endotela krvnih žila imaju drugačiju NADPH oksidazu proizvode kisik s neželjenim i štetnim učincima na organizam (281).

U organizmu postoje dva oblika enzima ksantin-oksidoireduktaze. Enzim katalizira oksidaciju hipoksantina u ksantin i ksantina u mokraćnu kiselinu (282). To su ksantin-dehidrogenaza (XD) i ksantin–oksidaza (XO). XD predstavlja 90% enzima u zdravom tkivu i upotrebljava nikotinamid adenin dinukleotid (NAD) kao primatelja elektrona prilikom čega nastane NADH. XO koristi molekularni kisik kao primatelja elektrona, prilikom čega nastaje superoksidni anion. Pretvorba XD u XO se događa uslijed reverzibilne oksidacije tiolnih skupina ili ireverzibilne proteolize dijela XD. Ova pretvorba događa se tijekom hipoksije, upale, ishemije – reperfuzije (283,284).

Određena stanja i bolesti pogoduju povećanom stvaranju ROS poput radijacijske bolesti (radioliza molekula vode i kisika), ishemije – reperfuzije (oštećenje mitohondrija, nakupljanje kalcija i konverzija XD u XO), hemokromatoze (povećana količina željeza

pogoduje Haber-Weissovoj i Fentonovoj reakciji), hiperoksije (povećan je metabolizam kisika i nastanak ROS u mitohondrijima) (285-287).

Nakupljanje ROS u organizmu oštećuje esencijalne stanične komponente: nukleinske kiseline (mutacijom), proteine (karbonilacijom i križnim vezanjem aminokiselina) i lipide (peroksidacijom) (263). Štetan učinak slobodnih radikala je i oksidacijsko oštećenje DNA. Oštećenje nastaje modifikacijom baza, disocijacijom šećernih komponenti ili pucanjem prstena. Pri tom nastaju: pogreške pri translaciji, inhibicija sinteze proteina, mutacije i kancerogeneza. Oštećenje proteina uzrokuje agregaciju, fragmentaciju i raspad proteina. Na ovaj način se modificiraju funkcionalne skupine proteina. Zbog ovih oštećenja nastaju promjene u ionskom transportu i enzimskoj aktivnosti.

Peroksidacija polinezasićenih masnih kiselina u fosfolipidima membrana staničnih struktura dovodi do narušavanja propusnosti stanične membrane, oštećenja funkcije staničnih organela i utjecaja na integrirane enzime, stvaranje reaktivnih metabolita i drugih produkata lipidne peroksidacije. Povećana lipidna peroksidacija povećava rizik od razvoja ateroskleroze i drugih upalnih bolesti. Oksidirani lipidi u lipoproteinima niske gustoće (LDL) potiču ulazak LDL-a i kolesterola u stanice endotela. Time je stvaranje plaka povezano je s oksidacijskim stresom. Zbog svih opasnosti koje prijete razvojem ROS u organizmu se razvilo sustav antioksidansa u svrhu obrane.

## **5.2. Antioksidansi i obrana u organizmu**

Reducens i oksidans su kemijski pojmovi pri čemu reducens daje elektron, čime reducira drugu tvar i pri tom se sam oksidira. Oksidans je tvar koja prihvaća elektron, oksirira drugu tvar i pri tom se reducira. Pro-oksidansi i antioksidansi imaju značenje u kontekstu određenog biološkog sustava. Pro-oksidans je tvar koja izaziva oksidacijsko oštećenje biološke molekule, te je pro-oksidans sinonim za ROS. Antioksidans je tvar prisutna u

relativno maloj koncentraciji u odnosu na supstrat podložan oksidaciji, ali ju značajno odgađa ili u potpunosti zaustavlja. Prema mehanizmu djelovanja antioksidanse u ljudskom organizmu svrstavamo u preventivne, enzimske i čistače slobodnih radikala. Preventivni vežu ili inaktiviraju metalne ione (transferin, feritin, ceruloplazmin). Enzimatski antioksidansi neutraliziraju ili preusmjeruju ROS (superoksid dismutaza, katalaza, glutacion peroksidaza). Čistači slobodnih radikala doniraju elektron i tako stabiliziraju radikal, te se sami oksidiraju (vitamin C, mokraćna kiselina, glutacion) i štite biomolekule od oštećenja drugim mehanizmima (proteini toplinskog stresa) (260).

Vežanje tranzicijskih metalnih iona, željeza i bakra, u neaktivne kelatne spojeve, je važan dio antioksidacijske obrane. Feritin je najvažniji unutarstanični protein koji veže željezo. Transferin je odgovoran za vežanje u izvanstaničnom prostoru i transport po organizmu. Bakar iz prehrane se veže za albumin, prenese u jetru i veže na ceruloplazmin. Njime se prenosi krvlju po organizmu (261).

Enzim superoksid dismutaza (SOD) ima tri oblika: bakar-cink SOD unutar stanice, mangan SOD u mitohondrijima, te izvanstanična SOD koja sadrži bakar i cink. Enzim katalizira reakciju dismutacije superoksidnog aniona pri čemu nastaje vodikov peroksid koji se dalje katalizira putem katalaze i glutacion peroksidaze. Izvanstanična SOD vezana je za heparin-sulfat na staničnoj površini i obuhvaća više od 70% ukupne aktivnosti SOD u krvnim žilama (288,289). Inhibicija aktivnosti izvanstanične SOD smanjuje vazodilataciju preko dušikovog monoksida (282,283). Isto se događa i u bolesnika s kroničnim srčanim zatajenjem. Aktivnost izvanstanične SOD je znatno niža čime se smanjuje vaskularna dostupnost dušikovog monoksida i pogoršava vazodilatacija uvjetovana njime (290).

Glutacion peroksidaza je enzim ovisan o seleniju, katalizira reakciju vodikovog peroksida. Enzim glutacion reduktaza nadopunjuje sustav glutationske antioksidacijske zaštite.



Glutation reduktaza služi za obnavljanje glutaciona pomoću NADPH iz reakcija pentoza-fosfatnog ciklusa.

Čistači slobodnih radikala su raznolika skupina spojeva. Pored glutaciona tu je albumin, glavni unutar stanični čistač. Vitamin C ili askorbinska kiselina je vodotopljivi antioksidans smješten u izvanstaničnoj tekućini i citosolu. On je prva linija obrane i o njemu ovisi obnavljanje oksidiranog oblika vitamina E. Čovjek, za razliku od drugih sisavaca, nije u mogućnosti sintetizirati vitamin C izgubivši ovu mogućnost evolucijom (260,263,291).

Vitamin E (alfa-tokoferol) je antioksidans topljiv u lipidima, nalazi se u lipoproteinima stanične membrane. Njegova obnova ovisi o vitaminu C, bilirubinu i koenzimu Q10 (260,263,292).

Koenzim Q10 je prva linija antioksidacijske obrane u lipoproteinima.

U vodenom mediju važnu antioksidacijsku ulogu igra mokraćna kiselina, produkt metabolizma purina. Većina sisavaca razgrađuje mokraćnu kiselinu jetrenim enzimom, urikazom, do alantoina i izlučuje ju mokraćom. U ranih ljudi zbog evolucijske prilagodbe maloj količini soli u hrani izgubila se aktivnost ovog enzima (291). Mokraćna kiselina se smatra najzastupljenijim vodotopljivim antioksidansom u tijelu, na nju otpada 60% ukupnog antioksidacijskog kapaciteta plazme (293). Ona je čistač slobodnih radikala (294), stabilizator vitamina C u serumu, najčešće uslijed keliranja iona željeza (295). Mokraćna kiselina je hvatač peroksinitrita iznimno štetnog oksidansa. Mokraćna kiselina sprječava inaktivaciju izvanstanične superoksid dismutaze, enzima koji odstranjuje superoksidne anione prevođenjem u vodikov peroksid (296). Pretpostavlja se da se mokraćna kiselina suprotstavlja oksidacijskom oštećenju povezanom s aterosklerozom i starenjem u ljudi (297). Na mutantima mušice *Drosophila melanogaster*, koji su izgubili sposobnost sinteze mokraćne kiseline Hilliker i suradnici su utvrdili da nakon izlaganja hipoksiji brže ugibaju (298). Mokraćna kiselina povoljno djeluje na očuvanje vaskularne funkcije i to u fiziološkim i patofiziološkim

uvjetima. Pokusi izravnog povećanja koncentracije mokraćne kiseline na ljudskim dobrovoljcima su potvrda opisanog antioksidacijskog učinka. Porast mokraćne kiseline obnavlja endotelnu funkciju u bolesnika oboljelih od šećerne bolesti tipa I i u kroničnih pušača (299), te povećava antioksidacijski kapacitet plazme (300) i smanjuje oksidacijski stres nastao tjelovježbom u zdravih ljudi (301,302).

### **5.3. Mokraćna kiselina kao antioksidans**

Mokraćna kiselina je snažan antioksidans, čini 2/3 ukupnog kapaciteta neutralizacije slobodnih radikala plazme. Zajedno s plazmatskim i antioksidansima ekstracelularne tekućine čini obranu organizma od reaktivnih oksidativnih molekula. U antioksidanse ekstracelularne tekućine uz mokraćnu kiselinu ubrajamo: askorbinsku kiselinu (vitamin C),  $\alpha$  - tokoferol (vitamin E), karotenoide i bilirubin (303,304).

Nije određen mehanizam kojim ove molekule djeluju antioksidativno u organizmu. Askorbinska kiselina, in vitro, u vodenom odsjeku i  $\alpha$  - tokoferol, u lipidnom odsjeku, su glavni sinergistički par antioksidativnih reakcija. U zaštiti od oksidacije lipoproteina glavnu ulogu ima  $\alpha$  – tokoferol. Oksidacija lipoproteina je prvi korak u aterogenezi i drugim degenerativnim procesima. Vitamin C obnavlja  $\alpha$  - tokoferol. Mokraćna kiselina ne može reciklirati  $\alpha$  - tokoferol, ali se radikali mokraćne kiseline recikliraju putem vitamina C. Tako ona smanjuje koncentraciju vitamina C. Na ovaj način smanjuje obnavljanje  $\alpha$  - tokoferola, te se time tumači njen prooksidativni učinak. Kod oboljelih od kardiovaskularnih bolesti povišena mokraćna kiselina može odražavati povišenje ovog kompenzacijskog mehanizma koji nastoji nadjačati oksidativni stres, oštećenje vezano uz aterosklorozu i bolesti starenja (305). Prilikom razvoja oksidativnog stresa, uz oslobađanje slobodnih radikala dolazi do porasta mokraćne kiseline. Antioksidativna svojstva mokraćne kiseline podjednako su snažna kao i ona askorbinske kiseline (305).

Pozitivni učinci mokraćne kiseline su:

- sprječavanje nitrozacije bjelančevina posredovanih peroksinitritom (306),
- sprječavanje peroksidacije masti (307),
- zaštita LDL kolesterola od oksidacije posredovane ionima bakra (292),
- inhibitorni učinak mokraćne kiseline na funkciju  $\beta$ -stanica Langerhansovih otočića - sekreciju inzulina na poticaj glukozom (308).

Ovi antioksidativni učinci predstavljaju temelj zaštitnog učinka mokraćne kiseline kod raznih bolesti: akutnog moždanog udara, kardiovaskularnih bolesti, starenja i malignih bolesti (305).

Prooksidativna uloga mokraćne kiseline ovisna je o prisutnosti iona metala, odnosno kemijskom mikrookolišu. Mokraćna kiselina može zaštititi LDL čestice od oksidacije posredovane ionima bakra, istovremeno pojačava oksidaciju ranije oksidiranih LDL čestica koje se nalaze unutar produkata peroksidacije masti (308,309). Ako je mokraćna kiselina oksidirana putem peroksinitrita, radikali mokraćne kiseline mogu pogodovati prooksidativnom djelovanju, a u plazmi se odmah inaktiviraju putem reakcije s askorbinskom kiselinom (310,311). Pad koncentracije askorbinske kiseline, dokazan kod infarkta mozga, može pogodovati prooksidativnim učincima mokraćne kiseline. Eksperimentalno je nađeno da kod akutnog infarkta mozga, oni s visokom koncentracijom mokraćne kiseline i niskom koncentracijom askorbinske kiseline imaju najlošiju prognozu. Temeljem praćenja 881 bolesnika s infarktom mozga Chamorro je sa suradnicima našao vrijednosti mokraćne kiseline obrnuto proporcionalne neurološkom deficitu i volumenu mozga zahvaćenog infarktom (312,313). Razina serumske mokraćne kiseline pozitivno je utjecala na bolji ishod liječenja neovisno o ostalim rizičnim čimbenicima. Slijedom navedenog razvila se misao kako se davanjem mokraćne kiseline može poboljšati liječenje od infarkta mozga. Objavljeni su rezultati pilot studije u kojoj je sustavna trombolitička terapija kombinirana s apliciranjem

mokraćne kiseline u liječenju akutnog infarkta mozga, a tretirani bolesnici nisu imali ozbiljnih neželjenih komplikacija (314).

Veći broj studija bliže je dokazu o negativnom utjecaju hiperuricemije za nastanak i za ishod infarkta mozga. Ovaj učinak se tumači nestabilnošću mokraćne kiseline kao antioksidansa, koja može djelovati i kao promotor razvoja oksidansa u određenim patološkim uvjetima, pogotovo ako je koncentracija drugih antioksidansa niska (315).

U uvjetima krajnjeg oksidativnog stresa, ravnoteža između pro- i antioksidativnih svojstava mokraćne kiseline može štititi tkivo. Soli mokraćne kiseline uništavaju oksidante kao što je peroksinitrit, čija je razina uobičajeno niska, osim u ishemiji. Niska razina ponekad patogenog oksidativnog stresa može biti cijena plaćena za zaštitnu prisutnost mokraćne kiseline u kritičnim trenucima (316).

Povišena razina mokraćne kiseline u serumu kardioloških bolesnika do sada se povezuje s lošijim ishodom učinka liječenja. Većina stanja s povišenim kardiovaskularnim rizikom vezana je uz povišenje koncentracije serumske mokraćne kiseline. Mokraćna kiselina jako veže superokside, hidroksi radikale i slobodni kisik, te može kelirati tranzicijske metale (317). Važna je njena uloga u blokiranju reaktivnog peroksinitrita koji nitrozilira tirozinske ostatke u proteinima. Peroksinitrit je produkt reakcije superoksidnog aniona i dušikovog oksida. Dušikov oksid endotelnog podrijetla ima vazodilatirajući učinak. Mokraćna kiselina koči razgradnju superoksid dismutaze, ključnog enzima za održanje endotela (318-320).

U povišenoj koncentraciji mokraćna kiselina može djelovati prooksidativno. Povišenju koncentracije mokraćne kiseline pogoduju uvjeti hipoksije tkiva i niska razina ostalih antioksidansa. Prooksidativan učinak mokraćne kiseline očituje se aktivacijom cirkulirajućih trombocita i nepovoljnim djelovanjem na endotel krvnih žila tako što smanjuje otpuštanje dušikovog oksida i inhibira njegov sustav u bubrezima (295,321). Ovu vezu potvrđuje poboljšanje funkcije endotela nakon primjene visokih doza alopurinola (322).

Važnost mokraćne kiseline opisali su Waring i suradnici u istraživanju temeljenom na infuziji mokraćne kiseline u zdravih dobrovoljaca koja je uzrokovala neadekvatno oslobađanje dušikovog oksida i time endotelnu disfunkciju (323). Autori su pokazali da kratkotrajno sniženje mokraćne kiseline ne utječe na oporavak endotelne disfunkcije u bolesnika s dijabetesom tipa II, a da infuzija mokraćne kiseline popravljaju funkciju endotela u pušača i onih bolesnih od dijabetesa tipa I. Time su pokazali da mokraćna kiselina u nekim stanjima poboljšava funkciju endotela krvnih žila. Postoji još nekoliko opisanih učinaka mokraćne kiseline. Mokraćna kiselina potiče sintezu angiotenzina II putem tkivnog renin-angiotenzin-aldosteron sustava i staničnu proliferaciju u kulturi glatkih mišićnih stanica *in vitro* (294,325).

Drugi je učinak mokraćne kiseline na pojačanu sintezu DNA u glatkim mišićnim stanicama krvnih žila. Pojačana sinteza mokraćne kiseline za vrijeme ishemije, zbog veće razgradnje purina iz oštećenih stanica, doprinosi aterogenezi i proliferaciji intime nakon oštećenja arterije (325-327). Mokraćna kiselina ulazi u stanicu putem organskih anionskih transportera (OAT) (328,329).

Nakon višegodišnje hiperuricemije, uobičajeno, u svezi s koncentracijom mokraćne kiseline u serumu, trajanjem hiperuricemije i starosne dobi bolesnika, nastane akutni urični artritis. Iako je uloga mokraćne kiseline dobro opisana ostaju nerazjašnjena još neka pitanja. Zašto kristali u zglobovima ponekad izazivaju burnu upalnu reakciju, a ponekad su neaktivni? Zašto samo mali broj osoba s hiperuricemijom dobije urični artritis? Odgovore treba tražiti u mehanizmima nespecifične imunosti gdje mokraćna kiselina, identificirana je kao endogeni faktor, izaziva imuni odgovor u nedostatku mikrobne stimulacije. Kristali mokraćne kiseline aktiviraju interleukin-1 $\beta$  putem aktiviranja NOD-like receptor proteina, NLRP3 inflammasoma, multimolekularnog kompleksa čija je aktivacija središnja u mnogim patološkim upalnim stanjima (330).

Glavna funkcija imunološkog sustava je zaštita domaćina od vanjskih patogena. Na principu prepoznavanja vanjskih patogena gubi se granica između nespecifične (prirodne) i specifične imunosti uvjetovane T i B limfocitima (331). Nespecifično imunološko prepoznavanje se odvija putem ograničenog broja receptora koji prepoznaju proizvode ili dijelove patogena i zovu se receptorima za molekularne obrasce povezane s patogenima (eng. PAMP - pathogen associated molecular patterns) (332,333). Dendritičke stanice su antigen-prezentirajuće stanice (APC, od engl. antigen presenting cells) koje su u tkivima stalno u kontaktu sa stanicama i izvanstaničnim prostorom. Ukoliko iz izvanstaničnog prostora fagocitiraju materijal koji ne sadržava PAMP-ove (od engl. pathogen-associated molecular patterns) ili DAMP-ove (od engl. danger-associated molecular patterns), one ostaju u stanju tolerancije i nezrelosti. Ako se, PAMP-ovi (evolucijski očuvane strukture porijeklom od patogenih mikroorganizama) ili DAMP-ovi (egzogeni ili endogeni materijal potencijalno štetan po domaćina) nalaze u fagocitiranom djeliću izvanstaničnog prostora, dendritičke stanice se aktiviraju, sazrijevaju, izlučuju citokine i kemokine, te migriraju u limfni čvor gdje prezentiraju proteine porijeklom iz fagocitiranog materijala B- i T-limfocitima. Time pokreću stečenu imunost (334). Ostale antigen-prezentirajuće stanice su: monociti, makrofazi, B limfociti. Ove stanice također aktiviraju stečenu imunost, ali u određenim uvjetima i ne tako efikasno kao dendritičke stanice (335).

Razlikovanje vlastitih i stranih antigena odvija se putem stanica urođene imunosti, koje antigene prepoznaju receptorima za prepoznavanje uzoraka (PRR, od engl. pattern recognition receptors). Aktivacija PRR nužna je za ekspresiju ko-stimulacijskih molekula, aktivaciju antigen-prezentirajućih stanica i posljedičnu aktivaciju stečene imunosti. PAMP-ovi su molekule potrebne za preživljavanje patogena i imaju evolucijski konzerviranu strukturu. U ovu skupinu ubrajamo peptidoglikane (PGN), bakterijski lipopolisaharid (LPS) i virusnu RNK (333). Organizmi su tijekom evolucije razvili grupu receptora za prepoznavanje

PAMP-a, zovemo ih receptorima za prepoznavanje patogena (eng. PRP - pathogen-recognition receptors).

PRP se nalaze na različitim tipovima stanica: makrofagi, monociti, dendritičke stanice, neutrofili i epitelne stanice. Aktivacija imunološkog sustava kada antigen prezentirajuće stanice reagiraju na “signale opasnosti” dobivene od stanica koje su pod stresom, ili su oštećene i prolaze kroz staničnu smrt koja nije kontrolirana apoptoza zovemo „Danger model“. Imunološki sustav se aktivira osjetivši da nešto nije u redu (336).

DAMPs (damage-associated molecular patterns) su aktivirajući signali stanice domaćina (oštećene stanice). Njime se aktivira nespecifični imunološki odgovor kad je prisutno oštećenje tkiva.

Aktivacija PRP receptora dovodi do kaskadne upalne reakcije nespecifičnog imunološkog sustava, ali i lučenja topljivih medijatora (citokina) koji aktiviraju specifični dio imunološkog sustava. Te receptore možemo podijeliti u izvanstaničnu, poput Tollu-sličnih receptora (eng. TLR - Toll-like receptors) i unutarstaničnu skupinu receptora u koju osim Tollu-sličnih receptora uključujemo i Nodu-slične receptore (eng. NLR-NOD-like receptors). (334). Stimulacijom TLR-a dolazi do aktivacije različitih unutarstaničnih putova prijenosa signala, koji aktiviraju čimbenik transkripcije NF- $\kappa$ B i proizvodnju proteina AP-1 ili interferona tipa I (333). Postoji komunikacija između TLR-a i NLR-a putova prijenosa signala. Stimulacijom TLR-a receptora proizvodi se prethodnik IL-1 $\beta$  i IL-18. Ovi citokini su glavni substrat aktivirane kaspaze 1. Kaspaza 1 je aktivirana stimulacijom NLR-a prijenosa signala (334).

#### - **Toll-u slični receptori**

Tollgeni su evolucijski sačuvani i njihov unutarstanični, signalni dio, strukturno je sličan receptoru za interleukin-1 (IL-1), citokinu za kojeg se znalo da može aktivirati NF- $\kappa$ B signalni put i ekspresiju kostimulacijskih molekula. Toll-u slični receptori (TLR-i) su

transmembranski proteini tipa I. Imaju ektodomenu sačinjenu od ponavljajućih leucinom bogatih regija (engl. LRR, leucine-rich repeats) za koje se vežu PAMP-ovi, transmembransku regiju, te signalnu unutarstaničnu TIR (Toll/IL-1R)-domenu (337,338). Nalaze se ili na staničnoj membrani – površinski TLR-i, ili na membrani unutarstaničnih vezikula – unutarstanični TLR-i. Površinski TLR-i prepoznaju komponente membrana ili vanjskih ovojnica bakterija, virusa i parazita, dok unutarstanični TLR-i prepoznaju nukleinske kiseline. Lokalizacija TLR-a prilagođena je njihovim ligandima. Površinski TLR-i prepoznaju stabilne komponente mikroorganizama koje se nalaze u izvanstaničnom prostoru, dok nukleinske kiseline mikroorganizama oslobođene u izvanstaničnom prostoru bivaju brzo razgrađene prisutnim nukleazama (339).

Nukleinske kiseline su endogene jer se DNA i RNA nađu u izvanstaničnom prostoru i nisu razgrađene (neadekvatno uklanjanje apoptotskih stanica ili ako su stabilizirane u imunokompleksima) (340-342). Ovako prisutne nukleinske kiseline mogle bi pokrenuti upalni proces i dovesti do razvoja autoimunosti (343). Nukleinske kiseline koje dođu u kontakt s unutarstaničnim TLRima bivaju unesene fagocitozom ili endocitozom. Nakon prepoznavanja liganda od strane TLR-a, signal se prenosi preko citoplazme do stanične jezgre. Svi TLR-i osim TLR3 koriste adapterski protein MyD88 (od engl. myeloid differentiation primary response gene 88). Signalizacija putem IL-1 receptora se također odvija preko MyD88 adaptora (344).

Aktivacija NF- $\kappa$ B i drugih transkripcijskih faktora rezultira sekrecijom proupalnih citokina, uključujući IL-6, TNF- $\alpha$  i IL-12. TLR4 se unosi u stanicu endocitozom. Toll-u slični receptori prisutni su u svim stanicama hematopoetske loze i u nekim tkivima ne-hematopoetske loze (345,346). Toll-u slični receptori najbolje su do sada karakterizirani receptori urođene imunosti, često nadopunjeni drugim receptorima koji prepoznaju iste ili slične ligande. Druge porodice receptora urođene imunosti mogu se svrstati u solubilne,



transmembranske te citosolne receptore. Solubilni receptori uključuju kolektine kao što su MBL (od engl. mannan-binding lectin) i SP-A (surfaktant protein A), fikoline i pentraksine kao što su CRP (od engl. C-reactive protein) i SAP (od engl. serum amyloid P), koji se vežu za površinu mikroorganizama, aktiviraju komplement i opsonizacijom olakšavaju fagocitozu makrofazima, monocitima i neutrofilima (347,348).

#### - **Inflamasomi**

Inflamasomi su skupina proteinskih kompleksa koji prepoznaju različite signale upale, uključujući i patogene determinante i signale uzrokovane oštećenjima (DAMP). Nalaze se u citoplazmi i prepoznaju: patogene signale (viralnu RNA, mRNA mikroorganizama, toksine), okolišne signale (azbest, silikate) i endogene signale (ekstracelularni ATP, hijaluronsku kiselinu,  $\beta$ -amiloide i kristale mokraćne kiseline) (349,350). Oni su dio nespecifične imunosti u citoplazmi, koji nakon prepoznavanja signala aktiviraju kaspaze, započinju upalni proces i pružaju signale za aktivaciju specifične imunosti.

Osim opisane uloge u nespecifičnoj imunosti inflamasomi imaju ulogu i u nastanku autoinflamatornih bolesti. U osnovi patogeneze tih bolesti nalaze se poremećaji regulacije proizvodnje IL-1 $\beta$ /IL-18/IL-33, prijenosa signala preko staničnog čimbenika transkripcije NF- $\kappa$ B, te s defektom procesa stanične apoptoze i mutacije gena koji kodiraju TNF- $\alpha$  receptor i različite molekule iz grupe inflamasoma. Ovi poremećaji rezultiraju opstankom leukocita koji bi inače trebali biti uništeni apoptozom tijekom upalne reakcije (351,352).

Aktivacija inflamasoma bilo vanjskim (mikrobi) ili unutrašnjim signalima (stres ili signal opasnosti), dovodi do aktivacije kaspaza i proizvodnje aktivnih formi IL-1 $\beta$ , IL-18 i IL-33 (341-345). Dva su signala neophodna za sekreciju zrelog IL-1 $\beta$  (337,338). Prvim signalom dolazi do stimulacije stanica imunološkog sustava pomoću liganda koji se vežu na TLR i dovode do proizvodnje pro-IL1 $\beta$  i aktivacije kaspaze 1 (340-342). Nakon toga stanice prihvaćaju drugi signal, najčešće ulazak K<sup>+</sup> iona koji će preko niza NOD-u sličnih receptora

(NLR), CARD domena, pirinskih domena (PYD), adaptorskih ASC proteina, dovesti do formiranja inflamatoskog kompleksa i kaskadno aktivirati kaspazu 1. Aktivirana kaspaza 1 od pro-IL-1 $\beta$  odcijepi aminokiseline i pretvori ga u zrelu formu (353).

IL-1 je jedan od važnijih citokina koji u najvećoj mjeri proizvode monociti, a koji preko prostangladina uzrokuje vrućicu i obično se luči prilikom infekcija, ozljeda i/ili imunoloških reakcija. Djelovanjem kaspaze 1 dolazi do stvaranja konačnih formi citokina IL-18 i IL-33. Danas su poznata dvadeset dva citoplazmatska proteina koji pripadaju skupini NOD-u sličnih receptora (NLR), a koje nalazimo osim u stanicama limfoidnog ili mijelogenog porijekla i u spermijima, oocitima, želucu, crijevu, plućima i neuronima (334).

NLRP3 inflammasomi aktiviraju se nakon izloženosti mokraćnoj kiselini i aktiviraju urođeni imuni odgovor (336). Makrofagi iz miševa s nedostatkom različitih komponenti inflamatomne reakcije uključujući i kaspazu 1, ASC, i NLRP3, nisu sposobni aktivirati IL-1 $\beta$  na stimulaciju mokraćnom kiselinom. Ovi miševi su pokazali poremećaj u prilivu neutrofila nakon intraperitonealne injekcije mokraćne kiseline, pokazujući NLRP3 inflamosome kao kritičnu vezu između uzročnog poticaja nastanka gihta i naknadnog patološkog znaka akutnog napada gihta. Slični su se rezultati pokazali s kalcij pirofosfat dihidrat (CPPD) kristalima, uzročnicima pseudogihta, sugerirajući sličan mehanizam reguliranja upalnih odgovora (349). Primjena alopurinola ukazuje na razlike u fizikalnim svojstvima različitih kristala, uključujući površinski naboj i veličinu. Ove razlike mogu biti važne u određivanju intenziteta upalnog odgovora. Opisani biološki mehanizmi na kojima se temelji povezanost prekomjerne konzumacije hrane i pojave gihta s opisom odnosa masnih kiselina (FFA) i mokraćne kiseline u aktivaciji IL-1 $\beta$  (349). Kristali sami nisu u stanju izazvati izdvajanje IL-1 $\beta$  iz mononuklearnih stanica periferne krvi izoliranih od zdravih ispitanika, međutim u prisutnosti slobodne masne kiseline, otkrivene su velike količine aktivnog IL-1 $\beta$ .

Stanice koje sudjeluju u upali za vrijeme gihta su leukociti, posebice neutrofili i makrofagi (359,360). Dodatak kristala mokraćne kiseline rezultira neutrofilnom staničnom smrću i oslobađanjem lizosomskih i citoplazmatskih enzima. Studije in vitro su pokazale da kada su kristali dodani pripremljenim neutrofilima, fagocitoza kristala inducira oslobađanje lizosomskih sadržaja pucanjem lizosomske membrane što rezultira smrću stanice. Kada kristali nisu obloženi imunoglobulinima, oslobađanje lizosomskih enzima je i dalje održano. Samu važnost neutrofila u akutnom odgovoru dodatno podupire učinak kolhicina kao inhibitora neutrofilnih lizosoma i migracije stanica (349). Kolhicin potiskuje proteinske komplekse NLRP3 inflammasoma potaknute kristalima mokraćne kiseline, najvjerojatnije kroz mikrotubularne kočnice i naknadno umanjuje prezentaciju kristala mokraćne kiseline NLRP3 upalnom protein kompleksu u citoplazmi. Neutrofile privlače kemotaktični čimbenici, citokini i kemokini, koji djeluju na endotelno prijanjanje i transmigraciju. Među čimbenicima poznati su regulatori upale za vrijeme gihta: IL-1 $\beta$ , IL-8, CXCL1 i granulocitni faktor stimulacije (360).

Nedefinirana je i uloga dodatnih citokina, što mogu aktivirati NLRP3 inflammasome, kao IL-18. Kristali mokraćne kiseline mogu potaknuti druge putove iz NLRP3 inflammasoma i važno je prepoznati takve putove i razumjeti njihove interakcija s NLRP3 inflammasomima i IL-1 $\beta$  proizvodnjom u akutnim fazama gihta. Odgovori na ova pitanja će bez sumnje dati važne uvide u mehanizme kojima se temelji upala nastala indukcijom kristalima mokraćne kiseline, ali može otkriti i biološki relevantne ciljeve novih, učinkovitijih terapijskih opcija liječenja bolesti.

Mutacije u NLR proteinima ili regulatorima inflammasoma dovode do autoinflamatornih bolesti (354). Mutacije u NALP1 inflammasomu dovode do vitiliga, te se na ovaj način povezuju autoimunosne i autoinflamatorne bolesti (343). Iako je IL-1 $\beta$  neophodan za kontrolu infekcije ili kontrolu unutrašnjih signala opasnosti, nekontrolirana proizvodnja

ovog citokina je štetna. Regulacija inflammasoma se obavlja putem regulatornih proteina pirina ili PSTPIP1. Prvu skupinu regulatora funkcije inflammasoma čine proteini koji sadrže CARD domenu, vrlo sličnu onoj kod kaspaze-1. Ti proteini sprječavaju novačenje i aktivaciju kaspaznih adaptorskih proteina (ASC) ili IPAF inflammasoma preko međusobnih interakcija CARD-CARD domena (iceberg, INCA, COP, kaspaza 12). Druga skupina regulatornih proteina je karakterizirana prisutnošću PYR (pirinske) domene i smatra se da interferiraju između ASC i NALP proteina (11, 13). Mutacije pirina, proteina koji pripada toj skupini regulatora inflammasoma dovode do obiteljske Mediteranske groznice (FMF), dok mutacija u proteinu PSTPIP1 dovodi do sindroma PAPA (piogeni artritis, pioderma gangrenozum i akne). Regulatori funkcije inflammasoma predstavljaju potencijalne ciljeve za specifičnu terapiju (355-357).

Identificirano je više od 40 mutacija u NLRP3 (336). Svaki mutirani oblik proizvodi aktivni oblik NLRP3, većina vjerojatno zbog spontane NLRP3 oligomerizacije, a time luči povišene razine IL-1 $\beta$ , koji pokreće upalu. U skladu s tim, genetski ciljani miševi skrivene mutacije ekvivalentno onima u divljem tipu, pokazuju pojačanu aktivnost NLRP3 inflammasoma što dovodi do povišenog IL-1 $\beta$ . Ovo otkriće je revolucija u kliničkim tretmanima tih bolesti, gdje bolesnici dobro reagiraju na IL-1 $\beta$  antagoniste, primjerice anakinra, nova generacija IL-1 $\beta$  antagonista, ili kaspaza-1 inhibitore (336).

Genske varijante u NLRP3 i drugim genima vezanim uz inflammasome povezani su s osjetljivošću i težinom bolesti u niz kroničnih upalnih bolesti, uključujući giht, reumatoidni artritis i Crohnovu bolest (357,358). Osim uzročnih mutacija u putu NLRP3 inflammasoma, patologija brojnih upalnih bolesti je povezana s aktivacijom ovih inflammasoma i za bolesti specifičnih inflammasomskih agonista. Na primjer, fibrilarni peptid amiloid- $\beta$ , koji se nakuplja u obliku senilnih plakova odgovornih za patogenezu Alzheimerove bolesti (358,359). Studije pokazuju da su inflammasomski aktivatori NLRP3, kaspaza-1, IL-1 $\beta$ , neophodni za aktivaciju

mikroglije i za egzogeni amiloid- $\beta$  u mozgu, za mikroglijalnu sintezu proupalnih i neurotoksičnih čimbenika, što ukazuje na ključnu ulogu puta inflamatskog urođenog imunog odgovora na amiloid- $\beta$  i naknadna oštećenja tkiva kao znak Alzheimerove bolesti.

U dijabetesu tipa II, otočić amiloid polipeptida, koji je sastavni dio amiloid depozita u gušterači, aktivira NLRP3, što rezultira izdavanjem IL-1 $\beta$  i izaziva apoptozu gušteračnih  $\beta$  stanica, dok kolesterolski kristali pokazuju aktivaciju inflamatsoma u aterosklerozi (358,359). Kasni stadij melanomskih ljudskih stanica pokazuje autoimuna obilježja, spontano izlučivanje aktivnog IL-1 $\beta$  i aktivaciju NLRP3. IL-1 posredovan autoinflamacijom dovodi kemotaksijom makrofage i pridonosi angiogenezi, čime izravno pridonosi bolesti, njenom razvoju i progresiji. Inflamatsomi su također povezani s progresijom kronične bolesti bubrega i s brojnim virusnim infekcijama (358,359).

#### **5.4. Genetska podloga razine mokraćne kiseline i gihta**

Unatoč statistički značajnom rezultatu pri korištenju genetskog zbroja (engl. *genomic score*), doprinos analiziranih biljega bio je mnogo manji od doprinosa hiperuricemije. Međutim, vidljivo je da je mala razlika objašnjene varijance u zajedničkim modelima ukazivala na barem marginalno značenje genetskih biljega u predikciji gihta. Poznato je da je metabolizam mokraćne kiseline pod utjecajem gena, od kojih su neki po prvi puta opisani baš u populaciji otoka Visa. Najvažniji od njih je SLC2A9, koji je i u ovom istraživanju bio najsnažniji genetski prediktor razine mokraćne kiseline, posebice u meta-analizi rezultata iz sve tri populacije, uz granično neznačajan nalaz u pojedinim populacijama. Ovaj rezultat jasno ocrta glavni problem moderne genetike – nepostojeću heritabilnost (360,361). Prva genetička istraživanja pokazivala su da je heritabilnost mnogih ljudskih svojstava jako visoka. Najčešće se u tom kontekstu spominjala visina, čija se heritabilnost nerijetko u istraživanjima kretala između 92 i 95% ukupne varijance. Međutim, čak ni jako velika istraživanja s

nekoliko tisuća uzoraka nisu uspjela objasniti više od desetak posto varijance, a razlika objašnjene varijance i heritabilnosti nazvana je nepostojeća heritabilnost. I ovo istraživanje pokazuje isti rezultat, da uz visoku heritabilnost razine mokraćne kiseline, ukupna objašnjena varijanca genomskog zbroja iznosi manje od 5%. Međutim, rezultat snažno ovisi o spolu, što je jasna posljedica drugačijih obrazaca razine mokraćne kiseline kod muškaraca i žena. Čini se da je kod muškaraca obrazac obilježen konstantnim porastom razine mokraćne kiseline s porastom dobi i gotovo konstantnim prelaskom u hiperuricemiju i u giht (Slika 4). Istovremeno je kod žena obrazac jako različit, s izraženim porastom učestalosti hiperuricemije i gihta tek u najstarijim dobnim skupinama. Dvojnost ovog odnosa očituje se i u pojedinačno malim doprinosima varijance, koji tek u zajedničkom modelu u kojem su i muškarci i žene uspije imati veći postotak objašnjene varijance. Ovo je dijelom i posljedica veće statističke snage zbog povećanja uzorka, ali odražava drugačije metabolizme mokraćne kiseline kod muškaraca i žena.

Značenje analiziranih gena već je prije ustanovljeno u nekoliko istraživanja, posebice za razinu mokraćne kiseline. Ne samo da su neki od ovih gena bili važni za presječna istraživanja, nego su čak i istraživanja s ponavljanim mjerenjima ukazivala na važnost pojedinih gena. Isto tako je i genomski zbroj već otprije poznat kao važan prediktor razine mokraćne kiseline, no ne i gihta (125).

Jedno od najizglednijih objašnjenja ovog rezultata je postojanje snažnije veze između pojedinih gena i kvantitativnih svojstava, nego gena i bolesti. S jedne strane, teorijska osnova govori u prilog ovoj pretpostavci, jer je većina bolesti koje danas predstavljaju veliko populacijsko opterećenje multifaktorijalna. U tom svjetlu, u genetici se često bolesti smatraju kao zajedničkim konačnim fenotipovima (engl. end-phenotype) i ne smatraju se homogenim fenotipovima. Primjer je recimo infarkt miokarda, kojem se povećava šansa nastanka zbog obiteljske sklonosti, prekomjernog unosa soli, hiperlipidemije, ili drugih metaboličkih

poremećaja, koji svi imaju zajedničko mjesto djelovanja i vrlo sličan klinički ishod. U ovoj situaciji genetičari su se fokusirali na kvantitativna svojstva, neko od obilježja ciljnog organa ili organskog sustava, i počeli ih proučavati. Tako je u sklopu projekta 10,001 Dalmatinac proučavana mokraćna kiselina, a kao rezultat je objavljen prvi nalaz novog regulatora, gena SLC2A9 (25). Ovaj rad zasniva se na principu kvantitativne genetike, i samo na taj način je uspio pronaći gen za razinu mokraćne kiseline. Rezultati ove disertacije potvrdili su istu pretpostavku, da je lakše pronaći gen za određivanje razine mokraćne kiseline, nego za konačni fenotip bolesti – giht. Najvjerojatnije objašnjenje krije se u multifaktorijalnoj prirodi gihta, koji očito nije izravna posljedica prekomjerne količine mokraćne kiseline, nego u podlozi ima i druge mehanizme. Moguće je da se radi o okolišnoj modifikaciji, ili učinku koji je slabije statističke snage od povezanosti razine mokraćne kiseline i analiziranih gena. U svakom slučaju, rezultati govore u prilog još složenijoj prirodi nastanka gihta od izolirane hiperuricemije, ali bez dodatnih istraživanja ovakve tvrdnje ostaju samo na razini nepotvrđenih hipoteza.

## **5.5. Populacijske razlike**

Rezultati ovog istraživanja potvrđuju ranije djelomične rezultate koji su govorili u prilog izraženim populacijskim razlikama učestalosti genotipskih frekvencija (362). Ovakve populacijske razlike temelje se na najmanje dva teorijska mehanizma nastanka genetskih razlika između otočnih i kopnenih populacija. Prvi takav mehanizam je genetski pomak (engl. *genetic drift*). Glavni ishod ove pojave je različita alelna (a onda i genotipska frekvencija) izolirane populacije, koja nastaje kao posljedica slučajnih promjena u populaciji konačne veličine (363,364). Kroz veći broj generacija genetski pomak može u znatnoj mjeri izmijeniti opterećenje bolesti u izoliranim populacijama, što je već prije bilo opisano u mnogim otočnim istraživanjima i u Hrvatskoj (9). Drugi važan mehanizam je učinak osnivača (engl. *founder*

*effect*). On se temelji na alelnim frekvencijama populacije osnivača otoka. Ukoliko su osnivači donijeli rijetke varijante za pojavu bolesti u populaciju konačne veličine, moguće je da je takva rijetka varijanta kroz generacije postala češća i uzrokuje veće opterećenje bolesti u izoliranoj populaciji. Oba mehanizma imaju nepovoljan neto učinak na otočne populacije, i to u raznolikim ishodima. Tako je opisana povećana učestalost pojave raka u populaciji otoka Lastova (365-367), zatim pojava bubrežnih kamenaca u populaciji otoka Raba (368), osteoporoza (9,369). Svi ovi rezultati naveli su na razmatranje genetskog profila izoliranih i otočnih populacija kao važne odrednice ustroja zdravstvenog sustava u tim sredinama. Stoga je predloženo da bi stvaranje lokalne zdravstvene politike u budućnosti svakako moralo uzeti u obzir i genetski profil i lokalne uvjete, a ne pokušavati stvoriti jednu zdravstvenu politiku za sve populacije, koje mogu imati vrlo različite ishode i opterećenje bolesti koje je nemoguće predvidjeti (361).

## **5.6. Ograničenja istraživanja**

Opis ograničenja i problema ovog istraživanja temelji se na problemima mjerenja, nepostojećoj heritabilnosti, problemima određivanja genetskih varijanti kao i genskih varijanti u NLRP3 i drugim genima vezanim uz inflammasome povezane s osjetljivošću i težinom bolesti u niz kroničnih upalnih bolesti, uključujući giht, multifaktorijalnoj prirodi analiziranih bolesti i analitičkim metodama.

Jedan od osnovnih problema je mjerenje razine mokraćne kiseline i pojave gihta. Dosadašnja istraživanja često govore u prilog posebnim oblicima bolesti, poput gihta bez jasne hiperuricemije i izolirane hiperuricemije bez gihta. Nažalost, i u ovom istraživanju je postojao problem jednog mjerenja mokraćne kiseline i presječne prirode istraživanja. Moguće je da su postojale varijacije razine mokraćne kiseline i da su neki od ispitanika bili krivo svrstani u skupine. Također, dio ispitanika koji su smatrani zdravima moguće ima



predispoziciju dobivanja gihta kasnije u životu, i također su u ovom istraživanju krivo svrstani. Moguće rješenje ovog problema je provedba longitudinalnih istraživanja, koja bi ispitanike pratila kroz vrijeme, i na taj način dobila bolju informaciju o fenotipu, a time i bolju podlogu za procjenu važnosti genetskih biljega i drugih čimbenika rizika na pojavu bolesti. Jedno od vrlo zanimljivih pitanja je postojanje mehanizma konverzije hiperuricemije u giht, jer je i u ovom istraživanju pokazano kako i u staroj životnoj dobi postoje ispitanici koji imaju samo hiperuricemiju, tj. čini se da neće sve hiperuricemije neizostavno preći u giht. Provedba ovakvog istraživanja zahtijevala bi veliki broj ispitanika s hiperuricemijom i njihovo praćenje, s ciljem identifikacije podskupine koja će razviti giht i one koja neće. Moguće je da je poremećaj metabolizma mokraćne kiseline neovisan o sklonosti razvoju artritičnih promjena, koje se kod nekih osoba dogode zajedno (ili čak i u različitim vremenskim trenucima), tako da neki razviju samo hiperuricemiju, a neki giht. Ovo bi bilo moguće istražiti komparativnom analizom pojavnosti drugih oblika artritisa i gihta, kako bi se utvrdilo postoje li zajednički genetski ili drugi mehanizmi koji dovode do pojave bolesti.

Vrlo veliki problem moderne genetike je i određivanje genetske podloge i analitičke metode. Postojeći biljezi jednog nukleotida (engl. *single-nucleotide polymorphisms*) možda nisu stvarni uzrok genetske varijacije, tj. možda postoje i oblici genomske varijabilnosti koji su snažnije povezani s fenotipskim ishodima. Ideja za to potječe iz same povijesti genetike, u kojoj su prvo korišteni drugi oblici polimorfizama, poput RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*) i mikrosatelitne DNA, za koje se kasnije uvidjelo da često nije uzrok nego samo biljeg drugih promjena genoma. U modernije vrijeme je to CNV (*Copy-number variations*), koji nažalost također nije pokazao snažnu povezanost sa svojstvima i bolestima kod ljudi. Konačno, velika očekivanja stavljamo i na egzomske sekvence i cjelogenomske sekvence, za koje preliminarni rezultati također ne govore u prilog snažnoj povezanosti s

kliničkim ishodima. U ovoj situaciji moguće je da analizirani biljezi u ovom istraživanju nisu izravno povezani s ishodom, tako da je dobivena snaga povezanosti mala.

Bez obzira na probleme koji su prepoznati u provedbi ovog istraživanja, rezultati ukazuju na veću prediktivnu vrijednost hiperuricemije za pojavu gihta. Stoga se kao prijedlog za buduća istraživanja postavlja pitanje jasnijeg određivanja fenotipova, višestrukih mjerenja i korištenja novih genomske tehnologije, poput sekvence egzoma i cjelogenomske sekvence.

## 6. ZAKLJUČAK

Rezultati ovog istraživanja ukazali su na raznolike obrasce pojave hiperuricemije i gihta, s jako izraženim spolnim razlikama. Dok se kod muškaraca može govoriti o bolesti koja je latentna (hiperuricemija), i u manjem postotku prelazi u manifestnu (giht), obrazac kod žena govori u prilog velikim promjenama metabolizma mokraćne kiseline vezanima uz menopauzu i stariju životnu dob. Dok se učestalost hiperuricemije povećava u dobi od oko 50 godina, osjetniji porast učestalosti gihta je kod žena uočen tek u vrlo starim dobnim skupinama. Incidencija gihta tijekom razdoblja praćenja bila je manja od incidencije novodijagnosticirane hiperuricemije, s izraženim razlikama u svakom od tri analizirana pod-uzorka. Kako i nakon deset godina praćenja udio ispitanika s potvrđenom hiperuricemijom nije razvio giht, čini se da hiperuricemija ne povećava rizik za nastanak gihta linearno, nego kroz složeniji obrazac promjena. Pri tome bi jako zanimljivo bilo provesti longitudinalno ili kohortno istraživanje osoba s izoliranom hiperuricemijom, uz istovremeno detaljno praćenje pokazatelja stanja upale, koji možda imaju ulogu u nastanku gihta. Međutim, potrebno je naglasiti da je i u ovom istraživanju potvrđeno postojanje doznog učinka, u kojem su ispitanici s višom koncentracijom mokraćne kiseline imali marginalno češću pojavu gihta. No, nemoguće je ustanoviti uzročno-posljedičnu vezu, jer je moguće da je mokraćna kiselina samo pokazatelj suboptimalnog zdravlja i antioksidacijska molekula koja pokušava uravnotežiti metabolizam. U istraživanju interakcije između genetskih varijanti gena za glukozni transporter (SLC2A9) i prehrambenih navika u regulaciji serumske mokraćne kiseline evidentirano je smanjenje koncentracije mokraćne kiseline s povećanjem konzumacije mlijeka, kiselog vrhnja, pačjeg mesa, puretine i jaja. Značajna povezanost pronađena je između konzumacije krumpira i rs737267, a skoro značajna interakcija pronađena je između konzumacije bezalkoholnih pića i rs1014290. Povećana konzumacija bezalkoholnih pića u interakciji s genotipom TT na rs1014290 povećala je serumsku koncentraciju mokraćne kiseline. Jedan od najzanimljivijih

rezultata je statistički značajna povezanost razine mokraćne kiseline s genom SLC2A9, uz istovremeni izostanak takvog rezultata između istog gena i pojave gihta. Ovo govori u prilog multifaktorijalnoj prirodi gihta, ali i govori u prilog hipotezi da giht nije izravna posljedica hiperuricemije, jer bi u tom slučaju i rezultat za giht trebao biti značajan. Sumarno gledano, rezultati ovog istraživanja potvrdili su snažnu povezanost hiperuricemije s gihtom, ali i doprinijeli raspravi o stvarnoj prirodi mokraćne kiseline, za koju čini se ne postoji izravna ili jasna veza s pojavom gihta.

## 7. SAŽETAK

Cilj istraživanja bio je istražiti učestalost i međuovisnost povišene serumske koncentracije mokraćne kiseline i gihta u populaciji Korčule, Visa i šireg područja Splita, te ustanoviti razlike u genetskoj podlozi, obrascima ponašanja ili drugim obilježjima osoba koje imaju povišenu koncentraciju mokraćne kiseline a nemaju giht. Istraživanjem je obuhvaćeno 3.006 ispitanika, u tri pod-uzorka. Usporedba tri pod-uzorka pokazala je razlike u svim varijablama, od dobi i spola, socioekonomskog stanja, do pokazatelja vezanih uz metabolizam mokraćne kiseline i giht. Analiza koncentracije mokraćne kiseline ukazala je na različit spolno-vezani obrazac. Analiza učestalosti gihta prema pod-uzorku i spolu bila je drugačijeg obrasca; najviše gihta među muškarcima je u dobi 50-59 godina u sva tri pod-uzorka, u žena je obrazac različit u svakom pod-uzorku. Kod muškaraca je učestalost hiperuricemije bila između 15 i 25% i nije pokazivala velike promjene prema dobi, dok se kod žena giht pojavljivao u kasnijim dobnim skupinama s najvećom učestalosti u starijim skupinama i trendom smanjivanja u najstarijim dobnim skupinama. Najviše gihta među ženama zabilježeno je u Visu, s čak do 7% učestalosti u dobnoj skupini 60-69 godina, dok je u preostala dva pod-uzorka učestalost bila izraženo niža, a u Splitu čak i toliko niska da u nekim dobnim skupinama nije zabilježen niti jedan slučaj. Dva polimorfizama jednog nukleotida (SNP) koji pripadaju SLC17A3 genu (rs9393672 i rs942379) imaju značajnu povezanost s promjenom koncentracije serumske mokraćnom kiseline u žena. Analiza genetskih biljega u pod-uzorcima ukazala je na postojanje razlike u učestalosti pojedinih genotipova, posebice za gen SLC2A9. Rezultati su potvrdili povezanost nekoliko biljega s hiperuricemijom, posebno biljega iz gena SLC2A9 i GCKR. U istraživanju interakcije između gena i prehrambenih navika u regulaciji serumske mokraćne kiseline evidentirano je smanjenje koncentracije s povećanjem konzumacije mlijeka, kiselog vrhnja, pačjeg mesa, puretine i jaja. Značajna povezanost pronađena je između konzumacije krumpira i rs737267, a skoro značajna

interakcija između konzumacije bezalkoholnih pića i rs1014290. Povećana konzumacija bezalkoholnih pića u interakciji s genotipom TT na rs1014290 povećala je serumsku koncentraciju. Analiza s gihtom kao prediktorskom varijablom ukazala je nepostojanje značajnih rezultata niti za jedan od analiziranih biljega. Hiperuricemija je najsnažniji prediktor pojave incidentnog gihta. Snaga ove povezanosti dosta je velika, no dizajn istraživanja nije postavio uzročno-posljedičnu povezanost. Iako mala, razlika objašnjene varijance u zajedničkim modelima ukazala je na značenje genetskih biljega u predikciji gihta.

## 8. ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the prevalence and interplay between elevated serum uric acid concentration and gout, in the population of the islands of Korcula and Vis, and Split region, and establish differences in the genetic background, behavioural patterns or other characteristics of these two phenomena. The study encompassed a total of 3,006 subjects in all three sub-samples. The comparison suggested that the sub-samples were largely different, in terms of age and gender, socioeconomic status as well as the gout and uric acid variables, marked with strong gender differences. We determined that gout mostly affected up to 7% of women in the 60 – 69 age group in Vis whereas the frequency was lower in the two other sub-populations. In Split, however, the gout was the most common in men in the 50-59 age group, while for women it was different in all three subsamples. Two single-nucleotide polymorphisms (SNP) belonging to SLC17A3 gene (rs9393672 and rs942379) yielded significant association with serum uric acid concentration changes in women. In study of the interaction between genetic variants of the gene for glucose transporter (SLC2A9) and dietary habits in the regulation of serum uric acid we registered a significant decrease in uric acid levels was recorded with increasing consumption of milk, sour cream, duck and turkey, and eggs. The only significant interaction was found between potato consumption and rs737267 and a near-significant interaction was found between soft drinks and rs1014290. Increased consumption of soft drinks interacting with the TT genotype at rs1014290 increased serum uric acid. Hyperuricaemia had prevalence in men between 15 and 25%, while in women it tended to become more frequent towards the elderly groups. Genetics had shown that SLC2A9 and GCKR genes were associated with uric acid concentration, without significant results for gout. Hyperuricaemia remains the single strongest risk factor for gout. Genetic markers explained a low proportion of variance, but seemed to have at least marginal role in gout development.

## 9. POPIS LITERATURE

1. Eggebeen AT: Gout: An Update. *American Family Physician* 2007;76:801-808.
2. Raj S, Radwan AF: An Unusual Presentation of Gout. *Darlington and County Durham Medical Journal* 2009;3:10-13.
3. Mandell BF: Clinical manifestations of hyperuricemia and gout. *Cleveland Clinic Journal Of Medicine* 2008;75:5-8.
4. Richette P, Bardin T: Gout. *Lancet* 2010;375:318-28.
5. Dirken-Heukensfeldt J, Van de Lisdonk EH: Clinical features of women with gout arthritis. A systematic review. *Clin Rheumatol* 2010;29:575-582.
6. Alvarez-Nemegyei J, Canoso J: Heel pain: diagnosis at treatment, step by step. *Cleveland clinic journal of medicine* 2006;73:465-471.
7. Terkeltaub R, Bushinsky DA, Becker MA: Recent developments in our understanding of the renal basis of hyperuricemia and the development of novel antihyperuricemic therapeutics. *Arthritis Research & Therapy* 2006;8:4.  
Dostupno na: <http://arthritis-research.com/content/8/S1/S4>, pristup 09.01.2014.
8. Merriman TR, Dalbeth N: The genetic basis of hyperuricaemia and gout. *Joint Bone Spine* 2011;78:35-40.
9. Kolčić I. Populacijsko-geneticke i okolišne odrednice metaboličkog sindroma u populaciji otoka Visa [Population-genetics and environmental determinants of metabolic syndrome in the population of island Vis] (doktorska disertacija). Zagreb: Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu;2009.
10. Roddy E: Hyperuricemia, Gout, and Lifestyle Factors. *J Rheumatol* 2008;35:1689-91.  
Dostupno na: <http://www.jrheum.org/content/35/9/1689>, pristup 09.01.2014.



11. Milić V, Piplović N, Kerimović-Morina Đ, Zlatković-Švenda M: Učestalost nefrolitijaze i njena povezanost sa artritismom i tofusima kod bolesnika sa primarnim gihtom. *Acta rheum Belgrad* 2006;36:15-23.
12. Sarawate ChA, Kathleen K. Brewer KK, Yang W, Patel AP, Schumacher HR, Saag KG, Bakst AW: Gout Medication Treatment Patterns and Adherence to Standards of Care From a Managed Care Perspective. Annual Scientific Meeting, San Diego, 2005;11:12-17.
13. Riches PL, Wright AF, Ralston SH: Recent insights into the pathogenesis of hyperuricaemia and gout. *Human Molecular Genetics*, 2009;18:177-184.
14. So A, Thorens B: Uric acid transport and disease. *The Journal of Clinical Investigation* 2010;120:1791-1799.
15. Indraratna PL, Stocker SL, Williams KM, Graham GG, Jones G, Day RO: A proposal for identifying the low renal uric acid clearance phenotype. *Arthritis Research & Therapy* 2010;12:149.  
Dostupno na: <http://arthritisresearch.com/content/12/6/149>, pristup 09.01.2014.
16. Mikuls TR, MacLean CH, Olivieri J, Patino F, Allison JJ, Farrar JT: Quality of Care Indicators for Gout Management. *Arthritis&Rheumatism* 2004;40:937-943.
17. Schumacher HR, Taylor W, Joseph RN, Perez RF, Chen LX, Schlesinger N: Outcome evaluations in gout. *J Rheumatol* 2007;34:1381-5.
18. Choi HK, Zhu Y, Mount DB: Genetics of gout. *Curr Opin Rheumatol* 2010; 22:144-51.
19. Basseville A, Bates SE: Gout, genetics and ABC transporters. *F1000 Biology Reports* 2011; 3:23. Dostupno na: <http://f1000.com/reports/b/3/23>, pristup 09.01.2014.
20. Primatesta P, Plana E, Rothenbacher D: Gout treatment and comorbidities: a retrospective cohort study in a large US managed care population. *BMC Musculoskeletal Disorders* 2011;12:103.

Dostupno na: <http://www.biomedcentral.com/1471-2474/12/103>, pristup 09.01.2014.

21. Pušeljić S, Milas V: Hiperuricemija i hipouricemija - klinički značaj, dijagnostički i terapijski postupci. *Paediatr Croat* 2009;53:178-185.

22. Ichida K: What lies behind serum urate concentration? Insights from genetic and genomic studies. *Genome Medicine* 2009;1:118-128.

Dostupno na: <http://genomemedicine.com/content/1/12/118>, pristup 09.01.2014.

23. Rudan D, Polašek O, Kolčić I, Rudan I: Uric Acid: the Past Decade. *Croat Med J* 2010;51:1-6.

24. Sperling O: Hereditary renal hypouricemia. *Molecular Genetics and Metabolism* 2006;89: 14–18.

25. Vitart V, Rudan I, Hayward C, Gray NK, Floyd J: SLC2A9 is a newly identified urate transporter influencing serum urate concentration, urate excretion and gout. *Nature genetics* 2008;40:437-442.

26. Scott P, Ma H, Viriyakosol S, Terkeltaub R, Liu-Bryan R. Engagement of CD14 mediates the inflammatory potential of monosodium urate crystals. *J Immunol.* 2006;177:6370-6378.

27. Wu EQ, Patel PA, Mody RR et al. Frequency, risk, and cost of gout-related episodes among elderly: does serum uric acid level matter? *J Rheumatol* 2009;36:1032-1040.

28. McCarty DJ. Gout without hyperuricemia. *JAMA* 1994;271:302-3.

29. Terkeltaub R: Difficult Gout. Dostupno na:

[http://www.the-rheumatologist.org/details/article/1304639/Difficult\\_Gout.html](http://www.the-rheumatologist.org/details/article/1304639/Difficult_Gout.html)

30. Schwartz S: Disease of distinction.

Dostupno na: [http://www.stephanaschwartz.com/PDF/disease\\_of\\_distinction.pdf](http://www.stephanaschwartz.com/PDF/disease_of_distinction.pdf), pristup 31.01.2014.

31. Nuki G, Simkin P: A concise history of gout and hyperuricemia and their treatment.  
Dostupno na: <http://arthritis-research.com/content/8/S1/S1>, pristup 31.01.2014.
32. Čunović S. Urični artritis - giht: podagra - uložci. Medicinska naklada: Zagreb, 2000:13-17.
33. Lascaratos J: „Arthritis“ in Byzantium (AD 324-1453): unknown information from non-medical literary sources. *Annals of the Rheumatic Diseases* 1995; 54: 951-957.
34. Gritzalis KC, Marianna Karamanou M, Androustos G: Gout in the writings of eminent ancient greek and byzantine physicians. *Acta med-hist Adriat* 2011;9:83-88.
35. Fornaciari G, Giuffra V, Giusiani S, Fornaciari A, Villari N, Vitiello A: The 'gout' of the Medici, Grand Dukes of Florence: a palaeopathological study. *Rheumatology (Oxford)*. 2009;48:375-7. Ackroyd H: Acid metabolism in dogs. *British Medical Association Research*.  
Dostupno na: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1276360/>, pristup 31.01.2014.
36. Foschi G: Nucleotide metabolism and Urate excretion in the Dalmatian dog breed.  
Dostupno na: [http://ex-epsilon.slu.se:8080/archive/00002573/01/Foschi\\_Gabiella.pdf](http://ex-epsilon.slu.se:8080/archive/00002573/01/Foschi_Gabiella.pdf), pristup 31.01.2014.
37. H. Ackroyd: Uric Acid Metabolism in Rabbits. *Biochem J*. 1911;5:442-444.
38. Torres R, Puig JG: Hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase (HPRT) deficiency: Lesch-Nyhan syndrome. *Orphanet Journal of Rare Diseases* 2007;2:48.
39. Qazi Y, Lohr JW. Hyperuricemia. In: *eMedicine.com*/(Last updated: 22 June 2005).  
Dostupno na: <http://emedicine.com/med/topic1112.htm>., pristup 1.02.2014.
40. Uric acid. Dostupno na: <http://healthoracle.org/downloads/U/Uric%20acid.pdf>, pristup 31.01.2014.

41. Moses S. Hyperuricemia. In: family Practice Notebook.com((last updated: 24 January 2007). Dostupno na: <http://www.fpnotebook.com/REN87.htm>, pristup 1.02.2014.
42. Gamulin S, Marušić M, Kovač Z. Patofiziologija. Medicinska naklada: Zagreb, 2011:264-267.
43. Metabolizam dušikovih spojeva.  
Dostupno na: <http://bmb.pharma.hr/predavanja/dusik/sld001.htm>, pristup 1.02.2014.
44. Purine Nucleotide Biosynthesis, Regulation of Purine Synthesis, Catabolism and Salvage of Purine Nucleotides, Clinical Significances of Purine Metabolism. Dostupno na: <http://themedicalbiochemistrypage.org/nucleotide-metabolism.php>, pristup 1.02.2014.
45. Angstadt CN: Purine and Pyrimidine Metabolism.  
Dostupno na: <http://library.med.utah.edu/NetBiochem/pupyr/pp.htm>, pristup 1.02.2014.
46. Amino-Acid-Degradation-and-the-Urea-Cycle Amino Acid Degradation and the Urea Cycle. Dostupno na: <http://www.docstoc.com/docs/22293308/>, pristup 1.02.2014.
47. Riches PL, Wright AF, Ralston SH: Recent insights into the pathogenesis of hyperuricaemia and gout. *Human Molecular Genetics*, 2009;18:177-184.
48. Ames BN, Cathcart R, Schwiers E, Hochstein P. Uric acid provides an antioxidant defense in humans against oxidant- and radical-caused aging and cancer: a hypothesis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1981;78:6858-6862.
49. Roddy E, Doherty M: Gout. *Epidemiology of gout*. *Arthritis Res Ther*. 2010;12:223.
50. Update: Gout in the Māori community. Dostupno na: [http://www.bpac.org.nz/magazine/2008/may/docs/bpj13\\_gout\\_pages\\_29-31.pdf](http://www.bpac.org.nz/magazine/2008/may/docs/bpj13_gout_pages_29-31.pdf), pristup 1.02.2014.
51. Doherty M: New insights into the epidemiology of gout. *Rheumatology* 2009;48:2-8
52. Brauer GW, Prior IAM: Aprospective study of gout in New Zealand Maoris. *Annals of the Rheumatic Diseases* 1978;37:466-472.

53. Zhang M, Chang H, Gao Y, Wang X, Xu W, Liu D, Li G, Huang G: Major dietary patterns and risk of asymptomatic hyperuricemia in chinese adults. *J Nutr Sci Vitaminol.* 2012;58:339-45.
54. Choi HK, Mount DB, Reginato AM: Pathogenesis of Gout. *Ann Intern Med,* 2005;143:499-516.
55. Mika D, Ahmad S, Guruvayoorappan C: Tumour lysis syndrome: implications for cancer therapy. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012;13:3555-60.
56. Ozen H: Glycogen storage diseases: new perspectives. *World J Gastroenterol* 2007;13:2541-53.
57. Enzymes of Type I Glycogen Storage Diseases. Dostupno na:  
<http://themedicalbiochemistrypage.org/vongierkedisease.php>, pristup 1.02.2014.
58. Bhole V, Vera M, Rahman MM, Krishnan E, Choi H: Epidemiology of Gout in Women. *Arthritis & Rheumatism* 2010;62:1069-1076.
59. Matijević V. Povezanost koncentracije urične kiseline u serumu i ishoda sustavnog trombolitičkog liječenja akutnog infarkta mozga alteplazom (doktorska disertacija) Zagreb: Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu; 2011.
60. Car S. Serumaska koncentracija mokraćne kiseline i ishod akutnog koronarnog sindroma (doktorska disertacija) Zagreb: Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu; 2012.
61. Edwards LN The role of hyperuricemia in vascular disorders. *Curr Opin Rheumatol* 2009;21:132-137.
62. Whiteman M, Ketsawatsakul U, Halliwell B. A reassessment of the peroxynitrite scavenging activity of uric acid. *Ann N Y Acad Sci.* 2002; 962:242-259.
63. Muraoka S, Miura T. Inhibition by uric acid of free radicals that damage biological molecules. *Pharmacol Toxicol.* 2003;93:284-289.

64. Bagnati M, Perugini C, Cau C, Bordone R, Albano E, Bellomo G. When and why a water-soluble antioxidant becomes pro-oxidant during copper-induced low-density lipoprotein oxidation: a study using uric acid. *Biochem J.* 1999;340:143-152.
65. Ames BN, Cathcart R, Schwiers E, Hochstein P. Uric acid provides an antioxidant defense in humans against oxidant- and radical-caused aging and cancer: a hypothesis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1981;78:6858-6862.
66. Sautin Y, Johnson R. Uric acid: the oxidant–antioxidant paradox. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids.* 2008 June; 27: 608–619.
67. Kellogg EW 3rd, Fridovich I. Liposome oxidation and erythrocyte lysis by enzymically generated superoxide and hydrogen peroxide. *J Biol Chem* 1977;252:6721–6728.
68. Ames BN, Cathcart R, Schwiers E, Hochstein P. Uric acid provides an antioxidant defense in humans against oxidant- and radical-caused aging and cancer: a hypothesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981;78:6858–6862.
69. Amaro S, Soy D, Obach V, Cervera A, Planas AM, Chamorro A. pilot study of dual treatment with recombinant tissue plasminogen activator and uric acid in acute ischemic stroke. *Stroke* 2007;38:2173–2175.
70. Duan W, Ladenheim B, Cutler RG, Kruman II, Cadet JL, Mattson MP. Dietary folate deficiency and elevated homocysteine levels endanger dopaminergic neurons in models of Parkinson’s disease. *J Neurochem* 2002;80:101–110.
71. Hooper DC, Spitsin S, Kean RB, Champion JM, Dickson GM, Chaudhry I, Koprowski H. Uric acid, a natural scavenger of peroxynitrite, in experimental allergic encephalomyelitis and multiple sclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:675–680.
72. Spitsin SV, Scott GS, Mikheeva T, Zborek A, Kean RB, Brimer CM, Koprowski H, Hooper DC. Comparison of uric acid and ascorbic acid in protection against EAE. *Free Radic Biol Med* 2002;33:1363–1371.

73. Mazza A, Pessina AC, Pavei A, Scarpa R, Tikhonoff V, Casiglia E. Predictors of stroke mortality in elderly people from the general population. The Cardiovascular Study in the Elderly. *Eur J Epidemiol* 2001;17:1097–1104.
74. Weir CJ, Muir SW, Walters MR, Lees KR. Serum urate as an independent predictor of poor outcome and future vascular events after acute stroke. *Stroke* 2003;34:1951–1956.
75. Yu ZF, Bruce-Keller AJ, Goodman Y, Mattson MP. Uric acid protects neurons against excitotoxic and metabolic insults in cell culture, and against focal ischemic brain injury in vivo. *J Neurosci Res* 1998;53:613–625.
76. Hooper DC, Spitsin S, Kean RB, Champion JM, Dickson GM, Chaudhry I, Koprowski H. Uric acid, a natural scavenger of peroxynitrite, in experimental allergic encephalomyelitis and multiple sclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:675–680.
77. Spitsin SV, Scott GS, Mikheeva T, Zborek A, Kean RB, Brimer CM, Koprowski H, Hooper DC. Comparison of uric acid and ascorbic acid in protection against EAE. *Free Radic Biol Med* 2002;33:1363–1371.
78. Danilov AI, Jagodic M, Wiklund NP, Olsson T, Brundin L. Effects of long term NOS inhibition on disease and the immune system in MOG induced EAE. *Nitric Oxide* 2005;13:188–195.
79. Khosla UM, Zharikov S, Finch JL, Nakagawa T, Roncal C, Mu W, Krotova K, Block ER, Prabhakar S, Johnson RJ. Hyperuricemia induces endothelial dysfunction. *Kidney Int* 2005;67:1739–1742.
80. Tsukada K, Hasegawa T, Tsutsumi S, Katoh H, Kuwano H, Miyazaki T, Yamamoto Y. Effect of uric acid on liver injury during hemorrhagic shock. *Surgery* 2000;127:439–446.
81. Becker BF, Reinholz N, Ozcelik T, Leipert B, Gerlach E. Uric acid as radical scavenger and antioxidant in the heart. *Pflugers Arch* 1989;415:127–135.

82. Sautin YY, Nakagawa T, Zharikov S, Johnson RJ. Adverse effects of the classical antioxidant uric acid in adipocytes: NADPH oxidase-mediated oxidative/nitrosative stress. *Am J Physiol Cell Physiol* 2007;293:584–596.
83. Kuzkaya N, Weissmann N, Harrison DG, Dikalov S. Interactions of peroxynitrite with uric acid in the presence of ascorbate and thiols: implications for uncoupling endothelial nitric oxide synthase. *Biochem Pharmacol* 2005;70:343–354.
84. Whiteman M, Ketsawatsakul U, Halliwell B. A reassessment of the peroxynitrite scavenging activity of uric acid. *Ann NY Acad Sci* 2002;962:242–259.
85. Muraoka S, Miura T. Inhibition by uric acid of free radicals that damage biological molecules. *Pharmacol Toxicol* 2003;93:284–289.
86. Bartesaghi S, Ferrer-Sueta G, Peluffo G, Valez V, Zhang H, Kalyanaraman B, Radi R. Protein tyrosine nitration in hydrophilic and hydrophobic environments. *Amino Acids* 2007;32:501–515.
87. Cardinali D, Scacchi Bernasconi P, Reynoso R, Reyes Toso C, Scacchi P: Melatonin May Curtail the Metabolic Syndrome: Studies on Initial and Fully Established Fructose-Induced Metabolic Syndrome in Rats. *Int. J. Mol. Sci.* 2013;14:2502-2514.
88. Liang J, Li Y, Zhou N, Teng F, Zhao J, Zou C, Qi L: Synergistic effects of serum uric acid and cardiometabolic risk factors on early stage atherosclerosis: the cardiometabolic risk in chinese study. *PLoS One.* 2012;7:51101.
89. Bickel Ch, Rupprecht HJ, Blankenberg S, Rippin G, Hafner G, Daunhauer A, Hofmann KP, Meyer J: Serum Uric Acid as an Independent Predictor of Mortality in Patients With Angiographically Proven Coronary Artery Disease. *Am J Cardiol* 2002;89:12–17.
90. Moriarty JT, Folsom AR, Iribarren C, Nieto FJ, Wayne D, Rosamond WD: Serum Uric Acid and Risk of Coronary Heart Disease: Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Ann Epidemiol* 2000;10:136-143.



91. Lin ChS, Yi-Jen Hung YJ, Chen GY, Tzeng TF, Lee DY, Chen ChY, Huang WP, Huang ChH: A multicenter study of the association of serum uric acid, serum creatinine, and diuretic use in hypertensive patients. *International Journal of Cardiology* 2011;148:325-330.
92. Sautin Y, Nakagawa T, Zharikov S, Johnson JJ: Adverse effects of the classic antioxidant uric acid in adipocytes: NADPH oxidase-mediated oxidative/nitrosative stress. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2007;293:584-596.
93. Purine and Pyrimidine disorders: ADA Deficiency (2006). In: ESSPMM. Dostupno na: [http://www.amg.gda-pl/essppmm/ppd/ppd\\_pu\\_aort.html](http://www.amg.gda-pl/essppmm/ppd/ppd_pu_aort.html), pristup 1.02.2014.
94. Glew RH, Rosenthal MD. *Clinical Studies in Medical Biochemistry*. Oxford University Press. Dostupno na [books.google.hr/books?isbn=0195176871](http://books.google.hr/books?isbn=0195176871), pristup 1.02.2014.
95. Nyhan WL, Barshop BA, Ozand PT. *Atlas of metabolic disease*, Trento, Hodder Arnold, 2005;429-58.
96. Pittman JR, Bross MH: Diagnosis and management of gout. *Am Fam Physician*. 1999;59:1799-806.
97. How to Cure Gout in the Knee? Dostupno na: <http://www.docstoc.com/docs/19474765/How-to-Cure-Gout-in-the-Knee->, pristup 4.02.2014.
98. Mandell BF: Clinical manifestations of hyperuricemia and gout. *Cleve Clin J Med*, 2008;74:5-8.
99. Anthony L. DeFranco: Dangerous Crystals. *Immunity* 2008;29:670-671.
100. Pulendran B: Immune Activation: Death, Danger and Dendritic Cells. *Current Biology* 2004;14:3.
101. Saag KG, Choi H: Epidemiology, risk factors, and lifestyle modifications for gout. *Arthritis Research & Therapy* 2006;8:1-7.

- Dostupno na: <http://arthritis-research.com/content/8/S1/S2>, pristup 4.02.2014.
- 102.Pascual E, Pedraz T: Gout. *Journal of clinical rheumatology: practical reports on rheumatic & musculoskeletal diseases* 2006;12:105-6.
- 103.Zhu Y, Pandya BJ, Choi HK: Prevalence of gout and hyperuricemia in the US general population: the National Health and Nutrition Examination Survey 2007-2008. *Arthritis Rheum.* 2011;63:3136-41.
- 104.Mikuls TR et al: Gout epidemiology: results for the UK General Practice Research Database, 1990-1999. *Annals of the Rheumatic Diseases* 2005;64:267-272.
- 105.Bhole V: Epidemiology of gout in women: Fifty-two-year followup of a ...  
Dostupno na: [onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/art.../pdf](http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/art.../pdf) -, pristup 4.02.2014.
- 106.Klippel JH, Crofford LJ, Stone JH: Gout Epidemiology, Pathology, and Pathogenesis. *Rheumatism* 2008. *Rheumatic Diseases - Stranica 250.*  
Dostupno na: [books.google.hr/books?isbn=0387685669](http://books.google.hr/books?isbn=0387685669), pristup 4.02.2014.
- 107.Wallace KL et al: Increasing prevalence of gout and care hyperuricemia over 10 years among older adults in a managed population. *Journal of Rheumatology* 2004;31:1582-1587.
- 108.Doherty M: New insights into the epidemiology of gout. *Rheumatology* 2009;48:2-8.
- 109.Roddy E, Doherty M: Epidemiology of gout. *Arthritis Research & Therapy* 2010;12:2-11.
- 110.Luk AJ, Peter A. Simkin PA: Epidemiology of Hyperuricemia and Gout. *Am J Manag Care* 2005;11:435-442.
- 111.McGill NW: The epidemiology and treatment of gout. *Open Access Rheumatology: Research and Reviews* 2011;3:73-82.
- 112.Weaver L: *The Epidemiology and Diagnosis of Gout.*  
Dostupno na: [http://www.medscape.org/viewarticle/496670\\_2](http://www.medscape.org/viewarticle/496670_2), pristup 4.02.2014.

113. Brook RA, Forsythe A, Smeeding JE, Lawrence Edwards N: Chronic gout: epidemiology, disease progression, treatment and disease burden. *Curr Med Res Opin* 2010; 26:2813-21.
114. Riches PL, Wright AF, Ralston SH: Recent insights into the pathogenesis of hyperuricaemia and gout. *Human Molecular Genetics*, 2009;18:177-184.
115. Choi HK: A prescription for lifestyle change in patients with hyperuricemia and gout. *Current Opinion in Rheumatology* 2010;109-116.
116. Choi HK, Atkinson K, Karlson EW, Willett W, Curhan G: Purine-rich foods, dairy and protein intake, and the risk of gout in men. *N Engl J Med* 2004;350:1093-103.
117. Williams PT. Effects of diet, physical activity and performance, and body weight on incident gout in ostensibly healthy, vigorously active men. *Am J Clin Nutr* 2008; 87:1480-1487.
118. Hyon KC, Atkinson K, Karlson EW, Willett W, Curhan G: Purine - Rich Foods, Dairy and Protein Intake, and the Risk of Gouth in Men. *N Engl J Med* 2004;350:1093-103.
119. Rothenbacher D, Primatesta P, Ferreira A, Cea-Soriano L, García Rodríguez L: Frequency and risk factors of gout flares in a large population-based cohort of incident gout. *Rheumatology* 2011;50:973-981.
120. Choi H, Curhan G: Coffee, Tea, and Caffeine Consumption and Serum Uric Acid Level: The Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Arthritis&Reumatism* 2007;57:816-821.
121. Gao X, Curhan G, Forman JP, Ascherio A, Choi HK: Vitamin C intake and serum uric acid concentration in men. *J Rheumatol.* 2008;35:1853-8.
122. Choi JW, Ford ES, Gao X, Choi HK. Sugar-sweetened soft drinks, diet soft drinks, and serum uric acid level: the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Arthritis Rheum* 2008; 59:109-116.

123. Jerončić I, Mulić R, Klišmanić Z, Rudan D, Boban M, Zgaga L: Interactions Between Genetic variants in Glukose Transporter Type 9 (SLC2A9) and Dietary Habits in Serum Uric Acid Regulation. *Croat Med J* 2010;51:40-47.
124. Gunjača G, Boban M, Pehlić M, Zemunik T, Budimir D, Kolčić I, Lauc G, Rudan I, Polašek O: Predictive value of 8 Genetic Loci for Serum Uric Acid Concentration. *Croat Med J* 2010;51:23-31.
125. Van der Harst P, Bakker SJL, De Boer RA, Wolffenbuttel BHR, Johnson T, Caulfield MJ, Navis G: Replication of the five novel loci for uric acid concentrations and potential mediating mechanisms. *Human Molecular Genetics* 2010;19:387-395.
126. Charles BA, Shriner D, Doumatey A, Chen G, Zhou J, Huang H, Herbert A, Gerry NP, Michael F, Christman MF, Adeyemo A, Rotimi ChN: A genome-wide association study of serum uric acid in African Americans. *BMC Medical Genomics* 2011, 4:17. Dostupno na: <http://www.biomedcentral.com/1755-8794/4/17>, pristup 09.01.2014.
127. Dehghan A, Köttgen A, Yang Q, Hwang ShJ, Kao L, Rivadeneira F, Boerwinkle E, Daniel Levy D, Hofman A, Astor BC, Benjamin EJ, Van Duijn CM, Witteman JC, Coresh J, Fox CS: Association of three genetic loci with uric acid concentration and risk of gout: a genome-wide association study. *Lancet* 2008; 372:1953-196.
128. Guan M, Zhou D, Ma W, Chen Y, Zhang J, Zou H: Association of an intronic SNP of SLC2A9 gene with serum uric acid levels in the Chinese male Han population by high-resolution melting method. *Clin Rheumatol* 2011; 30:29–35.
129. Tabara Y, Kohara K, Kawamoto R, Hiura Y, Nishimura K, Morisaki T, Kokubo Y, Okamura T, Tomoiike H, Iwai N, Miki T: Association of Four Genetic Loci with Uric Acid Levels and Reduced Renal Function: The J-SHIP Suita Study. *Am J Nephrol* 2010;32:279-286.

- 130.Brandstatter A,Kiechl S, Kollerits B, Hunt SC, Heid IM, Coassin S, Willeit J, Adams TD, Illig T, Hopkins PN, Kronenberg F: Sex-Specific Association of the Putative Fructose Transporter SLC2A9 Variants With Uric Acid Levels Is Modified by BMI. *Diabetes Care* 2008;31:1662-1667.
- 131.So A, Thorens B: Uric acid transport and disease. *The Journal of Clinical Investigation* 2010;120:1791-1799.
- 132.Taniguchi A, Kamatani N. Control of renal uric acid excretion and gout. *Curr Opin Rheumatol* 2008;20:192-197.
- 133.Dehghan A, Kottgen A, Yang Q, Hwang SJ, Kao WHL: Association of three genetic loci with uric acid concentration and risk of gout: a genome-wide association study. *Lancet* 2008;372:1953-1961.
- 134.Kolz M, Johnson T, Sanna S, Teumer A, Vitart V, Perola M, Mangino M, Albrecht E: Meta-Analysis of 28,141 Individuals Identifies Common Variants within Five New Loci That Influence Uric Acid concentrations. *PLOS Genetics* 2009;5:1-10.
- 135.During A, Giner Ch, Mehta D, Golhke H, Prokisch H: SLC2A9 influence uric acid concentrations with pronounced sex- specific effects. *Nature genetics* 2008;40:430-436.
- 136.Caulfield MJ, Munroe P, Witkovska K, Charchar FJ, Doblado M: SLC2A9 Is a High-Capacity Urate Transporter in Humans. *PLOS Medicine* 2008;5:1509-1523.
- 137.Niskanen LK, Laaksonen DA, Nyssönen K, Alfthan G, Lakka HM, Lakka T, Salonen JT: Uric Acid Level as a Risk Factor for Cardiovascular and All-Cause Mortality in Middle-aged MenA Prospective Cohort Study. *Arch Intern Med.* 2004;164:1546-1551.
- 138.Choi HK, Atkinson K, Karlson EW, Willett W, Curhan G: Alcohol intake and risk of incident gout in men: a prospective study. *Lancet.* 2004;363:1277-81.
- 139.Alcohol and gout. Dostupno na:  
<http://www.medicine.ox.ac.uk/bandolier/booth/gout/alcgout.html>, pristup 4.02.2014.

140. CJ Eastmond et al: The effects of alcoholic beverages on urate metabolism in gout sufferers. *British Journal of Rheumatology* 1995;34:756-759.
141. CR Sharpe: A case-control study of alcohol consumption and drinking behaviour in patients with acute gout. *Canadian Medical Association Journal* 1984;131:563-567.
142. Boban M, Modun D: Uric acid and antioxidant effects of wine. *Croat Med J.* 2010;51:16-22.
143. Modun D, Music I, Katalinic V, Dujic Z, Boban M: Glycerol and ethanol in red wine are responsible for urate-related increases in plasma antioxidant capacity. *Clin Chem.* 2006;52:785-7.
144. Sever S, Weinstein DA, Wolfsdorf JI, Gedik R, Schaefer EJ: Glycogen storage disease type Ia: Linkage of glucose, glycogen, lactic acid, triglyceride, and uric acid metabolism. *J Clin Lipidol.* 2012;6:596-600.
145. Williams PT: Effects of diet, physical activity and performance, and body weight on incident gout in ostensibly healthy, vigorously active men. *Am J Clin Nutr.* 2008; 87:1480-7.
146. Terkeltaub R: Gout and Other Crystal Arthropathies. *Medical* 2011;72.  
Dostupno na: [books.google.hr/books?isbn=1437728642](https://books.google.hr/books?isbn=1437728642), pristup 4.02.2014.
147. Chen SY, Chen CL, Shen ML, Kamatani N: Clinical features of familial gout and effects of probable genetic association between gout and its related disorders. *Metabolism* 2001;50:1203-1207.
148. Blackshear JL, Davidman M, Thomas Stillman MT: Identification of Risk for Renal Insufficiency From Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs. *Arch Intern Med.* 1983;143:1130-1134.
149. Wedeen RP., Bull N Y: Irregular gout: humoral fantasy or saturnine malady. *Acad Med.* 1984;60:969-79

150. Couper RT: The severe gout of Emperor Charles V. *N Engl J Med.* 2006;355:1935-6.
151. Sánchez-Fructuoso AI, Torralbo A, Arroyo M, Luque M, Ruilope LM, Santos JL, Cruceyra A, Barrientos A: Occult lead intoxication as a cause of hypertension and renal failure. *Nephrol Dial Transplant.* 1996;11:1775-80.
152. Loghman-Adham M: Renal effects of environmental and occupational lead exposure. *Environ Health Perspect.* 1997;105:928-38.
153. Hunt T: Digestive disease: the changing scene. *Br Med J.* 1972;23:689-94.
154. Pascual E, Perdiguero M: Gout, diuretics and the kidney. *Ann Rheum Dis.* 2006;65:981-2.
155. So A, De Smedt T, Revaz S, Tschopp J. A pilot study of IL-1 inhibition by anakinra in acute gout. *Arthritis Res Ther.* 2007;9:28.
156. Getting SJ, Lam CW, Chen AS, Grieco P, Perretti M: Melanocortin 3 receptors control crystal-induced inflammation. *FASEB J.* 2006;20:2234-41.
157. Shogan CP, Folio CL. Tophaceous gout and rheumatoid arthritis awareness. *J Am Osteopath Assoc.* 2008;108:352.
158. Avram Z, Krishnan E. Hyperuricaemia--where nephrology meets rheumatology. *Rheumatology (Oxford)* 2008;47:960-4.
159. Fuldeore MJ, Riedel AA, Zarotsky V, Pandya BJ, Dabbous O, Krishnan E. Chronic kidney disease in gout in a managed care setting. *BMC Nephrol.* 2011;12:36.
160. El-Zawawy H, Mandell BF. Managing gout: how is it different in patients with chronic kidney disease? *Cleve Clin J Med.* 2010;77:919-28.
161. Rule AD, Bergstralh EJ, Melton LJ 3rd, Li X, Weaver AL, Lieske JC. Kidney stones and the risk for chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2009;4:804-11.
162. Cohen SD, Kimmel PL, Neff R, Agodoa L, Abbott KC. Association of incident gout and mortality in dialysis patients. *J Am Soc Nephrol.* 2008;19:2204-10.

- 163.Sorensen LF. Gout secondary to chronic renal disease: studies on urate metabolism. *Ann Rheum Dis.* 1980;39:424-30.
- 164.Daria B, Pillinger M. The year in gout: 2010-2011.*Bull NYU Hosp Jt Dis.* 2011;69:257-263.
- 165.Pillinger MH, Goldfarb DS, Keenan RT: Gout and its comorbidities. *Bull NYU Hosp Jt Dis.* 2010;68:199-203.
- 166.Vitart V, Rudan I, Hayward C, et al: SLC2A9 is a newly identified urate transporter influencing serum urate concentration, urate excretion and gout. *Nat Genet* 2008;40:437-42.
- 167.Jin M, Yang F, Yang I, Yin Y, Luo JJ, Wang H, Yang XF: Uric acid, hyperuricemia and vascular diseases. *Front Biosci.* 2012;17:656-69.
- 168.Lottmann K, Chen X, Schädlich PK. Association between gout and all-cause as well as cardiovascular mortality: a systematic review. *Curr Rheumatol Rep.* 2012;14:195-203.
- 169.Johnson RJ, Lanasa MA, Gaucher EA: Uric acid: a danger signal from the RNA world that may have a role in the epidemic of obesity, metabolic syndrome, and cardiorenal disease: evolutionary considerations. *Semin Nephrol.* 2011;31:394-9.
- 170.Kanbay M, Solak Y, Dogan E, Lanasa MA, Covic A: Uric acid in hypertension and renal disease: the chicken or the egg? *Blood Purif.* 2010;30:288-95.
- 171.Short RA, Johnson RJ, Tuttle KR, Abate N. Uric acid, microalbuminuria and cardiovascular events in high-risk patients. *Am J Nephrol* 2005;25:36-44.
- 172.Niskanen LK, Laaksonen DE, Nyyssonen K, et al. Uric acid level as a risk factor for cardiovascular and all-cause mortality in middle-aged men - A prospectiv cohort study. *Archives of Internal Medicine* 2004;164:1546-51.



173. Niskanen L, Laaksonen DE, Lindstrom J, et al. Serum uric acid as a harbinger of metabolic outcome in subjects with impaired glucose tolerance: the Finnish Diabetes Prevention Study. *Diabetes Care* 2006;29:709-11.
174. Coutinho TdA, Turner ST, Peyser PA, Bielak LF, Sheedy PF, Kullo IJ. Associations of serum uric acid with markers of inflammation, metabolic syndrome, and subclinical coronary atherosclerosis. *Am J Hypertens* 2007;20:83-9.
175. Bray GA: Fructose: pure, white, and deadly? Fructose, by any other name, is a health hazard. *J Diabetes Sci Technol.* 2010;4:1003-7.
176. Maliavskaia SI, Lebedev A, Ternovskaia VA. Chronic asymptomatic hyperuricemia as a marker of atherogenic risk in children *Kardiologiya* 2007;47:62-6.
177. Krishnan E: Inflammation, oxidative stress and lipids: the risk triad for atherosclerosis in gout. *Rheumatology (Oxford).* 2010;49:1229-38.
178. Choi HK, Ford ES. Prevalence of the metabolic syndrome in individuals with hyperuricemia. *American Journal of Medicine* 2007;120:442-7.
179. Chen LY, Zhu WH, Chen ZW, et al. Relationship between hyperuricemia and metabolic syndrome. *J Zhejiang Univ Sci B* 2007;8:593-8.
180. Zhang W, Doherty M, Pascual E, Bardin T, Barskova V, Conaghan P, Gerster J, Jacobs J, Leeb B, Lioté F, McCarthy G, Netter P, Nuki G, Perez-Ruiz F, Pignone A, Pimentão J, Punzi L, Roddy E, Uhlig T, Zimmermann-Gòrska I; EULAR Standing Committee for International Clinical Studies Including Therapeutics: EULAR evidence based recommendations for gout. Part I: Diagnosis. Report of a task force of the Standing Committee for International Clinical Studies Including Therapeutics (ESCISIT). *Ann Rheum Dis*, 2006;65:1301-11.
181. Chen LX, Schumacher HR: Gout: can we create an evidence-based systematic approach to diagnosis and management? *Elsevier* 2006;20:673-684.

- 182.Singh JA: Advances in gout: some answers, more questions. *Arthritis Research & Therapy* 2010;12:136. Dostupno na: <http://arthritis-research.com/content/12/5/136>, pristup 4.02.2014.
- 183.Schlesinger N: Diagnosis of Gout: Clinical, Laboratory and Radiologic Findings. *The American journal of managed care* 2005;11:443-450.
- 184.Khoo JN, Tan SC: MR imaging of tophaceous gout revisited. *Singapore Med J*. 2011;52:840-6.
- 185.Swan A, Amer H, Dieppe P: The value of synovial fluid assays in the diagnosis of joint disease: a literature survey. *Ann Rheum Dis*. 2002;61:493-8.
- 186.Glazebrook KN, Guimarães LS, Murthy NS, Black DF, Bongartz T, Manek NJ, Leng S, Fletcher JG, McCollough CH: Identification of intraarticular and periarticular uric acid crystals with dual-energy CT: initial evaluation. *Radiology*. 2011;261:516-24.
- 187.Lumbreras B, Pascual E, Frasquet J, González-Salinas J, Rodríguez E, Hernández-Aguado I: Analysis for crystals in synovial fluid: training of the analysts results in high consistency. *Ann Rheum Dis*. 2005;64:612-5.
- 188.Selvi E, Manganeli S, Catenaccio M, De Stefano R, Frati E, Cucini S, Marcolongo R: Diff Quik staining method for detection and identification of monosodium urate and calcium pyrophosphate crystals in synovial fluids. *Ann Rheum Dis*. 2001;60:194-8.
- 189.Ivorra J, Rosas J, Pascual E. Most calcium pyrophosphate crystals appear as non-birefringent. *Ann Rheum Dis*. 1999;58:582-4.
- 190.Dieppe P, Swan A: Identification of crystals in synovial fluid. *Ann Rheum Dis*. 1999;58:261-3.
- 191.Von Essen R, Hölttä AM, Pikkarainen R: Quality control of synovial fluid crystal identification. *Ann Rheum Dis*. 1998;57:107-9.

192. McGill NW, McGill VG. Quality assurance for synovial fluid examination for crystals: an improved method. *Ann Rheum Dis.* 1997;56:504-6.
193. Peláez-Ballestas I, Hernández Cuevas C, Burgos-Vargas R, Hernández Roque L, Terán L, Espinoza J, Esquivel-Valerio JA, Goycochea-Robles MV, Aceves FJ, Bernard AG, Ventura L, Shumsky C, Hernández Garduño A, Vázquez-Mellado J: Diagnosis of chronic gout: evaluating the american college of rheumatology proposal, European league against rheumatism recommendations, and clinical judgment. *J Rheumatol.* 2010;37:1743-8.
194. Perkins P, Jones AC: Gout. *Ann Rheum Dis.* 1999;58:611-7.
195. Li EK: Gout: a review of its aetiology and treatment. *Hong Kong Med J.* 2004;10:261-70.
196. Pillinger MH, Goldfarb DS, Keenan RT: Gout and its comorbidities. *Bull NYU Hosp Jt Dis.* 2010;68:199-203.
197. Teng GG, Tong CY, How CH, Goh LH: The unwelcome visitor. *Singapore Med J.* 2012;53:508-11.
198. Bhansing KJ, van Bon L, Janssen M, Radstake TR: Gout: a clinical syndrome illustrated and discussed. *Neth J Med.* 2010;68:352-9.
199. Schlesinger N: Diagnosis of gout: clinical, laboratory, and radiologic findings. *Am J Manag Care.* 2005;11:443-50.
200. Thiele RG, Schlesinger N: Diagnosis of gout by ultrasound. *Rheumatology (Oxford).* 2007;46:1116-21.
201. Desai MA, Peterson JJ, Garner HW, Kransdorf MJ: Clinical utility of dual-energy CT for evaluation of tophaceous gout. *Radiographics.* 2011;31:1365-75.
202. Aaron T: Gout: An Update. *Am Fam Physician.* 2007;76:801-808.
203. Dubchak N, Falasca GF: New and improved strategies for the treatment of gout. *Int J Nephrol Renovasc Dis.* 2010;3:145-66.
204. Laubscher T, Dumont Z, Regier L, Jensen B: Taking the stress out of managing gout.

205. Can Fam Physician. 2009;55:1209-12.
206. Pillinger MH, Keenan RT: Update on the management of hyperuricemia and gout. Bull NYU Hosp Jt Dis. 2008;66:231-9.
207. American Academy of family Physicians: Information from your family doctor. Gout: what you should know. Am Fam Physician. 2007;76:811-2.
208. Jordan KM, Cameron JS, Snaith M, Zhang W, Doherty M, Seckl J, Hingorani A, Jaques R, Nuki G; British Society for Rheumatology and British Health Professionals in Rheumatology Standards, Guidelines and Audit Working Group (SGAWG): British Society for Rheumatology and British Health Professionals in Rheumatology guideline for the management of gout. Rheumatology (Oxford). 2007;46:1372-4.
209. Li EK: Gout: a review of its aetiology and treatment. Hong Kong Med J. 2004;10:261-70.
210. Primatesta P, Plana E, Rothenbacher D: Gout treatment and comorbidities: a retrospective cohort study in a large US managed care population. BMC Musculoskelet Disord. 2011;12:103.
211. Perez-Ruiz F: Treating to target: a strategy to cure gout. Rheumatology (Oxford). 2009;48 2:9-14.
212. Pittman JR, Bross MH: Diagnosis and management of gout. Am Fam Physician. 1999;59:1799-806.
213. Rider TG, Jordan KM: The modern management of gout. Rheumatology (Oxford). 2010;49:5-14.
214. Burns CM, Wortmann RL: Latest evidence on gout management: what the clinician needs to know. Ther Adv Chronic Dis. 2012;3:271-86.
215. Harrold LR, Andrade SE, Briesacher B, Raebel MA, Fouayzi H, Yood RA, Ockene IS: The dynamics of chronic gout treatment: medication gaps and return to therapy. Am J Med. 2010;123:54-9.

216. Singh JA, Hodges JS, Toscano JP, Asch SM: Quality of care for gout in the US needs improvement. *Arthritis Rheum.* 2007;57:822-9.
217. Cannella AC, Mikuls TR: Understanding treatments for gout. *Am J Manag Care.* 2005;11:451-8.
218. Khanna PP, Perez-Ruiz F, Maranian P, Khanna D: Long-term therapy for chronic gout results in clinically important improvements in the health-related quality of life: short form-36 is responsive to change in chronic gout. *Rheumatology (Oxford).* 2011;50:740-5.
219. Harrold LR, Andrade SE, Briesacher BA, Raebel MA, Fouayzi H, Yood RA, Ockene IS: Adherence with urate-lowering therapies for the treatment of gout. *Arthritis Res Ther.* 2009;11:46.
220. Winzenberg T, Zochling J: Colchicine-what is its place in the management of acute gout? *Aust Fam Physician.* 2007;36:529-30.
221. Mandell BF, Edwards NL, Sundy JS, Simkin PA, Pile JC: Preventing and treating acute gout attacks across the clinical spectrum: a roundtable discussion. *Cleve Clin J Med.* 2010;77:2-25.
222. Perry ME, Madhok R: Treatment failure gout: failure to treat? *Rheumatology (Oxford).* 2010;49:2233-4.
223. Terkeltaub R: Update on gout: new therapeutic strategies and options. *Nat Rev Rheumatol.* 2010;6:30-8.
224. Janssens HJ, Lucassen PL, Van de Laar FA, Janssen M, Van de Lisdonk EH: Systemic corticosteroids for acute gout. *Cochrane Database Syst Rev.* 2008;(2):CD005521.
225. Roddy E, Zhang W, Doherty M: Concordance of the management of chronic gout in a UK primary-care population with the EULAR gout recommendations. *Ann Rheum Dis.* 2007;66:1311-5.

226. Annemans L, Spaepen E, Gaskin M, Bonnemaire M, Malier V, Gilbert T, Nuki G: Gout in the UK and Germany: prevalence, comorbidities and management in general practice 2000-2005. *Ann Rheum Dis.* 2008.
227. Stamp LK, O'Donnell JL, Zhang M, James J, Frampton C, Barclay ML, Chapman PT: Using allopurinol above the dose based on creatinine clearance is effective and safe in patients with chronic gout, including those with renal impairment. *Arthritis Rheum.* 2011;63:412-21.
228. Goicoechea M, de Vinuesa SG, Verdalles U, Ruiz-Caro C, Ampuero J, Rincón A, Arroyo D, Luño J. Effect of allopurinol in chronic kidney disease progression and cardiovascular risk. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2010;5:1388-93.
229. Reinders MK, Jansen TL: Management of hyperuricemia in gout: focus on febuxostat. *Clin Interv Aging.* 2010;5:7-18.
230. Bisht M, Bist SS: Febuxostat: a novel agent for management of hyperuricemia in gout. *Indian J Pharm Sci.* 2011;73:597-600.
231. Dalbeth N, House ME, Horne A, Petrie KJ, McQueen FM, Taylor WJ: Prescription and dosing of urate-lowering therapy, rather than patient behaviours, are the key modifiable factors associated with targeting serum urate in gout. *BMC Musculoskelet Disord.* 2012;13:174.
232. Silverman W, Locovei S, Dahl G: Probenecid, a gout remedy, inhibits pannexin 1 channels. *Am J Physiol Cell Physiol* 2008;295:761-767.
233. Kanbara A, Hakoda M, Seyama I: Urine alkalization facilitates uric acid excretion. *Nutr J.* 2010;9:45.
234. Williams PT: Effects of diet, physical activity and performance, and body weight on incident gout in ostensibly healthy, vigorously active men. *Am J Clin Nutr.* 2008;87:1480-7.

- 235.Saag KG, Choi H. Epidemiology, risk factors, and lifestyle modifications for gout. *Arthritis Res Ther.* 2006;8:2.
- 236.Fam AG: Gout: excess calories, purines, and alcohol intake and beyond. Response to a urate-lowering diet. *J Rheumatol.* 2005;32:773-7.
- 237.Gunawardena H, Churn P, Blake DR: Running for gout research. *Rheumatology (Oxford).* 2005;44:1073-4.
- 238.Fam AG: Gout, diet, and the insulin resistance syndrome. *J Rheumatol.* 2002;29:1350-5.
- 239.Roddy E: Hyperuricemia, gout, and lifestyle factors. *J Rheumatol.* 2008;35:1689-91.
- 240.<http://www.korcula.hr/o-korculi/povijesni-pregled/>, pristup: 12.02.2014.
- 241.[www.hrsvijet.net](http://www.hrsvijet.net) › naslovnica › Povijesni identitet, pristup: 12.02.2014.
- 242.[www.korcula-lodging.t-com.hr/korculapovijest.htm](http://www.korcula-lodging.t-com.hr/korculapovijest.htm) pristup: 12.02.2014.
- 243.Vučica I, Smoljanović A. Stanovništvo u dobi 65 i više godina Splitsko–dalmatinske županije. Dostupno na: [www.hcjz.hr/old/clanak.php?id=12838](http://www.hcjz.hr/old/clanak.php?id=12838), pristupljeno 4.02.2014.
- 244.Popis stanovništva, kućanstva i stanova 2001., Stanovništvo prema migracijskim obilježjima, po naseljima, DZS, Zagreb. Dostupno na: [http://www.dzs.hr/Hrv/censuses/Census2001/census\\_met.htm](http://www.dzs.hr/Hrv/censuses/Census2001/census_met.htm), pristup 4.02.2013.
- 245.[www.tz-vis.hr/Grad-Vis/Povijest.aspx?ban=96&fcat=](http://www.tz-vis.hr/Grad-Vis/Povijest.aspx?ban=96&fcat=), pristup 4.02.2014.
- 246.[www.tz-vis.hr/Default.aspx?sifraStranica=107](http://www.tz-vis.hr/Default.aspx?sifraStranica=107), pristup: 12.02.2014.
- 247.Smoljanović A, Smoljanović M. Što pokazuju prvi rezultati popisa stanovništva 2011. godine za stanovništvo Splitsko-dalmatinske županije? Dostupno na: <http://www.nzjz-split.hr/userfiles/POPIS2011.pdf>, pristup 4.02.2013.
- 248.Rudan I, Marušić A, Janković S, Rotim K, Boban M, Lauc G et al. "10001 Dalmatians": Croatia launches its national biobank. *Croatian Medical Journal* 2009;1:4-6.

249. Zemunik T, Boban M, Lauc G, Janković S, Rotim K, Vataavuk K et al. Genome-wide association study of biochemical traits in Korcula Island, Croatia. *Croatian medical journal* 2009;1:23-33.
250. Max Hamburger et al. 2011 Recommendations for the Diagnosis and Management of Gout. Dostupno na: [http://www.lakehosting.com/mandel/Hamburger\\_GOUTsecure.pdf](http://www.lakehosting.com/mandel/Hamburger_GOUTsecure.pdf)  
Pristupljeno: 12.02.2014.
251. Lawlor DA, Adamson J, Ebrahim S. Performance of the WHO Rose angina questionnaire in post-menopausal women: Are all of the questions necessary? *J Epidemiol Community Health* 2003;57:538-541.  
Dostupno na: <http://jech.bmj.com/content/57/7/538.full>, pristup: 12.02.2014
252. Burney PG, Luczynska C, Chinn S, Jarvis D. The European Community Respiratory Health Survey. *European respiratory journal* 1994;7:954-960
253. Goldberg DP, Hillier VF. A scaled version of the General Health Questionnaire. *Psychological Medicine* 1979;9:139-145.
254. Sanderman R, Arrindell WA, Ranchor – Groningen AV. Eysenck Personality Questionnaire, EPQ. Dostupno na:  
[http://www.rug.nl/research/share/research/tools/handleiding\\_epq2edruk.pdf](http://www.rug.nl/research/share/research/tools/handleiding_epq2edruk.pdf), pristup 4.02.2013.
255. Roenneberg et al. Munich Chronotype Questionnaire (MCTQ).  
Dostupno na: [link.springer.com/.../10.1007%20- - -](http://link.springer.com/.../10.1007%20- - -), pristup 4.02.2013.
256. A new method for measuring daytime sleepiness: the Epworth sleepiness scale.  
Dostupno na : <http://epworthsleepinessscale.com/wp-content/uploads/2008/12/a-new-method-for-measuring-daytime-sleepiness-the-epworth-sleepiness-scale2.pdf>, pristup 4.02.2013.



257. Netzer CN, Stoohs RA, Netzer CM, Clark K, Strohl KP. Using the Berlin Questionnaire To Identify Patients at Risk for the Sleep Apnea Syndrome *Ann Intern Med*. 1999;131(7):485-491.
258. McCord JM. The of free radicals and oxidative stress. *Am J Med* 2000;108(8):652-9.
259. Benzie IF. Evolution of antioxidant defence mechanisms. *Eur J Nutr* 2000;39:53-61.
260. Stocker R, Keaney JF, Jr. Role of oxidative modifications in atherosclerosis. *Physiol Rev* 2004;84:1381-478.
261. Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90:7915-22.
262. Gille G, Sigler K. Oxidative stress and living cells. *Folia Microbiol (Praha)* 1995;40:131-52.
263. Babior BM, Lambeth JD, Nauseef W. The neutrophil NADPH oxidase. *Arch Biochem Biophys* 2002;397:342-4.
264. Lassegue B, Clempus RE. Vascular NAD(P)H oxidases: specific features, expression, and regulation. *Am J Physiol Regul Integr Com Physiol* 2003;285:277-97.
265. Shah SV. The role of reactive oxygen metabolite in glomerular disease. *Annu Rev Physiol* 1995;57:245-62.
266. Mohan IK, Das UN. Oxidant stress, anti-oxidants and essential fatty acids in systemic lupus erythematosus. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1997;56:193-8.
267. Gonzalez PK, Zhuang J, Doctrow SR, Malfroy B, Benson PF, Menconi MJ, et al. Role of oxidant stress in the adult respiratory distress syndrome: evaluation of a novel antioxidant strategy in a porcine model of endotoxin-induced acute lung injury. *Shock* 1996;6:23-6.
268. Omar BA, McCord JM. Interstitial equilibration of superoxide dismutase correlates with its protective effect in the isolated rabbit heart. *J Mol Cell Cardiol* 1991;23:149-59.

269. Baker K, Marcus CB, Huffman K, Kruk H, Malfroy B, Doctrow SR. Synthetic combined superoxide dismutase/catalase mimetics are protective as a delayed treatment in a rat stroke model: a keyrole for reactive oxygen species in ischemic brain injury. *J Pharmacol Exp Ther* 1998;284:215-21.
270. Parks DA, Bulkley GB, Granger DN, Hamilton SR, McCord JM. Ischemic injury int he cat small intestine: role of superoxide radicals. *Gastroenterology* 1982;82:9-15.
271. Toshniwal PK, Zarling EJ. Evidence for increased lipid peroxidation in multiple sclerosis. *Neurochem Res* 1992;17:205-7.
272. Choen G. Oxy-radical toxicity in catecholamine neurons. *Neurotoxicology* 1984;5:77-82.
273. Lyras L, Cairns NJ, Jenner P, Haliwell B. An assessment of oxidative damage to proteins, lipids, and DNA in brain from patients with Alzheimer's disease. *J Neurochem* 1997;68:2061-9.
274. Kerr S, Brosnan MJ, McIntyre M, Reid JL, Dominiczak Af, Hamilton CA. Superoxide anion production is increased in a model of genetic hypertension: role oft he endothelium. *Hypertension* 1999;33:1353-8.
275. Flores SC, Marecki JC, Harper KP, Bose SK, Nelson SK, McCord JM. Tat protein of human immunodeficiency virus type 1 represses expression of manganese superoxide dismutase in HeLa cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90:7632-6.
276. Waren JS, Yabroff KR, Mandel MD, Johnson KJ, Ward PA. Role of O<sub>2</sub> – in neutrophil recruitent into sites of dermal and pulmonary vasculitis. *Free Radic Biol Med* 1990;8:163-72.
277. McCord JM. Free radicals and inflammation: protection of synovial fluid by superoxide dismutase. *Science* 1974;185:529-31.

278. Meneshian A, Bulkley GB. The physiology of endothelial xanthine oxidase: from urate catabolism to reperfusion injury to inflammatory signal transduction. *Microcirculation* 2002;9:161-75.
279. Wallaert B, Aerts C, Gressier B, Gosset P, Voisin C. Oxidative inactivation of alpha 1-proteinase inhibitor by alveolar epithelial type II cells. *J Appl Physiol* 1993;75:2376-82.
280. McNally JS, Davis ME, Giddens DP, Saha A, Hwang J, Dikalov S, et al. Rule of xanthine oxidoreductase and NAD(P)H oxidase in endothelial superoxide production in response to oscillatory shear stress. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003;285:2290-7.
281. McCord JM. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *N Engl J Med* 1985;312:159-63.
282. Landmesser U, Dikalov S, Price SR, McCann L, Fukui T, Holland SM, et al. Oxidation of tetrahydrobiopterin leads to uncoupling of endothelial cell nitric oxide synthase in hypertension. *J Clin Invest* 2003;111:1201-9.
283. Laursen JB, Somers M, Kurz S, McCann L, Warnholtz A, Freeman BA, et al. Endothelial regulation of vasomotion in apoE-deficient mice: implications for interactions between peroxynitrite and tetrahydrobiopterin. *Circulation* 2001;103:1282-8.
284. Zorov DB, Filburn CR, Klotz LO, Zweier JL, Sollott SJ. Reactive oxygen species (ROS)-induced ROS release: a new phenomenon accompanying induction of the mitochondrial permeability transition in cardiac myocytes. *J Exp Med* 2000;192:1001-14.
285. Landmesser U, Drexler H. Toward understanding of extracellular superoxide dismutase regulation in atherosclerosis: a novel role of uric acid? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;22:1367-8.
286. Stralin P, Karlsson K, Johansson BO, Marklund SL. The interstitium of the human arterial wall contains very large amounts of extracellular superoxide dismutase. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995;15:2032-6.

- 287.Landmesser U, Spiekermann S, Dikalov S, Targe H, Wilke R, Kohler C, et al. Vascular oxidative stress and endothelial dysfunction in patients with chronic heart failure: role of xanthine-oxidase and extracellular superoxide dismutase. *Circulation* 2002;106:3073-8.
- 288.Fisher D, Rossa S, Landmesser U, Spiekermann S, Engberding N, Hornig B et al. Endothelial dysfunction in patients with chronic heart failure is independently associated with increased incidence of hospitalization, cardiac transplantation, or death. *Eur Heart J* 2005;26:65-9.
- 289.Sharma MK, Buettner GR. Interaction of vitamin C and vitamin E during free radical stress in plasma: an ERS study. *Free Radic Biol Med* 1993;14(6):649-53.
- 290.Brigelius-Flohe R, Traber MG. Vitamin E: function and metabolism. *Faseb J* 1999;13:1145-55.
- 291.Watanabe S, Kang DH, Feng L, Nakagawa T, Kanellis J, Lan H, et al. Uric acid, hominoid evolution, and the pathogenesis of salt-sensitivity. *Hypertension* 2002;40:355-60.
- 292.Ames BN, Cathcart R, Schwiers E, Hochstein P. Uric acid provide an antioxidant defense in humans against oxidant- and radical-caused aging and cancer: a hypothesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981;78:6858-62.
- 293.Maples KR, Mason RP. Free radical metabolite of uric acid. *J Biol Chem* 1988;263:1709-12.
- 294.Davies KJ, Sevanian A, Muakkassah-Kelly SF, Hochstein P. Uric acid-iron ion complexes. A new aspect of the antioxidant functions of uric acid. *Biochem J* 1986;235:747-54.
- 295.Sevanian A, Davies KJ, Hochstein P. Conservation of vitamin C by uric acid in blood. *J Free Radic Biol Med* 1985;1:117-24.

- 296.Hink HU, Santanam N, Dikalov S, McCann L, Nguyen AD, Parthasarathy S, et al. Peroxidase properties of extracellular superoxide dismutase: role of uric acid in modulating in vivo activity. *Arterioscler Thromb vasc Biol* 2002;22:1402-8.
- 297.Nieto FJ, iribarren C, Gross MD, Comstock GW, Cutler RG. Uric acid and serum antioxidant capacity: a reaction to atherosclerosis? *Atherosclerosis* 2000;148:131-9.
- 298.Hillker AJ, Duyf B, Evans D, Phillips JP. Urate-null rosy mutants of *Drosophila melanogaster* are hypersensitive to oxygen stress. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992;89:4343-7.
- 299.Waring WS, McKnight JA, Webb DJ, Maxwell SR. Uric acid restores endothelial function in patients with type 1 diabetes and regular smokers. *Diabetes* 2006;55:3127-32.
- 300.Waring WS, Webb DJ, Maxwell SR. Systemic uric acid administration increases serum antioxidant capacity in healthy volunteers. *J Cardiovasc Pharmacol* 2001;38:365-71.
- 301.Waring WS, Convery A, Mishra V, Shenkin A, Webb DJ, Maxwell SR. Uric acid reduces exercise-induced oxidative stress in healthy adults. *Clin Sci (Lond)* 2003;32:31-9.
- 302.Mikami T, Yoshino Y, Ito A. Does a relationship exist between the urate pool in the body and lipid peroxidation during exercise? *Free Radi cRes* 2000;32:31-9.
- 303.Biasi F, Bosco M, Chiappino I, Chiarpotto E, Lanfranco G, Ottobrelli A et al. Oxidative damage in human liver transplanted. *Free Radic Biol Med* 1995;19:311-7.
- 304.Dianzani MU. Lipid peroxidation in ethanol poisoning: a critical reconsideration. *Alcohol Alcohol* 1985;20:161-73.
- 305.Asami S, Manabe H, Miyake J, Tsurudome Y, Hirano T, Yamaguchi R, et al. Cigarette smoking induces an increase in oxidative DNA damage, 8-hydroxydeoxyguanosine, in a central site of the human lung. *Carcinogenesis* 1997;18:1763-6.
- 306.Car S. Serumska koncentracija mokraćne kiseline i ishod akutnog koronarnog sindroma (doktorska disertacija) Zagreb: Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu; 2012.

- 307.Edwards LN The role of hyperuricemia in vascular disorders. *Curr Opin Rheumatol* 2009;21:132-137.
- 308.Roddy E, Doherty M: Gout. *Epidemiology of gout. Arthritis Res Ther.* 2010;12:223.
- 309.Whiteman M, Ketsawatsakul U, Halliwell B. A reassessment of the peroxynitrite scavenging activity of uric acid. *Ann N Y Acad Sci.* 2002; 962:242-259.
- 310.Muraoka S, Miura T. Inhibition by uric acid of free radicals that damage biological molecules. *Pharmacol Toxicol.* 2003;93:284-289.
- 311.Bagnati M, Perugini C, Cau C, Bordone R, Albano E, Bellomo G. When and why a water-soluble antioxidant becomes pro-oxidant during copper-induced low-density lipoprotein oxidation: a study using uric acid. *Biochem J.* 1999;340:143-152.
- 312.Patterson RA, Horsley ET, Leake DS. Prooxidant and antioxidant properties of human serum ultrafiltrates toward LDL: important role of uric acid. *J Lipid Res.*2003;44:512-521.
- 313.Santos CX, Anjos EI, Augusto O. Uric acid oxidation by peroxynitrite: multiple reactions, free radical formation, and amplification of lipid oxidation. *Arch Biochem Biophys.* 1999;372:285-294.
- 314.Kuzkaya N, Weissmann N, Harrison DG, Dikalov S. Interactions of peroxynitrite with uric acid in the presence of ascorbate and thiols: implications for uncoupling endothelial nitric oxide synthase. *Biochem Pharmacol.* 2005;70:343-354.
- 315.Dimitroula HV, Hatzitolios AI, Karvounis HI The role of uric acid in stroke: the issue remains unresolved. *Neurologist.* 2008;14:238-42.
- 316.Romanos E, Planas A.M, Amaro S, Chamorro A. Uric acid reduces brain damage and improves the benefits of rt-PA in a rat model of thromboembolic stroke. 2007; *J Cereb Blood Flow Metab*;27:14-20.

317. Chamorro A, Obach V, Cervera A et al. Prognostic significance of uric acid serum concentration in patients with acute ischemic stroke. *Stroke* 2002;33:1048-1052.
318. Amaro S, Soy D, Obach V, Cervera A et al: A pilot study of dual treatment with recombinant tissue plasminogen activator and uric acid in acute ischemic stroke. *Stroke* 2007;38:2173-2175.
319. Proctor P.H. Uric acid: neuroprotective or neurotoxic? *Stroke* 2008;39:88.
320. Johnson RJ, Kang DH, Feig D, Kivlighn S, Kanellis J, Watanabe S, Tuttle KR, Rodriguez-Iturabe B, Herrera-Acosta J, Mazzali M. Is there a pathogenetic role for uric acid in hypertension and cardiovascular and renal disease? *Hypertension* 2003; 41:1183-1190.
321. Squadrito GL, Cueto R, Splenser AE, Valvanidis A, Zhang H, Uppu RM, Pryor WA. Reaction of uric acid with peroxynitrite and implications for the mechanism of neuroprotection by uric acid. *Arch Biochem Biophys*. 2000;376:333-337.
322. Khosla UM, Zharikov S, Finch JL, et al. Hyperuricemia induces endothelial dysfunction. *Kidney Int* 2005;67:1739-42.
323. Berry CE, Hare JM: Xanthine oxidoreductase and cardiovascular disease: Molecular mechanism and pathophysiological implication. *J Physiol*. 2004;555:589-606.
324. George J, Carr E, Davies J, Belch JJ, Struthers A. High-dose allopurinol improves endothelial function by profoundly reducing vascular oxidative stress and not by lowering uric acid. *Circulation* 2006;114:2508-16.
325. Warring WS, Webb DJ, Maxwell SRJ. Effect of local hyperuricaemia on endothelial function in the human forearm vascular bed. *Br J Clin Pharmacol*. 2000;49:511.
326. Corry DB, Eslami P, Yamamoto K, Nyby MD, Makino H, Tuck ML. Uric acid stimulates vascular smooth muscle cell proliferation and oxidative stress via the vascular renin-angiotensin system. *J Hypertens* 2008;26:269-75.

- 327.Rao GN, Corson MA, Berk BC. Uric acid stimulates vascular smooth muscle cell proliferation by increasing platelet derived growth factor A-chain expression. *J Biol Chem* 1991;266:8604-8.
- 328.Kang DH, Han L, Ouyang X, et al. Uric acid causes vascular smooth muscle cell proliferation by entering cells via a functional urate transporter. *Am J Nephrol* 2005;25:425-33.
- 329.Kanellis J, Watanabe S, Li JH, Kang DH, Li P, Nakagawa T, Wemsley A, Sheik-Hamad D, Lan HY, Feng L, Johnson RJ. Uric acid stimulates MCP-1 production in vascular smooth muscle cells via MAPK and COX-2. *Hypertension*. 2003;41:1287-1293.
- 330.Busso N, So A. Mechanisms of inflammation in gout. *Arthritis Research & Therapy* 2010;12:206. Dostupno na: <http://arthritis-research.com/content/12/2/206>, pristup 4.02.2014.
- 331.Cepika AM. Toll-u slični receptori u patogenezi sistemskog eritemskog lupusa [Toll-like receptors in pathogenesis of systemic lupus erythematosus] (doktorska disertacija). Zagreb: Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu;2012.
- 332.Murphy K, Travers P, Walport M. *Janeway's immunobiology*: New York; 2008:20-50.
- 333.Thomas R. The balancing act of autoimmunity: central and peripheral tolerance versus infection control. *Int Rev Immunol*. 2010;29: 211-233.
- 334.Maldonado RA, von Andrian UH. How tolerogenic dendritic cells induce regulatory T cells. *Adv Immunol*. 2010;108:111-165.
- 335.Goodnow CC, Sprent J, Fazekas SG, Vinuesa CG. Cellular and genetic mechanisms of self tolerance and autoimmunity. *Nature*. 2005;435:590-597.
- 336.Ghaemi-Oskouie F, Shi Y. The Role of Uric Acid as an Endogenous Danger Signal in Immunity and Inflammation. *Curr Rheumatol Rep*. 2011; 13: 160–166.



- 337.Li L et al. Structural basis of toll-like receptor 3 signaling with double-stranded RNA. *Science*. 2008;320:379-381.
- 338.Manavalan B, Basith S, Choi S. Similar Structures but Different Roles - An Updated Perspective on TLR Structures. *Front Physio*. 2011;12:41.
- 339.Kawai T, Akira S. Toll-like receptors and their crosstalk with other innate receptors in infection and immunity. *Immunity*. 2011;34:637-650.
- 340.Martinez VF, Balada E, Ordi-Ros J., Vilardell-Tarres M. DNase 1 and systemic lupus erythematosus. *Autoimmunity Reviews*. 2008;7:359-363.
- 341.Walport MJ. Complement and systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res*. 2002;4:279-293.
- 342.Leadbetter EA et al. Chromatin-IgG complexes activate B cells by dual engagement of IgM and Toll-like receptors. *Nature*. 2002;416:603-607.
- 343.Viorritto IC, Nikolov NP, Siegel RM. Autoimmunity versus tolerance: can dying cells tip the balance? *Clin Immunol*. 2007;122:125-134.
- 344.Muzio M, Ni J, Feng P, Dixit, VM. IRAK (Pelle) family member IRAK-2 and MyD88 as proximal mediators of IL-1 signaling. *Science*. 1997;278:1612-1615.
- 345.Hornung V et al. Quantitative Expression of Toll-Like Receptor 1-10 mRNA in Cellular Subsets of Human Peripheral Blood Mononuclear Cells and Sensitivity to CpG Oligodeoxynucleotides. *J Immunol*. 2002;168:4531-4537.
- 346.Nishimura M, Shinsaku N. Tissue-specific mRNA expression profiles of human Toll-like receptors and related genes. *Biol Pharm Bull*. 2005;28:886-892.
- 347.Deban L, Jaillon S, Garlanda C, Bottazzi B, Mantovani A. Pentraxins in innate immunity: lessons from PTX3. *Cell Tissue Res*. 2011;343:237-249.
- 348.Thiel S, Gadjeva M. Humoral pattern recognition molecules: mannan-binding lectin and ficolins. *Adv Exp Med Biol*. 2009;653:58-73.

349. Martinon F, Petilli V, Mayor A, Tardivel A, Tschopp J. Gout-associated uric acid crystals activate the NALP3 inflammasome. *Nature*. 2006;440:237-41.
350. Kingsbury SR, Conaghan PG, McDermott MF. The role of the NLRP3 inflammasome in gout. *J Inflamm Res*. 2011;4:39-49.
351. Barton GM, Kagan JC, Medzhitov R. Intracellular localization of Toll-like receptor prevents recognition of self DNA but facilitates access to viral DNA. *Nat Immunol*. 2006;17:49-56.
352. Kawai T, Akira S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors. *Nat Immunol*. 2010;11:373-384.
353. Schroder K, Tschopp J. The inflammasomes. *Cell*. 2010;140: 821-832.
354. Sidiropoulos PI, Goulielmos G, Voloudakis GK, Petraki E, Boumpas DT. Inflammasomes and rheumatic diseases: evolving concepts. *Ann Rheum Dis*. 2008; 67:1382-9.
355. Church LD, Cook GP, McDermott MF. Primer: inflammasomes and interleukin1beta in inflammatory disorders. *Nat Clin Pract Rheumatol*. 2008;4:34-42.
356. McDermott MF, Tschopp J. From inflammasomes to fevers, crystals and hypertension: how basic research explains inflammatory diseases. *Trends Mol Med*. 2007;13:381-8.
357. Jin Y, Mailloux CM, Gowan K, Riccardi SL, LaBerge G, Bennett DC, Fain PR, Spritz RA. NALP1 in vitiligo-associated multiple autoimmune disease. *N Engl J Med* 2007; 356:1216-25.
358. Lai S, Zhou X. Inflammatory cells in tissues of gout patients and their correlations with comorbidities. *Open Rheumatol J*. 2013;7:26-31.
359. Harjaček M. Autoinflamatorne bolesti. *Paediatr Croat* 2009; 53: 110-116.
360. Amaral FA, Costa VV, Tavares LD, Sachs D, Coelho FM, Fagundes CT, Soriani FM, Silveira TN, Cunha LD, Zamboni DS, Quesniaux V, Peres RS, Cunha TM, Cunha FQ,

- Ryffel B, Souza DG, Teixeira MM. NLRP3 inflammasome-mediated neutrophil recruitment and hypernociception depend on leukotriene B(4) in a murine model of gout. *Arthritis Rheum.* 2012;64:474-84.
361. Manolio TA, Collins FS, Cox NJ, Goldstein DB, Hindorff LA, Hunter DJ, McCarthy MI, Ramos EM, Cardon LR, Chakravarti A, Cho JH, Guttmacher AE, Kong A, Kruglyak L, Mardis E, Rotimi CN, Slatkin M, Valle D, Whittemore AS, Boehnke M, Clark AG, Eichler EE, Gibson G, Haines JL, Mackay TF, McCarroll SA, Visscher PM. Finding the missing heritability of complex diseases. *Nature.* 2009;461:747-53.
362. Miljković A, Pehlić M, Budimir D, Gunjača G, Mudnić I, Pavić A, Jerončić I, Kolčić I, Boban M, Hayward C, Polašek O. Can genetics aggravate the health of isolated and remote populations? The case of gout, hyperuricaemia and osteoarthritis in Dalmatia. *Rural Remote Health.* 2013;13:2153.
363. Mackay TFC. Douglas Scott Falconer (1913–2004). *Heredity.* 2004;93:119–121.
364. Kent E. Holsinger. *Lecture Notes in Population Genetics.* Creative Commons: Stanford; 2012:123-126.
365. Rudan I, Ranzani G, Strnad M, Vorko-Jović A, John V, Unušić J, Kern J, Ivanković D, Stevanović R, Vuletić S, Rudan P. Surname as "Cancer Risk" in Extreme Isolates: Example from the Island of Lastovo, Croatia. *Collegium Antropologicum.* 1999; 2: 557-569.
366. Rudan I, Campbell H, Ranzani G, Strnad M, Vorko-Jović A, John V, Kern J, Ivanković D, Stevanović R, Vučkov Š, Vuletić S, Rudan P. Cancer Incidence in Eastern Adriatic Islands, Croatia: Examples from the Islands of Krk, Cres, Lošinj, Rab and Pag. *Collegium Antropologicum.* 1999; 2: 547-556.
367. Rudan I. Ancestral kinship and cancer in Lastovo Island, Croatia. *Human Biology.* 2001;6: 871-884.

368. Padovan M. Utjecaj genetskih i okolišnih čimbenika na prevalenciju simptomatskih bubrežnih kamenaca: primjer genetskih izoliranog stanovništva hrvatskih otoka (magistarski rad). Zagreb: Faculty of Science, University of Zagreb, 2002.
369. Spanjol J, Maricic A, Valencic M, Oguic R, Krpina K, Protic A, Ivancic A, Bobinac M, Fuckar D, Vojnikovic B. Influence of Insolation on Osteoporosis Progression in Androgen Deprived Nonmetastatic Prostate Cancer Patients. *Collegium Antropologicum* 2008; 32:79-81.

# ŽIVOTOPIS

**Adresa:** Lučićeva 19, Split

**Telefon:** 021/319 449; **Mobitel:** 091 52 47 813; **e-mail:** iris.jeroncic@mefst.hr

**Mjesto i datum rođenja:** Split, 13. srpnja 1966. godine

## OBRAZOVANJE

**Srednja škola:** Zdravstveni obrazovni centar, fizioterapeutski tehničar

**Fakultet:** Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

**Poslijediplomski studij:** „Temeljne i kliničke medicinske znanosti“, smjer Klinička medicina na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Splitu završila obranom znanstvenog magistarskog rada 06. svibnja 2010. godine.

## Radno iskustvo:

Svibanj 2009. → - asistent na Katedri za javno zdravstvo Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu

2009.-2011. - pomoćnik voditelja Stručnog studija Fizioterapija  
- sudjelovanje u nastavi na Stručnom studiju Fizioterapija

Svibanj 2009. → - asistent na Pomorskom fakultetu Sveučilišta u Splitu

2002. – 2009. - koordinator na Zdravstvenim studijima Sveučilišnog studijskog centra za stručne studije Sveučilišta u Splitu

1998. - voditelj službe za DDD zaštitu u manager in DDD service poduzeću „Ciklon”

1997. – 1998. - dvije godine pripravničkog staža u Ustanovi za hitnu medicinsku pomoć Split

Član Hrvatsko društvo za gerontologiju i gerijatriju HLZ-a

## **Sudjelovanje na projektima**

Projekt 10,001 dalmatinac Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu

## **Sudjelovanje na kongresima**

Stručno-znanstveni simpozij "Zdravlje za sve?!" svibanj 2013.

International maritime science conference (IMSC) travanj 2013.

International maritime science conference (IMSC) travanj 2014.

## **Popis objavljenih radova**

1. Miljković A, Pehlić M, Budimir D, Gunjača G, Mudnić I, Pavić A, Jerončić I, Kolčić I, Boban M, Hayward C, Polašek O. Can genetics aggravate the health of isolated and remote populations? The case of gout, hyperuricaemia and osteoarthritis in Dalmatia. *Rural Remote Health*. 2013;13:2153.
2. Poljak NK, Kontić M, Čolović Z, Jerončić I, Luksić B, Mulić R. Does life along the sea carry greater risk of thyroid cancer? *Acta Clin Croat*. 2011;50:329-39.
3. Poljak NK, Kontić M, Čolović Z, Jerončić I, Luksić B, Mulić R. Iodine intake and epidemiological characteristics of thyroid cancer: comparison between inland and littoral Croatia. *Acta Clin Croat*. 2011;50:329-39.
4. Poljak NK, Didolić I, Čolović Z, Kontić M, Jerončić I, Mulić R. Epidemiological characteristics of thyroid cancer in Dalmatia, Croatia. *Acta Med Croatica*. 2011;65:219-26.
5. Jerončić I, Mulić R, Klišmanić Z, Rudan D, Boban M, Zgaga L. Interactions between genetic variants in glucose transporter type 9 (SLC2A9) and dietary habits in serum uric acid regulation. *Croat Med J*. 2010;51:40-7.

6. Polašek O, Jerončić I, Mulić R, Klišmanić Z, Pehlić M, Zemunik T, Kolčić I.  
Common variants in SLC17A3 gene affect intra-personal variation in serum uric acid levels in longitudinal time series. *Croat Med J.* 2010;51:32-9.
7. Mulić R, Petković B, Klišmanić Z, Jerončić I. Tick-borne diseases in the Republic of Croatia. *Lijec Vjesn.* 2011;133:89-95.

## POPIS DODATAKA

1. Jerončić I, Mulić R, Klismanić Z, Rudan D, Boban M, Zgaga L. Interactions between genetic variants in glucose transporter type 9 (SLC2A9) and dietary habits in serum uric acid regulation. *Croat Med J.* 2010;51:40-7.
2. Polašek O, Jerončić I, Mulić R, Klismanić Z, Pehlić M, Zemunik T, Kolčić I. Common variants in SLC17A3 gene affect intra-personal variation in serum uric acid levels in longitudinal time series. *Croat Med J.* 2010;51:32-9.
3. Pristanak na sudjelovanje u istraživanju
4. Anketni upitnik



# Interactions Between Genetic Variants in Glucose Transporter Type 9 (SLC2A9) and Dietary Habits in Serum Uric Acid Regulation

Iris Jerončić<sup>1</sup>, Rosanda Mulić<sup>1</sup>, Zorana Klišmanić<sup>1</sup>, Diana Rudan<sup>2</sup>, Mladen Boban<sup>1</sup>, Lina Zgaga<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Medical School, University of Split, Split, Croatia

<sup>2</sup>Clinical Hospital Dubrava, Zagreb, Croatia

<sup>3</sup>Andrija Štampar School of Public Health, Medical School, University of Zagreb, Zagreb, Croatia

**Aim** To investigate possible interactions between genetic variants in glucose transporter type 9 (SLC2A9) gene and dietary habits in serum uric acid regulation.

**Methods** Participants for this study were recruited from two isolated Croatian island communities of Vis (n=918) and Korčula (n=898). Three single nucleotide polymorphisms (SNP) from the SLC2A9 gene (rs1014290, rs6449213, rs737267) were correlated with dietary habits and uric acid.

**Results** A significant decrease in uric acid levels was recorded with increasing consumption of milk, sour cream, duck and turkey, and eggs. The only significant interaction was found between potato consumption and rs737267 and a near-significant interaction was found between soft drinks and rs1014290 (interaction  $P=0.068$ ). Increased consumption of soft drinks interacting with the TT genotype at rs1014290 increased serum uric acid. No significant interactions were observed between food products consumption and rs6449213.

**Conclusion** There is a certain extent of interaction between SLC2A9 and dietary patterns in serum uric acid determination. The metabolic effect of soft drinks seems to be determined by the underlying genotype of rs1014290.

Received: December 30, 2009

Accepted: January 26, 2010

**Correspondence to:**

Lina Zgaga  
Andrija Štampar School of Public Health  
Medical School, University of Zagreb  
Rockefellerova 4  
10000 Zagreb, Croatia  
[lina.zgaga@zamir.net](mailto:lina.zgaga@zamir.net)

Gout is a disorder of purine metabolism that presents as inflammatory arthritis caused by urate crystallizing in joints following chronic hyperuricemia. It affects 1%-2% of the adult population in the Western world, especially elderly men. Diet and, more recently, genetic polymorphisms have been recognized as the most important factors causatively associated with serum uric acid levels and gout (1). High protein intake and purine-rich products, like meat and seafood, have been known to increase serum uric acid and the risk of gout, while vegetables rich in purine content showed no effect (2). On the other hand, the protective effect of certain foods has been identified. For example, dairy products, vitamin C, and coffee have been reported to decrease serum uric acid and prevalence of gout (1).

Serum urate concentration is a highly variable trait among humans. It is greatly affected by environmental factors (diet), but shows high heritability of about 60% (3). Not surprisingly, genome-wide association studies identified genetic polymorphisms that substantially affect urate concentrations and gout. Polymorphisms in a transporter gene GLUT9 (SLC2A9) have been shown to explain 1.7%-5.3% of the variance in serum uric acid concentration (4,5). Recently, polymorphisms in 3 additional genes, URAT1 (SLC22CA12), ABCG2, and SLC17A3, have also been associated with uric acid concentrations and the risk of gout (6-8).

SLC2A9 was first described as a glucose transporter and only later as a urate transporter. The study investigating whether glucose or fructose influenced urate transport in African clawed frog oocytes (*Xenopus laevis*) demonstrated that SLC2A9-mediated urate transport was facilitated by glucose and, to a lesser extent, fructose (9). We wanted to investigate if we could observe the same effect in vivo in humans and whether diet in general had a different impact on serum uric acid depending on the genetic background of an individual. To our knowledge, this is the first study on uric acid and gout that investigates genotype-environment interaction, more specifically, the interaction between previously reported genetic polymorphisms in the SLC2A9 gene and diet in humans.

## MATERIALS AND METHODS

### Samples

In the total sample of 1822 individuals, 924 were recruited on the island of Vis, Croatia, in 2002 and 2003, and 898 participants on the island of Korčula, Croatia, in 2006 and 2007 (10-13). There were 1109 women and 713 men (60% wom-

en), with mean age of 56 years (age range: 18-98 years). In both of these isolated communities genetic and environment specificities were found (12,14-21), which gave rise to a number of interesting research findings (4,22-28).

All participants gave written informed consent. The Vis and Korčula studies were approved by the Ethics Committee of the University of Zagreb Medical School and the Multi-Centre Research Ethics Committee for Scotland.

### Body and biochemical measures

For all participants, height and weight were recorded and body-mass index (BMI) was calculated as weight (kg) divided by squared height (m<sup>2</sup>). Uric acid was measured as a part of classical biochemistry analysis and was available for 1732 individuals in our sample (29).

### Food intake

All participants filled in a detailed food frequency questionnaire, developed for the specific purposes of this study. The questionnaire enquired about the habit of consumption for 50 different food products (Table 1) and the con-

**TABLE 1.** List of all food products and derived variables tested for association with serum uric acid levels and gout

Dairy	Vegetables	Meat
Milk	Leafy	Pork
Yoghurt	Root	Beef
Sour cream	Flowery	Veil
Cottage cheese	Fruity	Lamb
Hard cheese	Vegetable Total	Bacon
Dairy total		Sausages and salami
		Venison
Bread, pasta, rice	Other	Chicken
White bread	Beans	Duck and turkey
Brown bread	Potato	Meat total
Muesli	Mushrooms	Eggs
Pasta and rice	Fruit	
Carbs total	Nuts	
Desert	Fish	Drinks
Cakes	White fish	Fruit drinks
Chocolate	Blue fish	"Cedevita"
Biscuits	Sea food	Soft drinks
Candy	Squid and octopus	Strong drinks
Jam	Salted fish	Coffee
Deserts total	Fish cans	Tea
	Fish total	

sumption frequency was first recorded as daily, 2-3 times per week, once per week, rarely, and never. In the subsequent analysis, original categorical variables were replaced by values 30, 10, 4, 1, and 0, respectively, to reflect the monthly frequency of intake for a given product. No information was available on the serving size of consumed food products.

The intake frequencies of food products from the same group were combined to create group totals: "Dairy total" (milk, yoghurt, sour cream, cottage cheese, and hard cheese); "Carbs Total" (for food rich in carbohydrates, including white and brown bread, muesli, pasta, and rice); "Deserts Total" (cakes, chocolate, biscuits, candies, or jam); "Vegetable Total" (all vegetables); "Fish Total" for all fish; and "Meat Total" for all meat products.

The maximum frequency of consumption for any individual food product was 30 (the attributed value if the product was consumed daily). However, for derived variables that summed the frequencies of all products from the same group the score could be much higher.

When we analyzed the effect of soft drinks, the intake was recoded as "low" for never, "medium" for rarely and once a week, and "high" for daily consumption or consumption 2-3 times a week.

### Genotyping

The genotype results from genome-wide SNP array typing were available. DNA samples were genotyped according to the manufacturer's instructions on Illumina Infinium HumanHap 300 v1 for Vis and 370CNV for Korčula sample (Illumina Inc., San Diego, CA, USA). Genotypes were determined using Illumina BeadStudio software. Samples with a call rate below 97% were excluded from the analysis. We analyzed 3 SNPs in SLC2A9 gene (chromosome 4p16.1) previously reported for strong association with uric acid levels: rs1014290, rs6449213, and rs737267 (4). Genotypes for 3 SNPs of interest were extracted from the original data set and used in the subsequent analysis.

### Statistical analysis

Descriptive statistics was performed using R (<http://www.r-project.org>) and Excel. The analysis and management of the genetic data was done with R and GenABEL package in R (30). Polygenic function in GenABEL implements a linear mixed effects model, where the relatedness

structure of the samples is modeled as random effects, and the residuals are adjusted for relatedness. A simple regression was done with uric acid residuals from polygenic model adjusted for age and sex as the outcome, to test the effect of different food products and groups of products and 3 selected SNPs (rs1014290, rs6449213, and rs737267) on serum uric acid. Next, we investigated if there was any interaction between polymorphisms in the newly identified urate transporter gene (SLC2A9) and diet, each previously described to affect uric acid levels. In each model, the outcome variables were uric acid residuals from the polygenic model and the explanatory variables were BMI, intake frequency of a given food product, genotype at a chosen SNP locus, and their interaction (SNP\*food product). A total of 56 models were tested, 50 models for the individual food products and another 6 models for derived food categories (dairy, fish, meat, vegetables, carbohydrates, and sweets). Statistical significance and the effect estimate of a food product, the selected SNP, and their interaction in the linear regression model were assessed.

### RESULTS

Genotyping data were available for 1816 individuals. Minor allele frequencies for rs1014290, rs6449213, and rs737267 were 26.07, 20.69, and 25.37%, respectively. Genotype and allele frequencies are presented in Table 2. For all 3 investigated SNPs, the minor allele was associated with the decrease in serum uric acid levels.

Food frequency data were available for 1755 participants (97.7%). Mean total dairy products consumption, expressed as portions/mo ( $\pm$ standard deviation) was  $38.5 \pm 25.8$ , for meat products  $35.1 \pm 20.0$ , for fish products

**TABLE 2.** Genotype and allele frequencies for 3 selected single nucleotide polymorphism (SNP), rs1014290, rs6449213, and rs737267, in our sample

SNP	Genotypes			Allele frequencies	
	TT	TC	CC	T	C
rs1014290 (n = 1816)	1014 55.84%	657 36.18%	145 7.98%	73.93%	26.07%
rs6449213 (n = 1815)	1163 64.08%	553 30.47%	99 5.45%	79.31%	20.69%
rs737267 (n = 1815)	1029 56.69%	651 35.87%	135 7.44%	74.63%	25.37%

19.9±15.2, for all vegetables 42.7±27.0, for bread, rice, and pasta 44.0±15.3, and for deserts 23.6±24.5 portions/mo. Main characteristics of individuals according to the intake for selected food groups are presented in Table 3.

The individuals who consumed dairy products more often (values above the mean consumption) had lower mean uric acid levels than those who consumed dairy products

less often (below the mean) (5.00 vs 5.14 mg/dL) but the difference was not significant ( $P=0.07$ ). Individuals with above-the-mean deserts intake had significantly lower uric acid levels than those with below-the-mean intake (4.95 vs 5.15;  $P=0.031$ ).

For the food products tested, we observed a significant decrease in uric acid levels with increasing consumption of

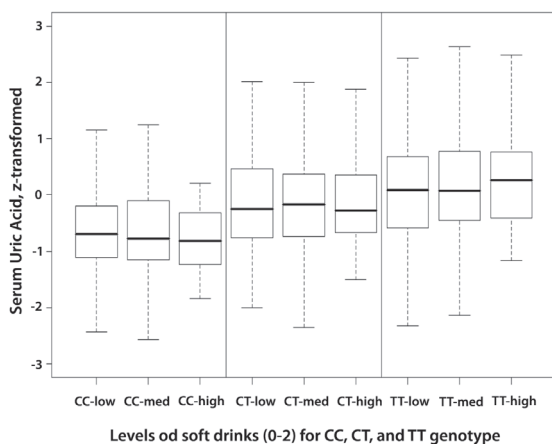
**TABLE 3.** Characteristics of individuals according to intake for selected food groups: dairy, meat, fish, vegetables, carbohydrate-rich foods, and deserts. *P* value for the difference in serum uric acid residuals from polygenic model between the high and low consumption groups (values above or below the mean for a given food group) are shown (*t*-test)

Part of consumption distribution of food product	n	Mean consumption frequency (servings/mo)	Mean age (years)	Mean uric acid (mg/dL)	<i>P</i>
<b>Dairy:</b>					
upper	929	19.46	56.23	5.14	0.071
lower	822	59.92	56.23	5.00	
<b>Meat:</b>					
upper	1027	22.63	60.10	5.08	0.108
lower	721	52.83	50.77	5.09	
<b>Fish</b>					
upper	1024	11.46	56.06	4.99	0.152
lower	724	31.92	56.51	5.21	
<b>Vegetables:</b>					
upper	1168	27.64	55.57	5.08	0.649
lower	584	72.69	57.56	5.08	
<b>Bread, pasta, and rice:</b>					
upper	1117	35.25	57.11	5.11	0.782
lower	636	59.32	54.69	5.02	
<b>Sweets:</b>					
upper	1125	9.46	57.72	5.15	0.031
lower	627	48.88	53.60	4.95	

**TABLE 4.** Effect estimates for each explanatory variable (food product, single nucleotide polymorphism rs1014290 and their interaction) and *P* values are shown. Effect estimates are shown for residuals of uric acid from the polygenic model and are presented to enable the comparison of food product, single nucleotide polymorphism and interaction effect, but cannot be translated into uric acid levels (analysis is done on residuals from polygenic model). The unit in which food products are measured is servings/mo. Genotypes are coded as 0, 1, and 2, where 2 corresponds to minor allele homozygote

	Food product		rs1014290		Interaction	
	effect estimate	<i>P</i>	effect estimate	<i>P</i>	effect estimate	<i>P</i>
Milk	-0.009	0.002	-0.439	4.7E-21	0.002	0.504
Sour cream	-0.018	0.017	-0.402	1.9E-20	-0.002	0.960
Pork	-0.017	0.023	-0.397	2.5E-20	-0.003	0.950
Veil	0.023	0.046	-0.359	4.8E-21	-0.011	0.284
Sausages	0.018	0.019	-0.385	1.2E-20	-0.009	0.791
Duck and turkey	-0.011	0.032	-0.393	4.6E-21	-0.008	0.719
Salted fish	-0.014	0.018	-0.397	1.2E-20	-0.004	0.857
Eggs	-0.016	8.2E-05	-0.377	2.1E-20	-0.004	0.674
Soft drinks	0.004	0.215	-0.390	9.4E-21	-0.004	0.081
Coffee	-0.005	0.004	-0.386	8.6E-21	-0.001	0.397
Tea	0.006	4.2E-04	-0.385	1.5E-21	-0.002	0.440

Figure 1.



The effect of soft drinks consumption on serum uric acid levels depending on the genotype at rs1014290 is shown. While inverse association is observed for CC genotype (increasing consumption being associated with the decreasing serum uric acid), the opposite is observed for TT genotype (increasing consumption of soft drinks is associated with the increase in serum uric acid).

milk, sour cream, duck and turkey, pork, salted fish, eggs, and coffee, while significant increase in uric acid levels was observed with increasing consumption of veal, sausages, and tea. As expected, the 3 selected SNPs were confirmed to significantly affect serum uric acid.

The only significant interaction was found between potato consumption and rs737267 ( $P=0.046$ ); but suggestive interactions were observed with the other 2 tested SNPs, rs1014290 and rs6449213 ( $P=0.083$  and  $P=0.141$ , respectively).

The other interaction close to the nominal significance threshold of  $P=0.05$  was the one between soft drinks (consumption levels: low, medium, and high) and rs1014290, where the interaction  $P$  was 0.068 (Table 4). No significant interaction was observed between food products consumption frequency and rs6449213.

The observed interaction between rs1014290 and soft drinks was investigated further and showed that, while increased consumption of soft drinks slightly lowered serum uric acid levels in individuals with CC and CT genotype, in individuals with TT genotype, the group with highest soft drinks intake had the highest levels of uric acid (Figure 1).

## DISCUSSION

To our knowledge, this is the first study investigating the genotype-environment interaction between diet and identified genetic polymorphisms in SLC2A9 associated with serum uric acid level. One near-significant interaction shown to affect serum uric acid level was the one between soft drinks and SLC2A9 polymorphism rs1014290, but since the  $P$  value did not reach the nominal significance threshold of 0.05, the null hypothesis of no interaction cannot be rejected. The only significant interaction was found between potato consumption and rs737267. We could not find literature data to clarify this interaction. No other interactions between a food product (or a group of products) with the genotype at the 3 selected loci showed a significant effect on uric acid.

The increasing consumption of soft drinks increased serum uric acid in the interaction with TT genotype at rs1014290, however, it also decreased serum uric acid in homozygotes for the minor allele (CC) and almost no effect could be noted in heterozygotes (CT). This shows that the metabolic effect of soft drinks at this locus is determined by the underlying genotype. The interaction between soft drinks and rs6449213 and rs737267 showed the same pattern, but these results were not significant (data not shown).

Soft drinks with added sugar (sucrose, glucose, or fructose) are strongly associated with gout risk (31) and both glucose and fructose have been shown to facilitate SLC2A9-mediated urate transport (9). Moreover, SLC2A9 has been shown to exchange extracellular glucose for intracellular urate, which occurs in renal tubules where urate is to be excreted and glucose reabsorbed from the tubules. However, we found the opposite effect depending on rs1014290 genotype, namely in TT homozygotes.

Since no interaction was observed, it could mean that serum uric acid is simply, in the additive manner, the result of urate influx from the metabolism and the genetically modified transporter capacity. The observed interaction with glucose and fructose might suggest that the identified polymorphisms in SLC2A9 primarily affect protein domains concerning fructose transport, which is only consequentially reflected to uric acid levels because SLC2A9 exchanges glucose for urate. If polymorphisms affected binding or transport of urate, there is no reason to expect anything other than an additive effect of genotype-modified transporter capacity and uric acid levels of an individual.

This newly recognized effect of genotype on metabolic response to soft drinks could prove important in dietary recommendation and for the understanding of gout, diabetes type 2, and metabolic syndrome. It is possible that we failed to recognize other food products with the similar interaction effect on serum uric acid due to the incompleteness of our data; since we relied only on consumption frequency, we lack the important information on the amount of consumed products. More accurate answers could be provided by studies that would calculate the total daily intake for every dietary compound, eg, daily purines, glucose, and fructose consumption.

It is very difficult to obtain accurate diet measurements in free-living participants. Some overestimation of “healthy foods” might be expected, as has been reported for dairy products (32). Our data were based on a questionnaire recording the consumption frequency, rather than portion sizes. If a participant consumes a food item daily, it cannot be determined if they consume it one or more times a day.

We confirmed the associations between diet and serum uric acid found in previous studies. Our finding that consumption of milk and sour cream, and the overall consumption of dairy products, decreased serum uric acid levels was previously described by other researchers (1,2). We also observed significant association between coffee consumption and decreasing levels of uric acid. Such association was described in detail in a study that compared individuals who took 4 or 5 cups of coffee a day with those who did not drink coffee at all (2). The lack of stronger statistical evidence in our study could be due to the fact that we did not have the information about the amount of coffee taken, and therefore could not differentiate further in the category of “daily” consumption.

Interestingly, the same study investigated the effect of tea on uric acid level but found no association (2), while we observed the increasing levels of uric acid with increasing tea consumption. This effect may be relatively specific for the populations we tested and caused by a particular tea commonly drunk in the islands of Vis and Korčula. It is likely that different sorts of tea can affect serum uric acid in different ways.

Although a positive association between meat intake and gout has been described before, we did not observe a significant difference in uric acid levels between the groups with the highest and lowest overall meat intake. The indi-

viduals in high meat consumption category were younger (mean age 50.7 vs 60.1 years), which could have diminished the difference between the groups because uric acid is known to increase with age. Of the individual meat products, consumption of veal and sausages significantly increased uric acid levels, while consumption of duck, turkey, pork, salted fish, and eggs decreased uric acid levels. Higher frequency of consumption of bread, pasta, and rice was associated with lower uric acid levels although not significantly; however, the inverse association with bread consumption has been reported previously (33).

This study was performed in two isolated island populations. Although certain benefits of such setting are well recognized (12,16,19,34-39), it also has some shortcomings, primarily the possibility that the results might not be representative for other populations (40). Furthermore, in our study there is a lack of information on the number of food products consumed to complement the available data on frequency of consumption. Although more detailed dietary data might further clarify diet-genotype interactions, we find our dietary data reliable since we replicated some of the previously reported effects of diet on serum uric acid. Some of the reported *P* values did not exceed the nominal significance level and the null-hypothesis of no interaction cannot be excluded.

Our study is, to the best of our knowledge, the first to investigate the interaction between diet and genetic polymorphisms and our findings provide new insights into uric acid excretion and emphasize the importance of other molecules, like glucose and fructose, for the serum uric acid and gout. New evidence about the intertwining of urate and simple sugars metabolism might prove important in understanding the connection between the elevated serum uric acid concentration and metabolic syndrome.

#### Acknowledgments

The studies in the Croatian islands were supported through the grants from the Medical Research Council UK to A. F. Wright, H. Campbell, and I. Rudan; and Ministry of Science, Education and Sport of the Republic of Croatia to I. R. (No. 216-1080315-0302). The authors collectively thank a large number of individuals for their individual help in obtaining funding support, organizing, planning, and carrying out the field work related to the project, and for assistance with data management, analysis, and interpretation: the teams from the Medical Research Council Human Genetics Unit in Edinburgh and The University of Edin-

burgh, UK, led by Professors N. D. Hastie, A. Wright, and H. Campbell, including Caroline Hayward and Veronique Vitart (for funding support, intellectual input in study design, and their role in data management, analysis, and interpretation); Professor Pavao Rudan and the staff of the Institute for Anthropological Research in Zagreb, Croatia (organization of the field work, anthropometric and physiological measurements, and DNA extraction in Vis); Professor Stipan Janković and the staff of the University of Split Medical School (organization of the field work, anthropometric and physiological measurements, and DNA extraction in Korčula); Professor Ariana Vorko-Jović and the staff and medical students of the Andrija Štampar School of Public Health of the Medical School, University of Zagreb, Croatia (questionnaires, genealogical reconstruction, and data entry in Vis and Korčula); Dr Branka Salzer from the biochemistry lab "Salzer," Croatia (measurements of biochemical traits in Vis and Korčula); local general practitioners and nurses (recruitment and communication with the study population); and the employees of several other Croatian institutions who participated in the field work, including but not limited to the University of Rijeka; Croatian Institute of Public Health; Institutes of Public Health in Split and Dubrovnik. SNP Genotyping of the Vis samples was carried out by the Genetics Core Laboratory at the Wellcome Trust Clinical Research Facility, WGH, Edinburgh; of the Korčula samples by the Genotyping Institute in Munich, Germany.

## References

- 1 Richette P, Bardin T. Gout. *Lancet*. 2010;375:318-28. [Medline:19692116 doi:10.1016/S0140-6736\(09\)60883-7](#)
- 2 Choi HK, Curhan G. Coffee, tea, and caffeine consumption and serum uric acid level: the third national health and nutrition examination survey. *Arthritis Rheum*. 2007;57:816-21. [Medline:17530681 doi:10.1002/art.22762](#)
- 3 Yang Q, Guo CY, Cupples LA, Levy D, Wilson PW, Fox CS. Genome-wide search for genes affecting serum uric acid levels: the Framingham Heart Study. *Metabolism*. 2005;54:1435-41. [Medline:16253630 doi:10.1016/j.metabol.2005.05.007](#)
- 4 Vitart V, Rudan I, Hayward C, Gray NK, Floyd J, Palmer CN, et al. SLC2A9 is a newly identified urate transporter influencing serum urate concentration, urate excretion and gout. *Nat Genet*. 2008;40:437-42. [Medline:18327257 doi:10.1038/ng.106](#)
- 5 Doring A, Gieger C, Mehta D, Gohlke H, Prokisch H, Coassin S, et al. SLC2A9 influences uric acid concentrations with pronounced sex-specific effects. *Nat Genet*. 2008;40:430-6. [Medline:18327256 doi:10.1038/ng.107](#)
- 6 Guan M, Zhang J, Chen Y, Liu W, Kong N, Zou H. High-resolution melting analysis for the rapid detection of an intronic single nucleotide polymorphism in SLC22A12 in male patients with primary gout in China. *Scand J Rheumatol*. 2009;38:276-81. [Medline:19306160 doi:10.1080/03009740802572483](#)
- 7 Dehghan A, Köttgen A, Yang Q, Hwang SJ, Kao WL, Rivadeneira F, et al. Association of three genetic loci with uric acid concentration and risk of gout: a genome-wide association study. *Lancet*. 2008;372:1953-6. [Medline:18834626 doi:10.1016/S0140-6736\(08\)61343-4](#)
- 8 Kolz M, Johnson T, Sanna S, Teumer A, Vitart V, Perola M, et al. Meta-analysis of 28,141 individuals identifies common variants within five new loci that influence uric acid concentrations. *PLoS Genet*. 2009;5:e1000504. [Medline:19503597 doi:10.1371/journal.pgen.1000504](#)
- 9 Caulfield MJ, Munroe PB, O'Neill D, Witkowska K, Charchar FJ, Doblado M, et al. SLC2A9 is a high-capacity urate transporter in humans. *PLoS Med*. 2008;5:E197. [Medline:18842065 doi:10.1371/journal.pmed.0050197](#)
- 10 Rudan I, Campbell H, Rudan P. Genetic epidemiological studies of eastern Adriatic Island isolates, Croatia: objective and strategies. *Coll Antropol*. 1999;23:531-46. [Medline:10646227](#)
- 11 Polasek O, Marusic A, Rotim K, Hayward C, Vitart V, Huffman J, et al. Genome-wide association study of anthropometric traits in Korcula Island, Croatia. *Croat Med J*. 2009;50:7-16. [Medline:19260139 doi:10.3325/cmj.2009.50.7](#)
- 12 Vitart V, Biloglav Z, Hayward C, Janicijevic B, Smolej-Narancic N, Barac L, et al. 3000 years of solitude: extreme differentiation in the island isolates of Dalmatia, Croatia. *Eur J Hum Genet*. 2006;14:478-87. [Medline:16493443 doi:10.1038/sj.ejhg.5201589](#)
- 13 Rudan I, Marusić A, Janković S, Rotim K, Boban M, Lauc G, et al. "10001 Dalmatians:" Croatia launches its national biobank. *Croat Med J*. 2009;50:4-6. [Medline:19260138 doi:10.3325/cmj.2009.50.4](#)
- 14 Rudan I, Carothers AD, Polasek O, Hayward C, Vitart V, Biloglav Z, et al. Quantifying the increase in average human heterozygosity due to urbanisation. *Eur J Hum Genet*. 2008;16:1097-102. [Medline:18322453 doi:10.1038/ejhg.2008.48](#)
- 15 Campbell H, Carothers AD, Rudan I, Hayward C, Biloglav Z, Barac L, et al. Effects of genome-wide heterozygosity on a range of biomedically relevant human quantitative traits. *Hum Mol Genet*. 2007;16:233-41. [Medline:17220173 doi:10.1093/hmg/ddl473](#)
- 16 Rudan I, Biloglav Z, Vorko-Jović A, Kujundžić-Tiljak M, Stevanović R, Ropac D, et al. Effects of inbreeding, endogamy, genetic admixture, and outbreeding on human health: a (1001 Dalmatians) study. *Croat Med J*. 2006;47:601-10. [Medline:16909458](#)
- 17 Smoljanovic A, Vorko-Jovic A, Kolcic I, Bernat R, Stojanovic D, Polasek O. Micro-scale socioeconomic inequalities and health indicators in a small isolated community of Vis Island, Croatia. *Croat Med J*. 2007;48:734-40. [Medline:17948960](#)
- 18 Kolcic I, Vorko-Jovic A, Salzer B, Smoljanovic M, Kern J, Vuletic S. Metabolic syndrome in a metapopulation of Croatian island isolates. *Croat Med J*. 2006;47:585-92. [Medline:16909456](#)

- 19 Polasek O, Kolcic I, Smoljanovic A, Stojanovic D, Grgic M, Ebling B, et al. Demonstrating reduced environmental and genetic diversity in human isolates by analysis of blood lipid levels. *Croat Med J.* 2006;47:649-55. [Medline:16909463](#)
- 20 Navarro P, Vitart V, Hayward C, Tenesa A, Zgaga L, Juricic D, et al. Genetic comparison of a Croatian isolate and CEPH European founders. *Genet Epidemiol.* 2010;34:140-5. [Medline:19697321](#)
- 21 McQuillan R, Leutenegger AL, Abdel-Rahman R, Franklin CS, Pericic M, Barac-Lauc L, et al. Runs of homozygosity in European populations. *Am J Hum Genet.* 2008;83:359-72. [Medline:18760389](#) [doi:10.1016/j.ajhg.2008.08.007](#)
- 22 Dupuis J, Langenberg C, Prokopenko I, Saxena R, Soranzo N, Jackson AU, et al. New genetic loci implicated in fasting glucose homeostasis and their impact on type 2 diabetes risk. *Nat Genet.* 2010;42:105-16. [Medline:20081858](#) [doi:10.1038/ng.520](#)
- 23 Repapi E, Sayers I, Wain LV, Burton PR, Johnson T, Obeidat M, et al. Genome-wide association study identifies five loci associated with lung function. *Nat Genet.* 2010;42:36-44. [Medline:20010834](#) [doi:10.1038/ng.501](#)
- 24 Johansson A, Marroni F, Hayward C, Franklin CS, Kirichenko AV, Jonasson I, et al. Common variants in the JAZF1 gene associated with height identified by linkage and genome-wide association analysis. *Hum Mol Genet.* 2009;18:373-80. [Medline:18952825](#) [doi:10.1093/hmg/ddn350](#)
- 25 Pattaro C, Aulchenko YS, Isaacs A, Vitart V, Hayward C, Franklin CS, et al. Genome-wide linkage analysis of serum creatinine in three isolated European populations. *Kidney Int.* 2009;76:297-306. [Medline:19387472](#) [doi:10.1038/ki.2009.135](#)
- 26 Hicks AA, Pramstaller PP, Johansson A, Vitart V, Rudan I, Ugoicsai P, et al. Genetic determinants of circulating sphingolipid concentrations in European populations. *PLoS Genet.* 2009;5:e1000672. [Medline:19798445](#) [doi:10.1371/journal.pgen.1000672](#)
- 27 Heard-Costa NL, Zillikens MC, Monda KL, Johansson A, Harris TB, Fu M, et al. NRXN3 is a novel locus for waist circumference: a genome-wide association study from the CHARGE Consortium. *PLoS Genet.* 2009;5:e1000539. [Medline:19557197](#) [doi:10.1371/journal.pgen.1000539](#)
- 28 Aulchenko YS, Ripatti S, Lindqvist I, Boomsma D, Heid IM, Pramstaller PP, et al. Loci influencing lipid levels and coronary heart disease risk in 16 European population cohorts. *Nat Genet.* 2009;41:47-55. [Medline:19060911](#) [doi:10.1038/ng.269](#)
- 29 Zemunik T, Boban M, Lauc G, Janković S, Rotim K, Vatauvuk Z, et al. Genome-wide association study of biochemical traits in Korcula Island, Croatia. *Croat Med J.* 2009;50:23-33. [Medline:19260141](#) [doi:10.3325/cmj.2009.50.23](#)
- 30 Aulchenko YS, Ripke S, Isaacs A, van Duijn CM. GenABEL: an R library for genome-wide association analysis. *Bioinformatics.* 2007;23:1294-6. [Medline:17384015](#) [doi:10.1093/bioinformatics/btm108](#)
- 31 Hak AE, Choi HK. Lifestyle and gout. *Curr Opin Rheumatol.* 2008;20:179-86. [Medline:18349748](#) [doi:10.1097/BOR.0b013e3282f524a2](#)
- 32 Martin GS, Tapsell LC, Batterham MJ, Russell KG. Relative bias in diet history measurements: a quality control technique for dietary intervention trials. *Public Health Nutr.* 2002;5:537-45. [Medline:12186662](#) [doi:10.1079/PHN2002329](#)
- 33 Loenen HM, Eshuis H, Lowik MR, Schouten EG, Hulshof KF, Odink J, et al. Serum uric acid correlates in elderly men and women with special reference to body composition and dietary intake (Dutch Nutrition Surveillance System). *J Clin Epidemiol.* 1990;43:1297-303. [Medline:2254766](#) [doi:10.1016/0895-4356\(90\)90095-7](#)
- 34 Rudan I, Campbell H, Carothers AD, Hastie ND, Wright AF. Contribution of consanguinity to polygenic and multifactorial diseases. *Nat Genet.* 2006;38:1224-5. [Medline:17072294](#) [doi:10.1038/ng1106-1224](#)
- 35 Rudan I. Effects of inbreeding on late-onset diseases [PhD Thesis]. Edinburgh (UK): University of Edinburgh; 2007.
- 36 Pulanic D, Polasek O, Petrovecki M, Vorko-Jovic A, Pericic M, Lauc LB, et al. Effects of isolation and inbreeding on human quantitative traits: an example of biochemical markers of hemostasis and inflammation. *Hum Biol.* 2008;80:513-33. [Medline:19341321](#) [doi:10.3378/1534-6617-80.5.513](#)
- 37 Saftic V, Rudan D, Zgaga L. Mendelian diseases and conditions in Croatian island populations: historic records and new insights. *Croat Med J.* 2006;47:543-52. [Medline:16909451](#)
- 38 Rudan I. Health effects of human population isolation and admixture. *Croat Med J.* 2006;47:526-31. [Medline:16909449](#)
- 39 Rudan I, Biloglav Z, Carothers AD, Wright AF, Campbell H. Strategy for mapping quantitative trait loci (QTL) by using human metapopulations. *Croat Med J.* 2006;47:532-42. [Medline:16909450](#)
- 40 Kolcic I, Polasek O, Rudan I. Gender differences in spousal household material status estimation. *J Epidemiol Community Health.* 2009;63:175-6.40.



# Common Variants in SLC17A3 Gene Affect Intra-personal Variation in Serum Uric Acid Levels in Longitudinal Time Series

Ozren Polašek<sup>1</sup>, Iris Jerončić<sup>2</sup>, Rosanda Mulić<sup>2</sup>, Zorana Klišmanić<sup>2</sup>, Marina Pehlić<sup>2</sup>, Tatijana Zemunik<sup>2</sup>, Ivana Kolčić<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Andrija Štampar School of Public Health, University of Zagreb Medical School, Zagreb, Croatia

<sup>2</sup>University of Split School of Medicine, Split, Croatia

**Aim** To investigate whether intra-personal variation in serum uric acid concentration is influenced by genes that were described to be associated with serum uric acid levels in cross-sectional studies.

**Methods** The study included 92 participants from the isolated community of the Croatian island of Vis. For each participant, two uric acid concentration measurements were available, one from 2002 and one from 2003. Changes in uric acid concentration were correlated with a set of 8 genes known to affect it: PDZK1, GCKR, SLC2A9, ABCG2, LRR16A, SLC17A3, SLC16A9, and SLC22A12.

**Results** Thirteen participants (14%) had uric acid concentration change greater than 130  $\mu\text{mol/L}$ . Greater variability of uric acid concentration was recorded in women (coefficient of variation 49% vs 12% in men). Two single-nucleotide polymorphisms (SNP) belonging to SLC17A3 gene (rs9393672 and rs942379) yielded significant association with serum uric acid concentration changes in women. These two SNPs explained 0.2%-1.3% of variance for 2002 or 2003 uric acid measurement and 1.1%-1.8% of variance for the average value of these two measurements.

**Conclusions** Repeated measurements offer a possibility to enrich the percent of explained variance and contribute to the understanding of the "missing heritability" concept. Although a number of genes have been shown to affect serum uric acid concentration, SLC17A3 seems to have a major role in determination of serum uric acid repeated measurements variation.

Received: December 30, 2009

Accepted: January 21, 2010

**Correspondence to:**

Ozren Polašek  
Andrija Štampar School of Public Health, Medical School, University of Zagreb  
Rockefellerova 4  
10000 Zagreb, Croatia  
[opolasek@szz.hr](mailto:opolasek@szz.hr)

Serum uric acid in humans is a quantitative trait that has lately received a lot of research attention (1). This is primarily due to the current disagreement whether it is a disease risk or a protective factor (2-5). While older studies often refer to it as a cause of gout and associate it with other metabolic diseases, some recent studies suggest that it might be among the most potent anti-oxidants in the human body (6,7). Furthermore, substantial progress in our understanding of its metabolism and biology has recently been made, due to description of a number of genes that affect it (4). However, clinical importance of uric acid and the possibility to use it as a disease marker still remain a matter of dispute (5).

Genetic background of uric acid determination has most commonly been described in genome-wide association studies, which correlate a single uric acid measurement to a large number of genetic markers (8,9). Although this approach has yielded a number of interesting results, it relies on the key assumption that a single measurement of uric acid concentration is a good proxy for this trait. However, studies have reported that serum uric acid concentrations show substantial variation even within a single day (10) or during periods as long as years (11-15).

Theoretically, studies of phenotypic traits that are not very reproducible suffer from a lack of statistical power and consequently have greater chances of producing false positive or false negative results. Furthermore, such underpowered studies may produce underestimated percentages of variance attributable to genetic factors in phenotypic trait determination. This is often seen in genome-wide association studies that manage to explain no more than a few percents of variance for majority of human quantitative traits, despite the fact that they are sometimes based on more than a hundred thousand samples (16,17). The difference between high heritability and low percent of explained variance of genetic factors was entitled the "missing heritability," and it is currently one of the central issues in human genetics (16,18,19). Therefore, the aim of this study was to investigate the repeatability of serum uric acid concentration measurements in an isolated island population, to examine whether there is a genetic background of serum uric acid concentration changes, and to investigate the possibility to use multiple phenotypic measurements in genetic epidemiology.

## POPULATION AND METHODS

### Study population

Data for the study were obtained from a larger genetic epidemiology program performed on some of the Croatian

Adriatic islands (20-24). The study sample included participants from the island of Vis who took part in the pilot study in 2002 and were later recruited to a larger gene mapping effort (25-28). In both cases, a population-based approach was applied, which included first informing the local community and then sending out the postal invitations. Participation was open for all individuals who would respond to it. Sampling frame comprised 200 participants in 2002 and 1057 in 2003. Those who responded to both invitations were included in this study.

The population of the island is an interesting isolate, due to genetic, geographical, and even partial linguistic isolation (21,29). After almost a decade of detailed work in this population, a number of specific characteristics were described in some population genetics features (29-35) and epidemiological, environmental, and behavioral disease risk factors (36-38), making the island a large biomedical research resource (39).

All participants were given detailed study information prior to the enrolment and gave signed consent to participate in the study. The study was approved by the Ethics Committee of the Medical School, University of Zagreb and the Multi-Centre Research Ethics Committee for Scotland. Further details on this program are available elsewhere (21,29).

### Measurements

Blood samples were taken from all participants, immediately frozen, and transported frozen to the laboratory that performed the measurement. Both uric acid measurements, from 2002 and 2003, were performed in a single laboratory, which did not change quantification methodology during that period. Sequential analyses and laboratory quality controls check-ups were within the expected and certified ranges. Serum uric acid measurements were based on the uricase UV photometry, performed by Olympus AU400 (Olympus Corp, Tokyo, Japan), according to the manufacturer's instructions.

The initial analysis of uric acid concentrations was aimed toward understanding the pattern of annual variation. In order to provide estimates for this, we calculated coefficient of variation, which was calculated for the entire sample and for sex-stratified sub-samples. Furthermore, we performed Bland-Altman agreement analysis (40), which uses graphical output to indicate the agreement between two measurements based on the com-

parison of the difference and the means of two measurements. This approach offers a substantial methodological advancement over the calculation of correlation coefficients between the two measurements (41).

Furthermore, all participants were classified into two groups according to the extent of serum uric acid concentration change. Participants with absolute value of difference between the two measurements higher than 130  $\mu\text{mol/L}$  (roughly a third of the upper laboratory range limit) were compared to those with difference between the two measurements lower than 130  $\mu\text{mol/L}$ .

Besides uric acid, we used blood samples for DNA extraction. After extraction, all samples were genotyped using Illumina HumanHap 300 panel, version 1, (Illumina Inc., San Diego, CA, USA), with 317 508 single-nucleotide polymorphisms (SNP). Among them, 16 SNPs belonging to 8 genes that were previously associated with uric acid (8,9), were selected and used in the analysis. These included rs1797052 and rs1298954 from PDZK1 gene, rs780094 from GCKR gene, rs13129697, rs4447863, rs13131257, rs6449213, rs1014290, and rs733175 from SLC2A9, rs2231142 from ABCG2, rs9358856 from LRRC16A, rs9393672 and rs942379 from SLC17A3, rs2242206 from SLC16A9, and rs2078267 and rs505802 from SLC22A12 gene. Further information on these SNPs and genes is provided elsewhere (9).

### Statistical analysis

Numerical data were presented as means and standard deviations, since the assumption of normality was satisfied, according to the Kolmogorov-Smirnov test. Categorical data were presented as numbers and percentages. The data were analyzed using  $\chi^2$  test or Fisher exact test; the latter was used when the expected values in more than 20% of cells were less than 5. Numerical variables were analyzed with *t*-test for dependent samples (comparison of two uric acid concentration measurements). Additionally, general linear modeling was employed to calculate the percent of variance that was explained by genetic markers. Selected single-nucleotide polymorphisms (SNP) were used as predictors, while uric acid concentration was used as an outcome variable. Three different values of uric acid were used: measurement from 2002, measurement from 2003, and the average value of these two measurements. Linkage disequilibrium between genetic markers was calculated using PLINK (42), but only for the selected two SNPs. Analysis was performed in R (43), except for Fisher exact test that was performed using Simple Interac-

tive Statistical Analysis (SISA) (44). Since 16 SNPs were included in the analysis, a Bonferroni correction was applied. Calculation of the *P* value correction was based on 16 comparisons and the initial value of *P* < 0.05. The final outcome of the *P* value correction was that significance limit was set to *P* < 0.0031.

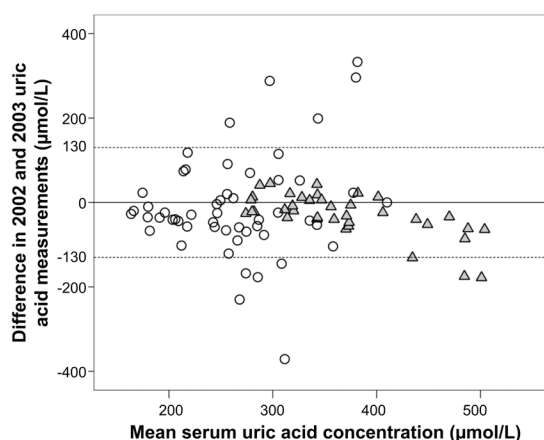
### RESULTS

The study included 92 samples from 38 men and 53 women (Table 1). Average serum uric acid concentration was greater in 2003 than in 2002, with a largely different coefficient of variation in men and women (Table 1). When all measurements were ranked according to the greatest change between the two sampling periods, there were

TABLE 1. Basic characteristics of the study participants

	Men (n = 38)	Women (n = 53)	Total
Age (years); mean $\pm$ standard deviation	59.6 $\pm$ 12.3	59.3 $\pm$ 13.4	59.4 $\pm$ 12.9
Uric acid, 2002 measurement ( $\mu\text{mol/L}$ ); mean $\pm$ standard deviation	353.3 $\pm$ 55.0	259.0 $\pm$ 94.5	298.4 $\pm$ 92.7
Uric acid, 2003 measurement ( $\mu\text{mol/L}$ ); mean $\pm$ standard deviation	381.7 $\pm$ 88.7	268.9 $\pm$ 76.4	316.0 $\pm$ 98.7
Coefficient of variation between 2002 and 2003 measurement; %	11.5	49.3	39.9

Figure 1.



Bland-Altman chart for the uric acid concentration changes in men and women; dashed lines represent a cut-off value for uric acid serum concentration of 130  $\mu\text{mol/L}$ . Grey triangle – men; open circle – women.

**TABLE 2.** The association of the uric acid changes higher and lower than 130  $\mu\text{mol/L}$  with the set of 16 loci implicated in the uric acid metabolism

Gene and short nucleotide polymorphism; n (%)	Genotype	Uric acid changes		P
		higher than 130 $\mu\text{mol/L}$	lower than 130 $\mu\text{mol/L}$	
<b>PDZK1</b>				
rs1797052	AG	1 (14.3)	6 (85.7)	0.734*
	GG	12 (14.5)	71 (85.5)	
rs1298954	AA	1 (14.3)	6 (85.7)	0.999 <sup>†</sup>
	AG	6 (14.3)	36 (85.7)	
	GG	6 (14.6)	35 (85.4)	
<b>GCKR</b>				
rs780094	AA	1 (9.1)	10 (90.9)	0.059*
	AG	7 (13)	47 (87)	
	GG	5 (20.8)	19 (79.2)	
<b>SLC2A9</b>				
rs13129697	AA	6 (23.1)	20 (76.9)	0.024*
	AC	6 (13)	40 (87)	
	CC	1 (5.6)	17 (94.4)	
rs4447863	AA	1 (11.1)	8 (88.9)	0.191 <sup>†</sup>
	AG	8 (22.9)	27 (77.1)	
	GG	4 (8.7)	42 (91.3)	
rs13131257	AA	0 (0)	9 (100)	0.385 <sup>†</sup>
	AG	6 (14.3)	36 (85.7)	
	GG	7 (17.9)	32 (82.1)	
rs6449213	AA	8 (20.5)	31 (79.5)	0.269 <sup>†</sup>
	AG	5 (12.2)	36 (87.8)	
	GG	0 (0)	8 (100)	
rs1014290	AA	7 (22.6)	24 (77.4)	0.015*
	AG	6 (13)	40 (87)	
	GG	0 (0)	13 (100)	
rs733175	AA	9 (23.1)	30 (76.9)	0.096 <sup>†</sup>
	AG	4 (9.5)	38 (90.5)	
	GG	0 (0)	9 (100)	
<b>ABCG2</b>				
rs2231142	AC	1 (11.1)	8 (88.9)	0.616*
	CC	12 (14.8)	69 (85.2)	
<b>LRRC16A</b>				
rs9358856	AA	1 (50)	1 (50)	0.062*
	AG	3 (17.6)	14 (82.4)	
	GG	9 (12.7)	62 (87.3)	
<b>SLC17A3</b>				
rs9393672	AA	5 (50)	5 (50)	0.003 <sup>†</sup>
	AC	5 (11.6)	38 (88.4)	
	CC	3 (8.1)	34 (91.9)	
rs942379	AA	5 (62.5)	3 (37.5)	<0.001 <sup>†</sup>
	AG	5 (11.9)	37 (88.1)	
	GG	3 (7.7)	36 (92.3)	
<b>SLC16A9</b>				
rs2242206	AA	1 (20)	4 (80)	0.087*

**TABLE 2.** Continued... The association of the uric acid changes higher and lower than 130  $\mu\text{mol/L}$  with the set of 16 loci implicated in the uric acid metabolism

Gene and short nucleotide polymorphism; n (%)	Genotype	Uric acid changes		P
		higher than 130 $\mu\text{mol/L}$	lower than 130 $\mu\text{mol/L}$	
SLC22A12	AC	4 (14.8)	23 (85.2)	
	CC	8 (13.8)	50 (86.2)	
rs2078267	AA	4 (21.1)	15 (78.9)	0.050*
	AG	6 (13.3)	39 (86.7)	
	GG	3 (11.5)	23 (88.5)	
rs505802	AA	6 (14.6)	35 (85.4)	0.062*
	AG	7 (17.1)	34 (82.9)	
	GG	0 (0.0)	8 (100.0)	
Total; n (%)	-	13 (14.3)	78 (85.7)	-

\*Fisher exact test.

<sup>†</sup> $\chi^2$  test.

8 women and only 2 men in top 10 samples. The use of Bland-Altman agreement approach indicated that there were directional changes in uric acid concentrations in men, while it showed seemingly equal dispersal in women (Figure 1). This was further confirmed using the *t*-test for repeated samples, where the entire sample showed significant change between the 2002 and 2003 measurements ( $P < 0.001$ ). This was due to the changes in men ( $P < 0.001$ ) but not in women ( $P = 0.916$ ).

The changes of serum uric acid concentration greater than 130  $\mu\text{mol/L}$  were then correlated with a set of 16 SNPs that were previously associated with the serum uric acid concentrations in cross-sectional studies. The analysis yielded 2 SNPs that were significantly associated with these changes, both belonging to a single gene, SLC17A3 (Table 2). The subsequent analysis suggested that these 2 SNPs were in a strong linkage disequilibrium ( $r^2 = 0.923$ ). Despite overall small sample size, the total sample was additionally stratified by sex in order to investigate possible sex-specific differences. This revealed that the changes of uric acid concentration were not associated with these 2 SNPs (rs9393672 and rs942379) in men ( $P = 0.073$  and  $P = 0.061$ , respectively; Fisher exact test), but were in women ( $P = 0.003$  and  $P = 0.001$ , respectively).

Lastly, uric acid concentration was used as the target variable in 3 general linear models aiming to estimate the percent of variance that was attributable to the genetic markers. Each of the 2 selected SNPs were entered in the model as predictors separately, with 3 outcome

variables – uric acid concentration measured in 2002, measured in 2003, and average value of these 2 measurements. The results indicated that the percent of variance for SNP rs9393672 was 0.2% for 2002 measurement, 0.7% for 2003 measurement, and 1.1 for average uric acid concentration; rs942379 yielded a total of 0.7% of variance for 2002 measurement, 1.3% for 2003 measurement, and 1.8% for the average uric acid concentration.

## DISCUSSION

This study suggests that gene SLC17A3 (solute carrier family 17 [sodium phosphate] member 3, also known as NPT4 - Na(+)/PI cotransporter 4) may have a strong effect on substantial changes of serum uric acid concentration in repeated measurements, while other proposed genes were not significantly associated with these changes. Furthermore, although women showed overall greater variability of serum uric acid concentration, this study suggests that the effects of SCL17A3 were present in women but not in men.

SLC17A3 belongs to the large family of solute carriers, involved in the urinary urate reabsorption (4). However, its exact role in the urate metabolism remains to be investigated (4). Currently, it seems that mutations in this gene that involve the existence of AA genotype have a strong effect on substantial changes of the uric acid concentration, and may even be involved in the variability of serum uric acid. A step forward in this line of research could be the sequential investigation of uric acid concentration in participants with all 3 genotypes (AA, A/C, or CC for rs9393672 and AA, A/G, and GG for rs942379), based on multiple uric acid concentration measures, which could provide additional information on the extent of variation. If such a study is performed on a sex-stratified sample, it could even shed more light on the sex-dependent determination of uric acid concentration, which was suggested in a number of previous studies (3,6,8,9,45).

Serum uric acid concentration seems to be a highly complex trait, affected by a number of described genes and environmental factors (1,4,8,9,46). One of the very interesting research areas investigates the relationship of the uric acid, gout, nephrolithiasis, and metabolic syndrome (4). This is even more interesting knowing that some of the genes associated with uric acid have been independently associated with gout (47), while the other have not shown any association with either of the metabolic or even cardiovascular diseases (48). These results sug-

gest that we lack the proper information on uric acid determination, which is why some characteristics of isolated populations could be considered as an important research resource (49-51).

The use of average value of two or more phenotypic measurement instead a single measurement seems to provide an interesting way of increasing the percent of SNP-attributable explained variance in quantitative trait analysis. The amount of variance in this study increased for over one half when only two uric acid measurements were averaged compared with any single measurement. This offers an exciting possibility that a fair share of genome-wide association studies, which were as a rule based on a single measurement and yielded only a small percent of variance (52), could be substantially improved by the provision of an additional phenotypic measurement. This could also contribute to the solving one of the key contemporary issues in genetic epidemiology, a problem of missing heritability, ie, the finding that genetic markers, such as SNPs, fail to explain a substantial amount of heritability for any given trait (16). The examples for missing heritability are numerous, including heritability of height which is close to 95%, while huge genetic mapping efforts managed to identify over 40 variants which all together explain as much as 5% of total height variance (26,53-56), or type-2 diabetes where 18 loci explain as much as 6% of total variance (16). The possible causes for this discrepancy include a number of reasons, among which is also the possibility that phenotypic measurements are imprecise (19). If this is a true problem in genetic epidemiology, then we could expect to see a gradient of strength of association between genetic markers and traits that are highly repeatable and easy to measure (ie, height) toward less likely significant results in less repeatable and more variable traits (ie, serum measures, especially hormones). Since we do not often see such a gradient, especially not in height genetics (55), it could be hypothesized that this mechanism is not particularly strong or prevalent. Furthermore, such problems are likely to be overcome in meta-analytic studies, which serve as a potent mechanism for random variation removal or control, with substantial enrichment of significant results (9), compared with results from a single study (8). Nevertheless, the results presented here suggest that phenotyping inaccuracy may introduce certain amount of variance dissolution, and that the averaging of two measurements of the same trait may increase the percent of explained variance.

The limitations of this study include a rather small sample size, which may have caused the large coefficient of vari-

ation. Due to this, one of next steps is to replicate these results in an independent population or populations. Furthermore, the samples originated from an isolated population with possibly unique genetic make-up and specific environmental determinants, making these results perhaps less generalizable. Furthermore, certain levels of relatedness were expected among participants, which could have affected the results. The extent of variation recorded among women in this study was several orders of magnitude greater than that in a previously published one (11), which could also be regarded as a local population feature, acting in favor of detecting a gene associated with strong serum uric acid changes. Despite all these limitations, this study suggests that uric acid concentration changes in longitudinal measurements are under strong effect of the SLC17A3 gene. If similar results are obtained in other studies, it could be hypothesized that repeated phenotypic measurements may provide a substantial contribution toward understanding of such a fundamental questions of modern genetic epidemiology as the missing heritability.

#### Acknowledgments

This study was supported through the grants from the Medical Research Council UK to Alan F. Wright, Harry Campbell, and Igor Rudan; and Ministry of Science, Education and Sport of the Republic of Croatia to I.R. (No. 216-1080315-0302). The authors collectively thank a large number of individuals for their individual help in obtaining funding support, organizing, planning, and carrying out the field work related to the project, and for assistance with data management, analysis, and interpretation: the teams from the Medical Research Council Human Genetics Unit in Edinburgh and The University of Edinburgh, UK, led by Professors Nicholas D. Hastie, Alan Wright, and Harry Campbell, including Caroline Hayward and Veronique Vitart (for funding support, intellectual input in study design, and their role in data management, analysis, and interpretation); Professor Pavao Rudan and the staff of the Institute for Anthropological Research in Zagreb, Croatia (organization of the field work, anthropometric and physiological measurements, and DNA extraction); Professor Ariana Vorko-Jović and the staff and medical students of the Andrija Štampar School of Public Health of the Medical School, University of Zagreb, Croatia (questionnaires, genealogical reconstruction, and data entry); Dr Branka Salzer from the biochemistry lab "Salzer," Croatia (measurements of biochemical traits); local general practitioners and nurses (recruitment and communication with the study population); and the employees of several other Croatian institutions who par-

ticipated in the field work, including but not limited to the University of Rijeka; Croatian Institute of Public Health; Institutes of Public Health in Split and Dubrovnik. SNP Genotyping of the Vis samples was carried out by the Genetics Core Laboratory at the Wellcome Trust Clinical Research Facility, WGH, Edinburgh.

#### References

- 1 Johnson RJ, Tittle S, Cade JR, Rideout BA, Oliver WJ. Uric acid, evolution and primitive cultures. *Semin Nephrol.* 2005;25:3-8. [Medline:15660328](#) [doi:10.1016/j.semnephrol.2004.09.002](#)
- 2 Dehghan A, van Hoek M, Sijbrands EJ, Hofman A, Witteman JC. High serum uric acid as a novel risk factor for type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 2008;31:361-2. [Medline:17977935](#) [doi:10.2337/dc07-1276](#)
- 3 Johnson RJ, Gaucher EA, Sautin YY, Henderson GN, Angerhofer AJ, Benner SA. The planetary biology of ascorbate and uric acid and their relationship with the epidemic of obesity and cardiovascular disease. *Med Hypotheses.* 2008;71:22-31. [Medline:18331782](#) [doi:10.1016/j.mehy.2008.01.017](#)
- 4 Riches PL, Wright AF, Ralston SH. Recent insights into the pathogenesis of hyperuricaemia and gout. *Hum Mol Genet.* 2009;18:R177-84. [Medline:19808794](#) [doi:10.1093/hmg/ddp369](#)
- 5 Feig DI, Kang DH, Johnson RJ. Uric acid and cardiovascular risk. *N Engl J Med.* 2008;359:1811-21. [Medline:18946066](#) [doi:10.1056/NEJMr0800885](#)
- 6 Alatalo PI, Koivisto HM, Hietala JP, Bloigu RS, Niemela OJ. Gender-dependent impacts of body mass index and moderate alcohol consumption on serum uric acid—an index of oxidant stress status? *Free Radic Biol Med.* 2009;46:1233-8. [Medline:19439211](#) [doi:10.1016/j.freeradbiomed.2009.02.002](#)
- 7 Baillie JK, Bates MG, Thompson AA, Waring WS, Partridge RW, Schnopp MF, et al. Endogenous urate production augments plasma antioxidant capacity in healthy lowland subjects exposed to high altitude. *Chest.* 2007;131:1473-8. [Medline:17494796](#) [doi:10.1378/chest.06-2235](#)
- 8 Vitart V, Rudan I, Hayward C, Gray NK, Floyd J, Palmer CN, et al. SLC2A9 is a newly identified urate transporter influencing serum urate concentration, urate excretion and gout. *Nat Genet.* 2008;40:437-42. [Medline:18327257](#) [doi:10.1038/ng.106](#)
- 9 Kolz M, Johnson T, Sanna S, Teumer A, Vitart V, Perola M, et al. Meta-analysis of 28,141 individuals identifies common variants within five new loci that influence uric acid concentrations. *PLoS Genet.* 2009;5:e1000504. [Medline:19503597](#) [doi:10.1371/journal.pgen.1000504](#)
- 10 Devgun MS, Dhillon HS. Importance of diurnal variations on clinical value and interpretation of serum urate measurements. *J Clin Pathol.* 1992;45:110-3. [Medline:1541689](#) [doi:10.1136/jcp.45.2.110](#)
- 11 Yu KH, Luo SF, Tsai WP, Huang YY. Intermittent elevation of serum

- urate and 24-hour urinary uric acid excretion. *Rheumatology*. 2004;43:1541-5. [Medline:15328425](#) [doi:10.1093/rheumatology/keh379](#)
- 12 Goldstein RA, Becker KL, Moore CF. Serum urate in healthy men. Intermittent elevations and seasonal effect. *N Engl J Med*. 1972;287:649-50. [Medline:5076459](#)
  - 13 Rahe RH, Rubin RT, Arthur RJ. The three investigators study. Serum uric acid, cholesterol, and cortisol variability during stresses of everyday life. *Psychosom Med*. 1974;36:258-68. [Medline:4829620](#)
  - 14 Rahe RH, Rubin RT, Arthur RJ, Clark BR. Serum uric acid and cholesterol variability. A comprehensive view of underwater demolition team training. *JAMA*. 1968;206:2875-80. [Medline:5755010](#) [doi:10.1001/jama.206.13.2875](#)
  - 15 Kuzuya M, Ando F, Iguchi A, Shimokata H. Effect of aging on serum uric acid levels: longitudinal changes in a large Japanese population group. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2002;57:M660-4. [Medline:12242321](#)
  - 16 Manolio TA, Collins FS, Cox NJ, Goldstein DB, Hindorff LA, Hunter DJ, et al. Finding the missing heritability of complex diseases. *Nature*. 2009;461:747-53. [Medline:19812666](#) [doi:10.1038/nature08494](#)
  - 17 Dupuis J, Langenberg C, Prokopenko I, Saxena R, Soranzo N, Jackson AU, et al. New genetic loci implicated in fasting glucose homeostasis and their impact on type 2 diabetes risk. *Nat Genet*. 2010;42:105-16. [Medline:20081858](#) [doi:10.1038/ng.520](#)
  - 18 Wray NR, Goddard ME, Visscher PM. Prediction of individual genetic risk of complex disease. *Curr Opin Genet Dev*. 2008;18:257-63. [Medline:18682292](#) [doi:10.1016/j.gde.2008.07.006](#)
  - 19 Maher B. Personal genomes: The case of the missing heritability. *Nature*. 2008;456:18-21. [Medline:18987709](#) [doi:10.1038/456018a](#)
  - 20 Rudan I. The land of 1000 islands. *Croat Med J*. 2006;47:523-5.
  - 21 Rudan I. Health effects of human population isolation and admixture. *Croat Med J*. 2006;47:526-31. [Medline:16909449](#)
  - 22 Rudan I, Biloglav Z, Carothers AD, Wright AF, Campbell H. Strategy for mapping quantitative trait loci (QTL) by using human metapopulations. *Croat Med J*. 2006;47:532-42. [Medline:16909450](#)
  - 23 Rudan I, Biloglav Z, Vorko-Jovic A, Kujundzic-Tiljak M, Stevanovic R, Ropac D, et al. Effects of inbreeding, endogamy, genetic admixture, and outbreeding on human health: a (1001 Dalmatians) study. *Croat Med J*. 2006;47:601-10. [Medline:16909458](#)
  - 24 Rudan I, Campbell H, Rudan P. Genetic epidemiological studies of eastern Adriatic Island isolates, Croatia: objective and strategies. *Coll Antropol*. 1999;23:531-46. [Medline:10646227](#)
  - 25 Repapi E, Sayers I, Wain LV, Burton PR, Johnson T, Obeidat M, et al. Genome-wide association study identifies five loci associated with lung function. *Nat Genet*. 2010;42:36-44. [Medline:20010834](#) [doi:10.1038/ng.501](#)
  - 26 Johansson A, Marroni F, Hayward C, Franklin CS, Kirichenko AV, Jonasson I, et al. Common variants in the JAZF1 gene associated with height identified by linkage and genome-wide association analysis. *Hum Mol Genet*. 2009;18:373-80. [Medline:18952825](#) [doi:10.1093/hmg/ddn350](#)
  - 27 Knezevic A, Polasek O, Gornik O, Rudan I, Campbell H, Hayward C, et al. Variability, heritability and environmental determinants of human plasma N-glycome. *J Proteome Res*. 2009;8:694-701. [Medline:19035662](#) [doi:10.1021/pr800737u](#)
  - 28 Pattaro C, Aulchenko YS, Isaacs A, Vitart V, Hayward C, Franklin CS, et al. Genome-wide linkage analysis of serum creatinine in three isolated European populations. *Kidney Int*. 2009;76:297-306. [Medline:19387472](#) [doi:10.1038/ki.2009.135](#)
  - 29 Vitart V, Biloglav Z, Hayward C, Janicijevic B, Smolej-Narancic N, Barac L, et al. 3000 years of solitude: extreme differentiation in the island isolates of Dalmatia, Croatia. *Eur J Hum Genet*. 2006;14:478-87. [Medline:16493443](#) [doi:10.1038/sj.ejhg.5201589](#)
  - 30 Campbell H, Carothers AD, Rudan I, Hayward C, Biloglav Z, Barac L, et al. Effects of genome-wide heterozygosity on a range of biomedically relevant human quantitative traits. *Hum Mol Genet*. 2007;16:233-41. [Medline:17220173](#) [doi:10.1093/hmg/ddl473](#)
  - 31 McQuillan R, Leutenegger AL, Abdel-Rahman R, Franklin CS, Pericic M, Barac-Lauc L, et al. Runs of homozygosity in European populations. *Am J Hum Genet*. 2008;83:359-72. [Medline:18760389](#) [doi:10.1016/j.ajhg.2008.08.007](#)
  - 32 Rudan I, Carothers AD, Polasek O, Hayward C, Vitart V, Biloglav Z, et al. Quantifying the increase in average human heterozygosity due to urbanisation. *Eur J Hum Genet*. 2008;16:1097-102. [Medline:18322453](#) [doi:10.1038/ejhg.2008.48](#)
  - 33 Carothers AD, Rudan I, Kolcic I, Polasek O, Hayward C, Wright AF, et al. Estimating human inbreeding coefficients: comparison of genealogical and marker heterozygosity approaches. *Ann Hum Genet*. 2006;70:666-76. [Medline:16907711](#) [doi:10.1111/j.1469-1809.2006.00263.x](#)
  - 34 Navarro P, Vitart V, Hayward C, Tenesa A, Zgaga L, Juricic D, et al. Genetic comparison of a Croatian isolate and CEPH European founders. *Genet Epidemiol*. 2010;34:140-5. [Medline:19697321](#)
  - 35 Pulanic D, Polasek O, Petrovec M, Vorko-Jovic A, Pericic M, Lauc LB, et al. Effects of isolation and inbreeding on human quantitative traits: an example of biochemical markers of hemostasis and inflammation. *Hum Biol*. 2008;80:513-33. [Medline:19341321](#) [doi:10.3378/1534-6617-80.5.513](#)
  - 36 Ivkovic V, Vitart V, Rudan I, Janicijevic B, Smolej-Narancic N, Skaric-Juric T, et al. The Eysenck personality factors: Psychometric structure, reliability, heritability and phenotypic and genetic correlations with psychological distress in an isolated Croatian population. *Pers Individ Dif*. 2007;42:123-33. [doi:10.1016/j.paid.2006.06.025](#)
  - 37 Smoljanovic A, Vorko-Jovic A, Kolcic I, Bernat R, Stojanovic D, Polasek O. Micro-scale socioeconomic inequalities and health indicators in a small isolated community of Vis Island, Croatia. *Croat Med J*. 2007;48:734-40. [Medline:17948960](#)
  - 38 Kolcic I, Polasek O, Rudan I. Gender differences in spousal

- household material status estimation. *J Epidemiol Community Health*. 2009;63:175-6. [Medline:19141665](#) [doi:10.1136/jech.2008.077123](#)
- 39 Rudan I, Marusic A, Jankovic S, Rotim K, Boban M, Lauc G, et al. "10001 Dalmatians:" Croatia launches its national biobank. *Croat Med J*. 2009;50:4-6. [Medline:19260138](#) [doi:10.3325/cmj.2009.50.4](#)
- 40 Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet*. 1986;1:307-10. [Medline:2868172](#)
- 41 Altman DG, Bland JM. Measurement in medicine: the analysis of method comparison studies. *Statistician*. 1983;32:307-17. [doi:10.2307/2987937](#)
- 42 Purcell S, Neale B, Todd-Brown K, Thomas L, Ferreira MA, Bender D, et al. PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *Am J Hum Genet*. 2007;81:559-75. [Medline:17701901](#) [doi:10.1086/519795](#)
- 43 The R. Foundation for Statistical Computing. The R Project for Statistical Computing. Available from: <http://www.r-project.org/index.html>. Accessed: February 2, 2010.
- 44 Simple Interactive Statistical Analysis. Fisher 2 by 5. Available from: <http://www.quantitativeskills.com/sisa/statistics/five2hlp.htm>. Accessed: February 2, 2010.
- 45 Brandstatter A, Kiechl S, Kollerits B, Hunt SC, Heid IM, Coassin S, et al. Sex-specific association of the putative fructose transporter SLC2A9 variants with uric acid levels is modified by BMI. *Diabetes Care*. 2008;31:1662-7. [Medline:18487473](#) [doi:10.2337/dc08-0349](#)
- 46 van der Harst P, Bakker SJ, de Boer RA, Wolffenbuttel BH, Johnson T, Caulfield MJ, et al. Replication of the five novel loci for uric acid concentrations and potential mediating mechanisms. *Hum Mol Genet*. 2010;19:387-95. [Medline:19861489](#) [doi:10.1093/hmg/ddp489](#)
- 47 Dehghan A, Kottgen A, Yang Q, Hwang SJ, Kao WL, Rivadeneira F, et al. Association of three genetic loci with uric acid concentration and risk of gout: a genome-wide association study. *Lancet*. 2008;372:1953-61. [Medline:18834626](#) [doi:10.1016/S0140-6736\(08\)61343-4](#)
- 48 Stark K, Reinhard W, Grassl M, Erdmann J, Schunkert H, Illig T, et al. Common polymorphisms influencing serum uric acid levels contribute to susceptibility to gout, but not to coronary artery disease. *PLoS One*. 2009;4:e7729. [Medline:19890391](#) [doi:10.1371/journal.pone.0007729](#)
- 49 Kolcic I, Vorko-Jovic A, Salzer B, Smoljanovic M, Kern J, Vuletic S. Metabolic syndrome in a metapopulation of Croatian island isolates. *Croat Med J*. 2006;47:585-92. [Medline:16909456](#)
- 50 Polasek O, Kolcic I, Smoljanovic A, Stojanovic D, Grgic M, Ebling B, et al. Demonstrating reduced environmental and genetic diversity in human isolates by analysis of blood lipid levels. *Croat Med J*. 2006;47:649-55. [Medline:16909463](#)
- 51 Hicks AA, Pramstaller PP, Johansson A, Vitart V, Rudan I, Ugocsai P, et al. Genetic determinants of circulating sphingolipid concentrations in European populations. *PLoS Genet*. 2009;5:e1000672. [Medline:19798445](#) [doi:10.1371/journal.pgen.1000672](#)
- 52 Wray NR, Goddard ME, Visscher PM. Prediction of individual genetic risk to disease from genome-wide association studies. *Genome Res*. 2007;17:1520-8. [Medline:17785532](#) [doi:10.1101/gr.6665407](#)
- 53 Lettre G, Jackson AU, Gieger C, Schumacher FR, Berndt SI, Sanna S, et al. Identification of ten loci associated with height highlights new biological pathways in human growth. *Nat Genet*. 2008;40:584-91. [Medline:18391950](#) [doi:10.1038/ng.125](#)
- 54 Gudbjartsson DF, Walters GB, Thorleifsson G, Stefansson H, Halldorsson BV, Zusmanovich P, et al. Many sequence variants affecting diversity of adult human height. *Nat Genet*. 2008;40:609-15. [Medline:18391951](#) [doi:10.1038/ng.122](#)
- 55 Visscher PM. Sizing up human height variation. *Nat Genet*. 2008;40:489-90. [Medline:18443579](#) [doi:10.1038/ng0508-489](#)
- 56 Sanna S, Jackson AU, Nagaraja R, Willer CJ, Chen WM, Bonnycastle LL, et al. Common variants in the GDF5-UQCC region are associated with variation in human height. *Nat Genet*. 2008;40:198-203. [Medline:18193045](#) [doi:10.1038/ng.74](#)



**ANKETNI UPITNIK - SPLIT 2013**

**PRISTANAK NA SUDJELOVANJE U ISTRAŽIVANJU**

1. Potvrđujem da sam pročitao/pročitala obavijest za navedeno znanstveno istraživanje te sam imao/imala priliku postavljati pitanja DA / NE
2. Razumijem da je moje sudjelovanje dobrovoljno te se mogu povući u bilo koje vrijeme, bez navođenja razloga i bez ikakvih zdravstvenih ili pravnih posljedica DA / NE
3. Pristajem da moj obiteljski liječnik, odnosno član obitelji, bude upoznat s mojim sudjelovanjem u navedenom znanstvenom istraživanju DA / NE
4. Želim sudjelovati u navedenom znanstvenom istraživanju DA / NE
5. Uz općenit pristanak na sudjelovanje, dajem i ove dodatne pristanke:
  - Da se u svrhu budućih znanstvenih istraživanja prikupljeni podaci i uzorci mogu poslati na analizu u inozemstvo, ako u Hrvatskoj ne bude postojala oprema za njihovu analizu, ali bez podataka o mojem imenu i prezimenu DA / NE
  - Da se u svrhu budućeg znanstvenog istraživanja smije očitati moja cjelokupna genetska informacija sadržana u DNK (tzv. sekvencioniranje) , ali bez podataka o mojem imenu i prezimenu DA / NE
  - Da se u svrhu budućih istraživanja smije dopustiti uvid drugim skupinama istraživača u ove podatke, ali samo uz uvjet da oni ostanu anonimni i ne mogu se ni na koji način povezati sa mnom DA / NE

PREZIME: \_\_\_\_\_ IME: \_\_\_\_\_

DJEVOJAČKO PREZIME: \_\_\_\_\_ DATUM ROĐENJA: \_\_\_\_\_

TELEFON: \_\_\_\_\_ E-mail: \_\_\_\_\_

ADRESA: \_\_\_\_\_

Želim da mi rezultate pošaljete:   
1) e-mailom   
2) poštom   
3) osobno ću ih preuzeti

\_\_\_\_\_  
Potpis sudionika u istraživanju

\_\_\_\_\_  
SPL Šifra

Datum dolaska \_\_\_\_\_ 2013.

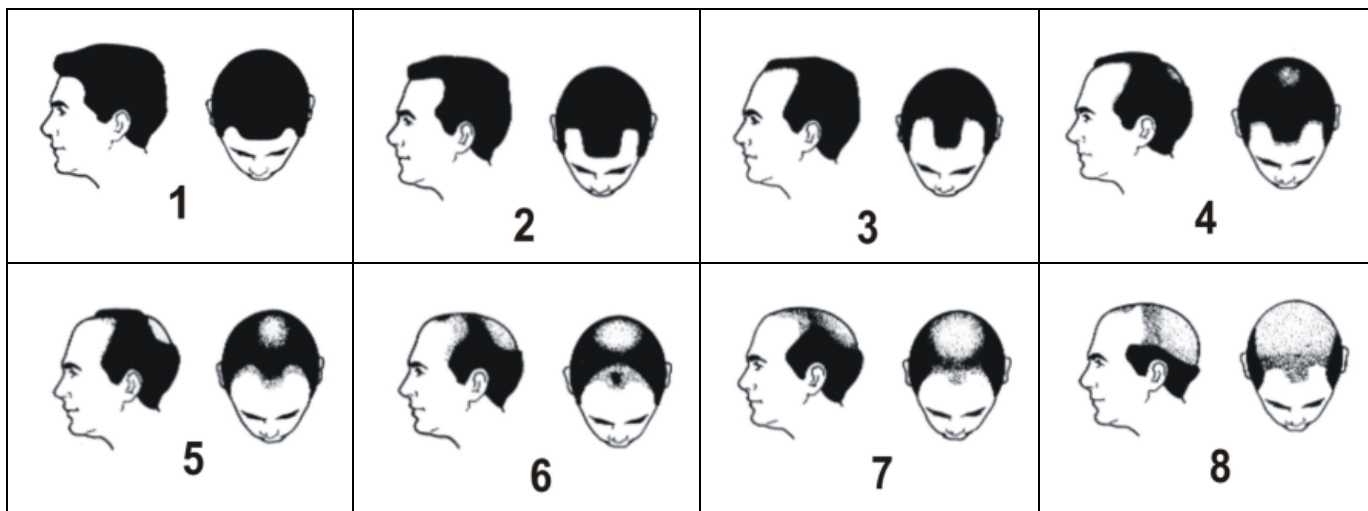
Potvrdio \_\_\_\_\_

**Upitnik za žene:**

- F1. U kojoj ste dobi imali prvu menstruaciju: \_\_\_\_\_ g
- F2. Imate li još uvijek menstrualni ciklus? (1) Da (2) Ne
- F3. Ako nemate, u kojoj je dobi prestao? \_\_\_\_\_ g
- F4. Kako je prestao? (1) prirodno; (2) nakon zahvata
- F5. Koliko ste djece rodili? \_\_\_\_\_
- F6. Jeste li u trudnoći imali visoki krvni tlak? (1) Da, u \_\_\_ trudnoći (2) Ne
- F7. Jeste li tijekom trudnoće imali dijabetes? (1) Da, u \_\_\_ trudnoći (2) Ne
- F8. Jeste li imali mrtvorođenčad i koliko puta? (1) Da, \_\_\_\_\_ puta (2) Ne
- F9. Jeste li imali imali spontani pobačaj? (1) Da, \_\_\_\_\_ puta (2) Ne
- F10. Jeste li imali kirurški pobačaj? (1) Da, \_\_\_\_\_ puta (2) Ne
- F11. Jeste li ikad koristili kontracepcijske pilule? (1) Da, ukupno \_\_\_\_\_ godina (2) Ne
- F12. Koristite li trenutno kontracepcijske pilule? (1) Da (2) Ne
- F13. Jeste li koristili hormonsko nadomjesno liječenje? (1) Da, \_\_\_ godina (2) Ne
- F14. Koristite li sada hormonsko nadomjesno liječenje? (1) Da (2) Ne

**Upitnik za muškarce - ćelavost:**

M1. Koja od ovih 8 slika najbolje opisuje Vaš izgled kose? Zaokružite točan odgovor.



**9** bez kose (potpuna ćelavost)

M2. Koliko ste godina imali kada je Vaš izgled kose dostigao taj stupanj? \_\_\_\_\_

Šifra: SPL \_\_\_\_\_

**Upitnik o zdravstvenom stanju i ponašanju**

1. Jeste li posljednje 2 godine bili na:

		Koje godine (koliko često):	Je li rezultat bio uredan:	Ako NE, što je pronađeno?
Općem zdravstvenom (sistematskom) pregledu	DA / NE		DA / NE / NE ZNAM	
Preventivnom pregledu kod zubara	DA / NE		DA / NE / NE ZNAM	
Kontroli šećera u krvi	DA / NE		DA / NE / NE ZNAM	
Kontroli tlaka	DA / NE		DA / NE / NE ZNAM	
Hemokult testu iz uzorka stolice	DA / NE		DA / NE / NE ZNAM	
RTG-u ili CT-u pluća	DA / NE		DA / NE / NE ZNAM	
Kolonoskopiji	DA / NE		DA / NE / NE ZNAM	
PAPA testu (žene)	DA / NE		DA / NE / NE ZNAM	
Mamografiji (žene)	DA / NE		DA / NE / NE ZNAM	
PSA testu (muškarci)	DA / NE		DA / NE / NE ZNAM	

2. Imate li Vi osobno ili ste nekada imali neku od ovih bolesti:

(a) Da/Ne      (b) God. Dg.      (c) Uzimate li lijekove:

- a. Povišen krvni tlak: \_\_\_\_\_
- b. Koronarnu bolest srca: \_\_\_\_\_
- c. Moždani udar: \_\_\_\_\_
- d. Shizofreniju: \_\_\_\_\_
- e. Maniju / depresiju: \_\_\_\_\_
- f. Zloćudni tumor: \_\_\_\_\_
- g. Šećernu bolest: \_\_\_\_\_
- h. Giht: \_\_\_\_\_
- i. Glaukom: \_\_\_\_\_
- j. Upalu zglobova: \_\_\_\_\_
- k. Bubrežnu bolest: \_\_\_\_\_
- l. Ulkusnu bolest (čir): \_\_\_\_\_

3. Ostale bolesti: \_\_\_\_\_

4. Ostali lijekovi koje uzimate (za dijabetes precizirati: dijeta / biljni / oralni / injekc. inzulin):

---

5. Jeste li ikada liječeni u bolnici i zbog čega? (navesti godinu i sve eventualne operacije):

---



---

6. Je li Vam dijagnosticirana neka nova bolest ili poremećaj od zadnjeg pregleda (nakon 2010)?

---



---

7. Jesu li Vam ikad dijagnosticirani polipi debelog crijeva? 1. Da 2. Ne (idite na pitanje 8)

Ako DA, u dobi od \_\_\_\_\_ godina; Broj polipa \_\_\_\_\_; Veličina polipa (u mm) \_\_\_\_\_

8. Bolujete li od čestih upala mokraćnog mjehura (više od 1 godišnje)? 1. Da 2. Ne 3. Ne znam

9. Jeste li ikad bolovali od tumora? 1. Da 2. Ne (idite na pitanje 11)

9a. Ako DA, koji tumor je dijagnosticiran? \_\_\_\_\_

9b. Godina dijagnoze \_\_\_\_\_ 9c. Stadij tumora \_\_\_\_\_ 9d. Dobročudan (1)/Zloćudan (2) \_\_\_\_\_

9e. Broj tumora \_\_\_\_\_ 9f. Veličina tumora (u cm) \_\_\_\_\_ 9g. Metastaze 1. Da 2. Ne

9h. Na koji način je liječen tumor? (moguće zaokružiti više odgovora):

1. Operacija 2. Zračenje 3. Kemoterapija 4. Hormonska terapija 5. Imunoterapija

10. Jeste li bolovali od još nekih tumora? Opis: \_\_\_\_\_

---

11. Označite ako je kome iz Vaše obitelji ikada dijagnosticiran tumor:

	Godina rođenja	Godina dijagnoze	Eventualna godina smrti	Anatomska lokacija tumora	Tip tumora (benigni, maligni, ...)
Vaša majka					
Vaš otac					
Majčina majka					
Majčin otac					
Očeva majka					
Očev otac					
Sestra					
Brat					
Kći					
Sin					

**ANTROPOMETRIJA**

12. Ukupan broj prirođenih pjega većih od 1cm boje bijele kave: \_\_\_\_\_; Obilježja: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_ (lijevo/desno, hipo/hiperpg, lokacija)

13. Ima li netko u obitelji prirodene pjege? Tko? \_\_\_\_\_

14. Jeste li alergični na nešto? Što? \_\_\_\_\_

15. Uzimate li trenutno lijekove za alergiju? Koje? \_\_\_\_\_

16. VISINA TIJELA \_\_\_\_\_ mm

17. TJELESNA MASA \_\_\_\_\_ kg

18. RUKA-STERNUM L: \_\_\_\_\_ mm

RUKA-STERNUM D: \_\_\_\_\_ mm

19. OPSEG NADLAKTICE L: \_\_\_\_\_ mm

OPSEG NADLAKTICE D: \_\_\_\_\_ mm

20. EPIKONDILARNA ŠIRINA L: \_\_\_\_\_ mm

EPIKONDILARNA ŠIRINA D: \_\_\_\_\_ mm

21. OPSEG VRATA \_\_\_\_\_ mm

22. OPSEG GLAVE \_\_\_\_\_ mm

23. OPSEG TRBUHA \_\_\_\_\_ mm

24. OPSEG KUKOVA \_\_\_\_\_ mm

25. KRVNI TLAK U MIROVANJU

	Lijeva ruka:	Desna ruka:	Ležeći (AG):
Sistolički	_____	_____	_____
Dijastolički	_____	_____	_____

26. >AG< \_\_\_\_\_ cAix: \_\_\_\_\_ PWV: \_\_\_\_\_ cSP: \_\_\_\_\_ HR: \_\_\_\_\_

27. >SC< \_\_\_\_\_ cAix: \_\_\_\_\_ PWV: \_\_\_\_\_ cSP: \_\_\_\_\_ cDP: \_\_\_\_\_

**28. SPIROMETRIJA**

	1. mjerenje	2. mjerenje
FEV1		
FVC		
PEF		

29. MINERALNA GUSTOĆA KOSTI T-score \_\_\_\_\_ SOS \_\_\_\_\_ BUA \_\_\_\_\_

30. Dominantna ruka: Desna \_\_\_\_ Lijeva \_\_\_\_ Podjednako koristim obje \_\_\_\_
31. Jeste li u zadnjih 48 sati uzimali neki lijek koji može utjecati na osjet boli: Da Ne
32. Koliko često koristite neki od lijekova za ublažavanje boli?  
a) svakodnevno b) nekoliko puta tjedno c) nekoliko puta mjesečno d) rijetko e) nikada
33. Koje lijekove koristite protiv bolova? \_\_\_\_\_

34. PPT  
D \_\_\_\_\_ TOL D \_\_\_\_\_  
L \_\_\_\_\_ TOL L \_\_\_\_\_

## 35. Prag mirisa

Tester	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Prepozn.												
Određ.												

## 36. Prag okusa:

Kartica	OKUS A		OKUS B		OKUS C		OKUS D	
	A1	A2	B1	B2	C1	C2	D1	D2
1								
2								
3								
4								
5								
6								
Intenzitet5								
Hedonizam5								
Intenzitet6								
Hedonizam6								

37. PTC I: \_\_\_\_\_ H: \_\_\_\_\_ 38. Pušite li duhan: Da Ne Bivši pušač Pasivno pušenje
39. Prema Vašoj procjeni, u odnosu na druge ljude Vaš osjet okusa je:  
a) mnogo bolji od drugih b) bolji c) jednak d) lošiji e) mnogo lošiji od drugih
40. Jeste li imali operaciju tonzila (krajnika, angina)? 1. Da, sa \_\_\_\_\_ godina 2. Ne
41. Jeste li ikada imali upalu srednjeg uha koja je zahtijevala antibiotsku terapiju?  
1. Da, \_\_\_\_\_ puta 2. Ne 3. Ne znam

**Poštovani, pred Vama se nalazi anketa vezana uz zdravlje i bolesti. Molimo Vas da ispunite podatke na najbolji mogući način, kako bismo ih mogli povezati sa zdravstvenim stanjem i shvatiti što od toga je važno za zdravlje i pojavu bolesti. Anketu molimo ispunjavajte na način da zaokružujete odgovore koji se odnose na Vas, kao u ovom primjeru:**

42. Koja je boja Vaših očiju?

- (1) plava ili siva    (2) zelena    (3) svijetlo smeđa/smeđa

**Molimo Vas da anketu ispunite čim iskrenije.**

<b>Opći podatci</b>
---------------------

42. Koja je boja Vaših očiju?

- (1) plava ili siva    (2) zelena    (3) svijetlo smeđa/smeđa

43. Koja je bila prirodna boja Vaše kose kada ste imali 20 godina?

- (1) crvena ili crvenkasta    (2) plava s crvenim odsjajem    (3) svijetlo plava  
(4) tamno plava    (5) svijetlo smeđa    (6) tamno smeđa    (7) crna

44. Mijenja li se boja Vaše kose u sijedu kako starite?

- (1) ne još    (2) imam nešto sjedina    (3) posjedila je    (4) pobijelila je    (5) nije primjenjivo

45. Koliko ste imali godina kad Vam se boja kose značajno promijenila u sijedu ili bijelu?

- (1) ista je    (2) <20    (3) 20-29    (4) 30-39    (5) 40-49    (6) 50-59  
(6) 60-69    (7) 70-79    (8) 80+    (9) nije primjenjivo

46. Imate li sluha za glazbu?

- (1) Da    (2) Ne

47. Imate li savršen muzički sluh (sposobnost da prepoznate notu/ton, npr. do, re, mi..., tako da možete otpjevati zadanu notu/ton bez da ste je prethodno čuli)?

- (1) Da    (2) Ne

48. Možete li reproducirati bilo koji ton koji ste upravo čuli?

- (1) Da    (2) Ne

49. Svirate li neki glazbeni instrument?

- (1) Da    (2) Ne

50. Jeste li naučili svirati glazbeni instrument prije osme godine života?

- (1) Da    (2) Ne

51. Imate li dobar smisao za orijentaciju?

- (1) Da    (2) Ne

52. Koje vrste masnoće pri pripremanju obroka najčešće koristite?

- (a) biljna ulja (suncokretovo, bučino i sl.) (1) uvijek; (2) ponekad; (3) nikada  
 (b) maslinovo ulje (1) uvijek; (2) ponekad; (3) nikada  
 (c) maslac (1) uvijek; (2) ponekad; (3) nikada  
 (d) svinjsku mast ili drugu životinjsku masnoću (1) uvijek; (2) ponekad; (3) nikada

53a. Kod pripremanja obroka, povrće najčešće (zaokružite samo jedan odgovor):

- (1) kuhate; (2) pirjate (dinstano); (3) pržite; (4) pečete; (5) ne jedem povrće

53b. Kod pripremanja obroka, meso najčešće (zaokružite samo jedan odgovor):

- (1) kuhate; (2) pirjate (dinstano); (3) pržite; (4) pečete; (5) ne jedem meso

54. Koliko šećera dnevno uzimate (za kavu, bijelu kavu, čaj, pri pripremi sokova)?

- (0) ne uzimam šećer; (1) jednu čajnu žličicu; (2) jednu veliku žlicu; (3) više od 1 velike žlice

55. Koliko obroka u prosjeku imate kroz dan? \_\_\_\_\_ glavnih obroka i \_\_\_\_\_ međuobroka

56. Dosoljavate li hranu prije nego li ju probate?

- (0) nikada; (1) povremeno; (2) često; (3) gotovo uvijek

57. Uzimate li dodatno neke od ovih vitamina ili minerala?

- (a) vitamin A (1) svaki dan; (2) ponekad; (3) nikada;  
 (b) vitamin B-kompleks (1) svaki dan; (2) ponekad; (3) nikada;  
 (c) vitamin C (1) svaki dan; (2) ponekad; (3) nikada;  
 (d) vitamin D (1) svaki dan; (2) ponekad; (3) nikada;  
 (e) vitamin E (1) svaki dan; (2) ponekad; (3) nikada;  
 (f) multivitamini (1) svaki dan; (2) ponekad; (3) nikada;  
 (g) magnezij (1) svaki dan; (2) ponekad; (3) nikada;  
 (h) kalcij (1) svaki dan; (2) ponekad; (3) nikada;  
 (i) željezo (1) svaki dan; (2) ponekad; (3) nikada;  
 (j) ostali minerali (1) svaki dan; (2) ponekad; (3) nikada;

**Koliko često KONZUMIRATE ove namirnice? Molimo odgovorite na svako pitanje**

NAMIRNICE	(1) Svaki dan	(2) 2-3 x tjedno	(3) 1 x tjedno	(4) 1 x mjes.	(5) Rijetko	(6) Nikada
58. Mlijeko	1	2	3	4	5	6
59. Jogurt, AB kultura, kefir	1	2	3	4	5	6
60. Vrhnje	1	2	3	4	5	6
61. Sir – svježi	1	2	3	4	5	6
62. Sir – topljeni	1	2	3	4	5	6
63. Sir – tvrdi	1	2	3	4	5	6
64. Svinjetina	1	2	3	4	5	6
65. Govedina	1	2	3	4	5	6
66. Teletina	1	2	3	4	5	6
67. Janjetina	1	2	3	4	5	6



NAMIRNICE	(1) Svaki dan	(2) 2-3 x tjedno	(3) 1 x tjedno	(4) 1 x mjes.	(5) Rijetko	(6) Nikada
68. Piletina	1	2	3	4	5	6
69. Puretina	1	2	3	4	5	6
70. Jetra, srce (iznutrice)	1	2	3	4	5	6
71. Panceta	1	2	3	4	5	6
72. Hrenovke, kobasice	1	2	3	4	5	6
73. Salame	1	2	3	4	5	6
74. Pršut	1	2	3	4	5	6
75. Slane srdele ili inćuni	1	2	3	4	5	6
76. Bijela riba	1	2	3	4	5	6
77. Plava riba	1	2	3	4	5	6
78. "Plodovi mora" (školjke, rakovi i sl.)	1	2	3	4	5	6
79. Lignje, hobotnica	1	2	3	4	5	6
80. Jaja	1	2	3	4	5	6
81. Lisnato pov.(salata, kelj, špinat, blitva)	1	2	3	4	5	6
82. Korjenasto (mrkva, cikla, mladi luk)	1	2	3	4	5	6
83. Cvjetasto povrće (brokula, cvjetača)	1	2	3	4	5	6
84. Plodasto (patlidžan, rajčica)	1	2	3	4	5	6
85. Leguminoze (grah, grašak, soja, bob)	1	2	3	4	5	6
86. Konzervirano i ukiseljeno povrće	1	2	3	4	5	6
87. Krumpir	1	2	3	4	5	6
88. Svježe voće	1	2	3	4	5	6
89. Orasi i orašasti proizvodi	1	2	3	4	5	6
90. Bijeli kruh i peciva	1	2	3	4	5	6
91. Sušeno voće	1	2	3	4	5	6
92. Tjestenina i riža	1	2	3	4	5	6
93. Integralni kruh i peciva	1	2	3	4	5	6
94. Kolači	1	2	3	4	5	6
95. Čokolada	1	2	3	4	5	6
96. Keksi	1	2	3	4	5	6
97. Bomboni	1	2	3	4	5	6
98. Slane grickalice (čips, štapići, itd.)	1	2	3	4	5	6
99. Džem, marmelada, žele, puding	1	2	3	4	5	6
100. Cedevita	1	2	3	4	5	6
101. Gazirana pića (Coca-Cola, itd.)	1	2	3	4	5	6
102. Pivo	1	2	3	4	5	6
103. Bijelo vino	1	2	3	4	5	6
104. Crno vino	1	2	3	4	5	6
105. Bevanda	1	2	3	4	5	6
106. Žestoka alkoholna pića	1	2	3	4	5	6
107. Kava	1	2	3	4	5	6
108. Čaj	1	2	3	4	5	6

109. Kakav doručak najviše volite (koje namirnice)? \_\_\_\_\_

110. Od čega bi se sastojao Vaš idealan ručak (navedite sve namirnice) \_\_\_\_\_

---

111. Rangirajte okuse od Vama najdražeg (1. mjesto) prema najgorem (4. mjesto)

Slano \_\_\_\_\_ Slatko \_\_\_\_\_ Kiselo \_\_\_\_\_ Gorko \_\_\_\_\_

112. Tko ima najsnažniji učinak na izbor prehrane u Vašoj obitelji (označite jedno)

Ja \_\_\_\_\_ Supružnik \_\_\_\_\_ Drugi članovi obitelji \_\_\_\_\_

#### ANKETNI UPITNIK SVJETSKE ZDRAVSTVENE ORGANIZACIJE

P113. Pušite li duhan? (1) Da (2) Ne [*idite na pit. P118*] (3) Bivši pušač [*idite na pit. P117*]

P114. Ako pušite, to su: (1) Cigarete (2) Lula (3) Cigare

P115. Koliko ih popušite dnevno? \_\_\_\_\_

P116. Tijekom koliko godina pušite? \_\_\_\_\_

P117. Ako ste bivši pušač:

(a) koliko ste godina bili pušač \_\_\_\_\_

(b) koliko ste pušili dnevno \_\_\_\_\_

(c) prije koliko godina ste prestali pušiti \_\_\_\_\_

P118. Jeste li izloženi duhanskom dimu, a da niste osobno pušač (pasivno pušenje)?

(1) Da, tijekom \_\_\_\_\_ godina; (2) Više nisam, ali bio/bila sam tijekom \_\_\_\_\_ godina; (3) Ne

P119. Koliko tjedno alkohola konzumirate?

Tip pića	Količina u litrama (tjedno)
(a) Pivo	
(b) Bijelo vino	
(c) Crno/crveno vino	
(d) Bevanda (crno vino)	
(e) Bevanda (bijelo vino)	
(f) Žestoka pića	

P120. Tjelesna aktivnost tijekom svakodnevnog rada:

(1) sjedeća (2) laka (3) umjerena (4) teška

P121. Tjelesna aktivnost tijekom ostatka dana:

(1) sjedeća (2) laka (3) umjerena (4) teška

**Koliko VOLITE ove namirnice, na skali od 1 do 9 (bez obzira na to koliko ih često jedete)?**

		Nisam nikada probao	Uopće ne volim				Srednje volim				Jako volim
113	Slani inćuni	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
114	Artičoke	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
115	Šparoge	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
116	Avokado	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
117	Pršut	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
118	Cikla	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
119	Crne masline	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
120	Bolonjez umak	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
121	Slanutak	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
122	Brokula	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
123	Kupus	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
124	Kolači	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
125	Kapari	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
126	Cvjetača	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
127	Radič	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
128	Ljute papričice	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
129	Krastavci	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
130	Tamno pivo	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
131	Tamna čokolada	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
132	Punč	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
133	Patlidžan	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
134	Espresso sa šećerom	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
135	Espresso bez šećera	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
136	Komorač	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
137	Češnjak	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
138	Kozji sir	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
139	Gorgonzola	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
140	Grejpfrut	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
141	Rakija	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
142	Zelene masline	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
143	Šunka	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
144	Topli čaj	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
145	Sladoled	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
146	Janjetina	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
147	Limun	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
148	Likeri	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
149	Svinjska jetra	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
150	Marcipan	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
151	Mliječna čokolada	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9

Koliko **VOLITE** ove namirnice, na skali od 1 do 9 (bez obzira na to koliko ih često jedete)?

		Nisam nikada probao	Uopće ne volim				Srednje volim				Jako volim
152	Mozzarella	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
153	Maslac na kruhu	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
154	Kapula	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
155	Sok od naranče	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
156	Jogurt	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
157	Nar / Šipak	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
158	Svinjetina	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
159	Crno vino	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
160	Sardine	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
161	Obrano mlijeko	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
162	Špinat	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
163	Rajčice	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
164	Lješnjake	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
165	Vrhnje	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
166	Bijelo vino	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
167	Punomasno mlijeko	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
168	Gljive	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
169	Banana	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
170	Ocat	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
171	Paprika	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
172	Slatka hrana	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
173	Slana hrana	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
174	Kisela hrana	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
175	Gorka hrana	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
176	Ljuta hrana	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
177	Meso	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
178	Masna hrana	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
179	Alkohol	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
180	Mliječni proizvodi	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
181	Povrće	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
182	Voće	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
183	Slane grickalice	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
184	Mandarine ili naranče	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
185	Dinja (lubenica)	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
186	Brokula	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
187	Mrkva/karota	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
188	Blitva	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
189	Kiseli kupus	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
190	Kiseli krastavci	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9

191. Što možete reći za sebe – jeste li osoba koja je spremna izlagati se riziku ili izbjegavate rizike? Molimo odgovorite na skali od 0 do 10, gdje je 0=nikako nisam spreman izlaganju riziku, a 10 znači da ste potpuno spremni izlaganju riziku  
0 - 1 - 2 - 3 - 4 - 5 - 6 - 7 - 8 - 9 - 10

192. Zamislite da se nalazite u situaciji u kojoj ste jedini zaposleni u svojoj obitelji i morate izabrati između dva posla. Posao **A** će Vam dati **6000 Kn** mjesečno do kraja života. Posao **B** će Vam dati **12000 Kn** mjesečno do kraja života, ali nije sigurno da ćete ga dobiti – imate 50% šanse da ćete ga dobiti.

Koji biste odabrali?      A (siguran)    B (rizičan)

193. Zamislite istu situaciju. Posao **A** će Vam dati **6000 Kn** mjesečno do kraja života. Međutim, posao **B** će Vam dati ili **12000 Kn** mjesečno do kraja života (50% šanse) ili **5000 Kn** mjesečno (50% šanse).

Koji biste odabrali?      A (siguran)    B (rizičan)

194. Zamislite istu situaciju. Posao **A** će Vam dati **6000 Kn** mjesečno do kraja života. Sada će posao **B** dati ili **12000 Kn** mjesečno do kraja života (50% šanse) ili **3000 Kn** mjesečno (50% šanse).

Koji biste odabrali?      A (siguran)    B (rizičan)

195. Što mislite, koliko će sunčanih dana biti u Splitu u kolovozu iduće godine?    \_\_\_ dana

196. Na skali od 1 do 10, koliko je točna tvrdnja da ste uvijek optimistični oko svoje budućnosti (1 nimalo optimistični, 10-izuzetno optimistični)?      0 - 1 - 2 - 3 - 4 - 5 - 6 - 7 - 8 - 9 - 10

197. Što mislite, kolika je šansa da će ekonomija u Hrvatskoj propadati idućih 10 godina (0-nemoguće, 10-sigurno će propadati)?      0 - 1 - 2 - 3 - 4 - 5 - 6 - 7 - 8 - 9 - 10

198. Prodavaonica prodaje lopatu za snijeg po cijeni od 150 kn. Sljedeći dan, nakon što je pao snijeg, prodavač povisuje cijenu na 200 kn. Što mislite koliko je to pošteno?

a) potpuno pošteno    b) prihvatljivo    c) nepošteno      d) izrazito nepošteno

199. Malo brodogradilište stvara profit, ali zbog recesije lakše je naći radnike, pa brodogradilište smanjuje plaću svima zaposlenicima za 10%. Koliko je to pošteno?

a) potpuno pošteno    b) prihvatljivo    c) nepošteno      d) izrazito nepošteno

200. Mala tvornica proizvodi namještaj. Cijena drveta se na tržištu smanji, ali tvornica zadržava višu cijenu za kupce. Koliko je to pošteno?

a) potpuno pošteno    b) prihvatljivo    c) nepošteno      d) izrazito nepošteno

201. Biste li radije dobili **1000 EUR** sada ili **1050 EUR** nakon mjesec dana (ne postoji rizik gubitka ako čekate duže).

a) sada 1000 EUR [idite na pitanje 202]      b) 1050 EUR nakon mjesec dana [idite na pitanje 203]

Samo jedan odgovor	202. Biste li radije dobili <b>1000 EUR</b> sada ili <b>1100 EUR</b> nakon mjesec dana (ne postoji rizik gubitka ako čekate duže).
	a) sada 1000 [idite na pitanje 204]      b) 1100 EUR nakon mjesec dana [idite na pitanje 205]
	203. Biste li radije dobili <b>1000 EUR</b> sada ili <b>1025 EUR</b> nakon mjesec dana (ne postoji rizik gubitka ako čekate duže).
	a) sada 1000 [idite na pitanje 206]      b) 1025 EUR nakon mjesec dana [idite na pitanje 207]
Ovdje odgovorite samo na jedno pitanje	

Samo jedan odgovor	204. Biste li radije dobili 1000 EUR sada ili 1200 EUR nakon mjesec dana (ne postoji rizik gubitka).      a) sada 1000      b) 1200 EUR nakon mjesec dana [idite na pitanje 208]
	205. Biste li radije dobili 1000 EUR sada ili 1075 EUR nakon mjesec dana (ne postoji rizik gubitka).      a) sada 1000      b) 1075 EUR nakon mjesec dana [idite na pitanje 208]
	206. Biste li radije dobili 1000 EUR sada ili 1037 EUR nakon mjesec dana (ne postoji rizik gubitka).      a) sada 1000      b) 1037 EUR nakon mjesec dana [idite na pitanje 208]
	207. Biste li radije dobili 1000 EUR sada ili 1012 EUR nakon mjesec dana (ne postoji rizik gubitka).      a) sada 1000      b) 1012 EUR nakon mjesec dana [idite na pitanje 208]
	Ovdje odgovorite samo na jedno pitanje

208. Smatrate li da se većini ljudi može potpuno vjerovati ili morate biti oprezni s nekim ljudima (0-morate biti jako oprezni, 10-možete svima vjerovati)?      0 - 1 - 2 - 3 - 4 - 5 - 6 - 7 - 8 - 9 - 10

209. Smatrate li da bi Vas većina ljudi iskoristila u nekoj situaciji ako bi mogli, ili bi bili poštteni (0-iskoristili bi me, 10-bili bi potpuno poštteni)?      0 - 1 - 2 - 3 - 4 - 5 - 6 - 7 - 8 - 9 - 10

210. U cjelini, koliko ste trenutno zadovoljni svojim životom (0-nimalo, 10-krajnje zadovoljan)?      0 - 1 - 2 - 3 - 4 - 5 - 6 - 7 - 8 - 9 - 10

211. U cjelini, koliko ste se sretno osjećali jučer (0-nimalo, 10-krajnje sretan)?      0 - 1 - 2 - 3 - 4 - 5 - 6 - 7 - 8 - 9 - 10

212. U cjelini, koliko ste se tjeskobno osjećali jučer (0-nimalo, 10-krajnje tjeskoban)?      0 - 1 - 2 - 3 - 4 - 5 - 6 - 7 - 8 - 9 - 10

213. U cjelini, u kojoj mjeri osjećate da su stvari koje radite u životu važne i vrijedne Vašeg truda (0-nimalo, 10-krajnje važne)?      0 - 1 - 2 - 3 - 4 - 5 - 6 - 7 - 8 - 9 - 10

<b>Socioekonomski status</b>
------------------------------

214. Koji je Vaš bračni status?

(1) samac (2) vjenčan/a (3) izvanbračna zajednica (4) razveden/a (5) udovac/ica

215. Koliko imate završenih razreda škole? \_\_\_\_\_

216. Koji je Vaše zanimanje? \_\_\_\_\_ *Napomena: umirovljenik nije zanimanje*

216a. Koji je zanimanje Vašeg bračnog partnera? \_\_\_\_\_

217. Koji je Vaš trenutni radni status?

(1) zaposlen/a; (2) nezaposlen/a; (3) domaćica; (4) umirovljenik; (5) učenik/student

218. Koliko članova ima Vaše kućanstvo: \_\_\_\_\_

218a. Živate li u stanu ili kući: (1) vlastitom, bez kreditnog opterećenja; (2) vlastitom s kreditnim opterećenjem; (3) nasljeđenom; (4) zajedno s roditeljima; (5) podstanar sam

219. Kako biste procijenili svoje trenutno materijalno stanje, odnosno materijalno stanje Vaše obitelji?

(1) Mnogo je lošije od drugih; (2) Nešto je lošije od drugih; (3) Isto je kao kod drugih; (4) Nešto je bolje od drugih; (5) Mnogo je bolje od drugih

220. Koliki su prosječni mjesečni prihodi u Vašem kućanstvu?

(1) manje od 2.000 Kn; (2) 2.000 - 4.000 Kn; (3) 4.000 - 6.000 Kn; (4) 6.000 - 8.000 Kn; (5) 8.000 - 10.000 Kn; (6) više od 10.000 Kn

221. Kakav je Vaš materijalni status sada u usporedbi sa stanjem iz 2007. godine (prije recesije)?

(1) Jako se pogoršao; (2) Nešto je lošiji; (3) Isti je kakav je bio; (4) Nešto je bolji; (5) Mnogo je bolji

222. Što je po zanimanju Vaš otac? \_\_\_\_\_

223. Koliko razreda škole je završio Vaš otac? \_\_\_\_\_

224. Što je po zanimanju Vaša majka? \_\_\_\_\_

225. Koliko razreda škole je završila Vaša majka? \_\_\_\_\_

226. Tijekom Vašeg djetinjstva, materijalno stanje Vaše obitelji bilo je:

(1) Mnogo je lošije od drugih; (2) Nešto je lošije od drugih; (3) Bilo je isto kao kod drugih; (4) Nešto je bolje od drugih; (5) Mnogo je bolje od drugih

227. Jeste li tijekom djetinjstva iskusili razdoblje oskudice hrane (gladi) koje je trajalo barem 1 godinu? 1. Da 2. Ne

Ako je odgovor DA, koliko ste tada imali godina? \_\_\_\_\_

228. Jeste li rođeni prije porodnog termina? 1. Da 2. Ne 3. Ne znam

229. Koliko ste bili teški kad ste se rodili? 1. \_\_\_\_\_ grama 2. Ne znam
230. Koliko ste bili dugački kad ste se rodili? 1. \_\_\_\_\_ cm 2. Ne znam
231. Jeste li bili dojena beba (hranjeni majčinim mlijekom ili mlijekom druge dojilje)?  
 (1) Da (2) Ne [idite na pitanje 231c] (3) Ne znam [idite na pitanje 231c]
- 231a. Ako ste bili dojeni, koliko dugo ste bili dojeni? \_\_\_\_\_ mjeseci
- 231b. Ukoliko ste bili dojeni, s koliko mjeseci ste počeli dobivati drugo mlijeko (npr. kravlje mlijeko ili tvornički mliječni pripravak) i/ili drugu hranu (uključujući juhe, kašice i sl.)? (1) Sa \_\_\_\_\_ mjeseci (2) Ne znam
- 231c. Ukoliko ste majka, jest li Vi dojili svoju djecu? (1) Da (2) Ne [idite na pitanje 232]
- 231 d. Ako da, koliko dugo ste dojili (ukupni broj mjeseci za svu svoju djecu)? \_\_\_\_\_ mjeseci
232. Prema vlastitoj procjeni, koliko bliskih prijatelja imate (onih prijatelja koje biste mogli zamoliti za gotovo bilo koju uslugu)? \_\_\_\_\_
233. Koliko se često družite s bliskim prijateljima?  
 (1) Svaki dan; (2) Više puta tjedno; (3) Barem 1 tjedno; (4) 2-3 puta mjesečno;  
 (5) Jedanput mjesečno (6) Jedanput u 6 mjeseci (7) Vrlo rijetko
234. Koliko se često družite s drugim prijateljima i poznanicima?  
 (1) Svaki dan; (2) Više puta tjedno; (3) Barem 1 tjedno; (4) 2-3 puta mjesečno;  
 (5) Jedanput mjesečno (6) Jedanput u 6 mjeseci (7) Vrlo rijetko
235. Tijekom radnih dana prošlog tjedna koliko ste obroka imali s članovima uže obitelji za istim stolom? \_\_\_\_\_
236. Tijekom prošlog vikenda koliko ste obroka imali s članovima uže obitelji za istim stolom?  
 \_\_\_\_\_
237. Koliko često Vi i/ili Vaša obitelj odlazite na godišnji odmor?  
 (1) više od jednom godišnje (2) jednom godišnje (3) jednom svake 2 ili više godina  
 (4) rijetko ili nikada
238. Jeste li ikada koristili poznanstva za brži dolazak na pregled ili drugi oblik korištenja zdravstvene službe? (1) Da, jednom (2) Da, više puta (3) Ne, nikada
239. Koliko je dopustiva korupcija u zdravstvu u Hrvatskoj? (0- nedopustiva, 10-dopustiva)?  
 0 - 1 - 2 - 3 - 4 - 5 - 6 - 7 - 8 - 9 - 10
240. Po Vašem mišljenju, koliko je korupcija proširena u zdravstvu u Hrvatskoj? (0-nema je, 10-  
 potpuno) 0 - 1 - 2 - 3 - 4 - 5 - 6 - 7 - 8 - 9 - 10
241. Po Vašem mišljenju, koliko je korupcija općenito proširena u Hrvatskoj? (0-nema je, 10-  
 potpuno) 0 - 1 - 2 - 3 - 4 - 5 - 6 - 7 - 8 - 9 - 10



<b>Ljestvica za procjenu doživljavanja ozbiljnosti boli</b>
---

Svatko je iskusio bolna iskustva tijekom života. Ova iskustva uključuju glavobolju, zubobolju, bol u zglobovima ili bol u mišićima. Ovaj upitnik mjeri ozbiljnost osjećaja boli. Na svaku od navedenih 13 tvrdnji odgovorite u skladu s navedenom skalom.

OCJENA	0	1	2	3	4
ZNAČENJE	Nimalo	U maloj količini	U umjerenom količini	U značajnoj količini	Cijelo vrijeme

242. Kad me nešto boli...

Broj	Izjava	Ocjena
1	Brinem se cijelo vrijeme o tome hoće li bol prestati	
2	Osjećam da ne mogu dalje	
3	Grozno je i mislim da mi nikad neće biti bolje	
4	Strašno je i osjećam kako me bol svladava	
5	Osjećam da to ne mogu više izdržati	
6	Počinjem se bojati da će se bol pogoršati	
7	Stalno mislim na druge bolne događaje	
8	Gorljivo želim da bol nestane	
9	Čini mi se da bol ne mogu izbaciti iz glave	
10	Stalno mislim o tome koliko me boli	
11	Stalno mislim o tome koliko jako želim da bol prestane	
12	Ne mogu učiniti ništa da smanjim intenzitet boli	
13	Pitam se bi li mi se moglo dogoditi nešto ozbiljno	

**Upitnik o čupkanju kože noktiju ili čupkanju kože**

Čupkanje kože/kože je neodoljiva potreba za čupkanjem/češanjem dijelova kože (na licu, rukama, oko noktiju-zanoktice ili na drugim dijelovima tijela) koja mogu dovesti do vidljivih oštećenja tih dijelova kože.

*Uputa za ispunjavanje upitnika: Pažljivo pročitajte SVE odgovore prije nego odaberete jedan odgovor za svako pitanje koji najbolje opisuje kako ste se ponašali/osjećali prošlog tjedna (ili u periodu kada ste čupkali kožicu/kožu).*

<p>243. UČESTALOST POTREBE Koliko često osjećate potrebu za čupkanjem kože/kože?</p>	<p>0 = Nikada 1 = Blago, povremena potreba manje od 1sata dnevno 2 = Umjereno, učestala potreba, 1-3 sata dnevno 3 = Često, vrlo česta potreba, 3-8 sati dnevno 4 = Ekstremno, gotovo neprekidna potreba za čupkanjem kože/kože</p>
<p>244. INTENZITET POTREBE Koliko Vam je intenzivna, odnosno, snažna potreba za čupkanjem kože/kože?</p>	<p>0 = Minimalna ili nikakva 1 = Blaga 2 = Umjerena 3 = Snažna 4 = Ekstremna</p>
<p>245. VRIJEME PROVEDENO U ČUPKANJU KOŽICE/KOŽE Koliko vremena provedete u čupkanju kože/kože? Koliko često Vam se to događa? Koliko Vam se oduži provođenje rutinskih dnevnih poslova zbog čupkanja kože/kože u usporedbi s većinom ljudi?</p>	<p>0 = Nikada 1 = Rijetko, povremeno tijekom dana, manje od 1 sata dnevno 2 = Umjereno, učestalije tijekom dana, 1-3 h dnevno 3 = Dugotrajno, vrlo često tijekom dana, 3-8 h dnevno 4 = Ekstremno, gotovo neprekidno čupkam kožicu/kožu, više od 8 sati dnevno</p>
<p>246. OMETANJE ZBOG ČUPKANJA KOŽICE/KOŽE Koliko vas čupkanje kože/kože ometa u obavljanju društvenih ili poslovnih aktivnosti? (Ako ste trenutno nezaposleni pokušajte procijeniti koliko bi Vaša učinkovitost bila smanjena da ste zaposleni zbog čupanja/trganja kože)</p>	<p>0 = Nikako 1 = Blago, neznatno ometanje bez utjecaja na učinak 2 = Umjereno, prisutno ometanje u obavljanju aktivnosti, al su one još uvijek izvedive 3 = Ozbiljno, značajno ometanje 4 = Ekstremno, onesposobljava me.</p>
<p>247. NESPOKOJ POVEZAN S ČUPKANJEM KOŽICE/KOŽE Koliko nespokoj (uznemirenost) osjećate zbog čupkanja kože/kože? Kako biste se osjećali da ste spriječeni čupkati kožicu/kožu? Koliko bi vas to uznemirilo?</p>	<p>0 = Nikakav 1 = Blag, neznatna uznemirenost u slučaju spriječavanja ili tijekom čupkanja kože/kože 2 = Umjeren, uznemirenost se povećava ali je izdrživa 3 = Snažan, značajno i veoma uznemirujuće povećanje nespokoja 4 = Ekstremno, neizdrživa uznemirenost u slučaju spriječavanja ili tijekom čupkanja kože/kože</p>
<p>248. IZBJEGAVANJE Jeste li izbjegavali nešto raditi, ići nekamo ili biti s nekim zbog čupkanja kože/kože? Ako jeste, koliko toga ste izbjegavali?</p>	<p>0 = Ništa 1 = Blago, povremeno izbjegavanje društvenih ili poslovnih krugova 2 = Umjereno, učestalo izbjegavanje društvenih ili poslovnih krugova 3 = Snažno, vrlo učestalo izbjegavanje društvenih ili poslovnih krugova 4 = Ekstremno, izbjegavanje svih društvenih ili poslovnih krugova</p>

<b>Upitnik o griženju noktiju</b>
-----------------------------------

*Uputa za ispunjavanje upitnika: Pažljivo pročitajte SVE odgovore prije nego odaberete jedan odgovor za svako pitanje koji najbolje opisuje kako ste se ponašali/osjećali prošlog tjedna (ili u periodu kada ste grizli nokte).*

<p><b>249. UČESTALOST POTREBE</b> Koliko često osjećate potrebu za griženjem noktiju?</p>	<p>0 = Nikada 1 = Blago, povremena potreba manje od 1sata dnevno 2 = Umjereno, učestala potreba, 1-3 sata dnevno 3 = Često, vrlo česta potreba, 3-8 sati dnevno 4 = Ekstremno, gotovo neprekidna potreba za griženjem noktiju</p>
<p><b>250. INTENZITET POTREBE</b> Koliko Vam je intenzivna, odnosno, snažna potreba za griženje noktiju?</p>	<p>0 = Minimalna ili nikakva 1 = Blaga 2 = Umjerena 3 = Snažna 4 = Ekstremna</p>
<p><b>251. VRIJEME PROVEDENO U GRIŽENJU NOKTIJU</b> Koliko vremena provedete u griženju noktiju? Koliko često Vam se to događa? Koliko Vam se oduži provođenje dnevnih rutinskih poslova zbog griženja noktiju u usporedbi s većinom ljudi?</p>	<p>0 = Nikada 1 = Rijetko, povremeno tijekom dana, manje od 1 sata dnevno 2 = Umjereno, učestalije tijekom dana, 1-3 sata dnevno 3 = Dugotrajno, vrlo često tijekom dana, 3-8 sati dnevno 4 = Ekstremno, gotovo neprekidno grizem nokte, više od 8 sati dnevno</p>
<p><b>252. OMETANJE ZBOG GRIŽENJA NOKTIJU</b> Koliko vas griženje noktiju ometa u obavljanju društvenih ili poslovnih aktivnosti? (Ako ste trenutno nezaposleni pokušajte procijeniti koliko bi Vaša efektivnost bila smanjena zbog griženja noktiju da ste zaposleni)</p>	<p>0 = Nikako 1 = Blago, neznatno ometanje bez utjecaja na ukupni učinak 2 = Umjereno, prisutno ometanje u obavljanju aktivnosti, al su one još uvijek izvedive 3 = Ozbiljno, značajno ometanje 4 = Ekstremno, onesposobljava me.</p>
<p><b>253. NESPOKOJ POVEZAN S GRIŽENJEM NOKTIJU</b> Koliki nespokoj (uznemirenost) osjećate zbog griženja noktiju? Kako biste se osjećali da ste spriječeni gristi nokte? Koliko bi vas to uznemirilo?</p>	<p>0 = Nikakav 1 = Blag, neznatna uznemirenost u slučaju spriječavanja ili tijekom griženja noktiju 2 = Umjeren, uznemirenost se povećava ali je izdrživa 3 = Snažan, značajno i veoma uznemirujuće povećanje nespokoja 4 = Ekstreman, neizdrživa uznemirenost</p>
<p><b>254. IZBJEGAVANJE</b> Jeste li izbjegavali nešto raditi, ići nekamo ili biti s nekim zbog griženja noktiju? Ako jeste, koliko toga ste izbjegavali?</p>	<p>0 = Ništa 1 = Blago, povremeno izbjegavanje društvenih ili poslovnih krugova 2 = Umjereno, učestalo izbjegavanje društvenih ili poslovnih krugova 3 = Snažno, vrlo učestalo izbjegavanje društvenih ili poslovnih krugova 4 = Ekstremno, izbjegavanje svih društvenih ili poslovnih krugova</p>



264. Odgovorite na ova pitanja vezana uz Vaše shvaćanje vlastitog zdravlja, tako da zaokružite odgovor koji se odnosi na Vas:

	1-nimalo točno, 5-potpuno točno
Ako se razbolim, moje ponašanje određuje kada ću ozdraviti	1 – 2 – 3 – 4 – 5
Ja kontroliram vlastito zdravlje	1 – 2 – 3 – 4 – 5
Ako se razbolim, krivica je uglavnom moja	1 – 2 – 3 – 4 – 5
Ako brinem o sebi, mogu izbjeći bolest	1 – 2 – 3 – 4 – 5
Ako se ponašam primjereno, mogu sačuvati zdravlje	1 – 2 – 3 – 4 – 5
Najbolje ću izbjeći bolest ako se redovito javljam liječniku	1 – 2 – 3 – 4 – 5
Kad god se ne osjećam dobro, trebao bih se javiti liječniku	1 – 2 – 3 – 4 – 5
Moja obitelj ima glavnu ulogu u pojavi bolesti	1 – 2 – 3 – 4 – 5
Liječnik određuju koliko sam zdrav	1 – 2 – 3 – 4 – 5
Kada se oporavim od bolesti, to je uglavnom zbog rada liječnika	1 – 2 – 3 – 4 – 5
Svoje zdravlje mogu poboljšati samo na način kako me uputi moj liječnik	1 – 2 – 3 – 4 – 5
Bez obzira što činio, ako ću se razboljeti, ne mogu to spriječiti	1 – 2 – 3 – 4 – 5
Bolesti se pojavljuju potpuno slučajno	1 – 2 – 3 – 4 – 5
Sreća ima važnu ulogu u oporavku od bolesti	1 – 2 – 3 – 4 – 5
Moje zdravlje je uglavnom rezultat dobre sreće	1 – 2 – 3 – 4 – 5
Bez obzira što radio, vjerojatno ću se razboliti	1 – 2 – 3 – 4 – 5
Ako mi je suđeno, ostat ću zdrav	1 – 2 – 3 – 4 – 5

#### UPITNIK O POSPANOSTI (Epworth sleepiness scale)

265. Koliko je vjerojatno da ćete zadrijemati ili zaspati u ovim situacijama, u usporedbi da se samo osjećate umorni? Ovo se odnosi na Vas uobičajeni način života u zadnje vrijeme. Čak i ako Vam se nešto od ovoga nije skoro dogodilo, pokušajte odgovoriti kako bi to utjecalo na Vas da se dogodi. Koristite slijedeću ljestvicu da biste najbolje odgovorili na svaku situaciju:

- LJESTVICA:**
- 0 = **nikada** ne bih zadrijemao(la)
  - 1 = **malo** je vjerojatno da bih zadrijemao (la)
  - 2 = **umjereno je vjerojatno** da bih zadrijemao (la)
  - 3 = **vrlo je vjerojatno** da bih zadrijemao (la)

#### Situacija

#### Vjerojatnost da ćete zadrijemati

(unesite broj)

- (a) Sjedenje i čitanje .....
- (b) Gledanje TVa .....
- (c) Sjedenje, mirno, na javnom mjestu (npr. kazalište ili na sastanku) .....
- (d) Kao putnik u automobilu koji se vozi sat vremena bez stajanja .....
- (e) Tijekom ležanja poslijepodne kada situacija dopušta .....
- (f) Tijekom sjedenja i razgovora s nekim .....
- (g) Tijekom tihog sjedenja nakon ručka s alkoholom .....
- (a) U automobilu, kada se na trenutak zaustavite u prometu .....
- UKUPNO** .....

266. Jeste li ikada imali problema u vožnji (kao vozač) jer ste se osjećali pospano?

- (1) Da (2) Ne (3) Ne vozim

**UPITNIK O PREKIDIMA DISANJA U SNU (Berlin sleep apnoea questionnaire)**

**267. Hrčete li tijekom spavanja** (1) Da (2) Ne (3) Ne znam

**268. Ako hrčete, onda je to:**

(1) Malo glasnije od disanja (2) Iste glasnoće kao i govor (3) Glasnije od govora (4) Vrlo glasno, čuje se u susjednoj sobi

**269. Koliko često hrčete:**

(1) Gotovo svaki dan (2) 3-4 puta tjedno (3) 1-2 puta tjedno (4) 1-2 puta mjesečno (5) Nikada

**270. Je li Vaše hrkanje nekada uznemiravalo druge ljude?** (1) Da (2) Ne (3) Ne znam

**271. Je li netko ikada primjetio da ste prestali disati tijekom sna?**

(1) Gotovo svaki dan (2) 3-4 puta tjedno (3) 1-2 puta tjedno (4) 1-2 puta mjesečno  
(5) Nikada ili gotovo nikada

**272. Koliko često se osjećate umorni ili nenaspavani nakon sna?**

(1) Gotovo svaki dan (2) 3-4 puta tjedno (3) 1-2 puta tjedno (4) 1-2 puta mjesečno  
(5) Nikada ili gotovo nikada

**273. Tijekom budnosti, osjećate li se umorni, nenaspavani ili nespremni?**

(1) Gotovo svaki dan (2) 3-4 puta tjedno (3) 1-2 puta tjedno (4) 1-2 puta mjesečno  
(5) Nikada ili gotovo nikada

**274. Jeste li ikada zadrijemali ili zaspali tijekom vožnje (kao vozač)?**

(1) Da (2) Ne

**275. Ako da, koliko često se ovo događa?**

(1) Gotovo svaki dan (2) 3-4 puta tjedno (3) 1-2 puta tjedno (4) 1-2 puta mjesečno  
(5) Nikada ili gotovo nikada

**276. Vozite li automobil?** (1) Da (2) Ne [*idite na pitanje 278*]

**277. Jeste li ikad imali prometnu nezgodu kao vozač?** (1) Da (2) Ne Ako DA, koliko puta? \_\_\_\_\_

**278. Osjećate li se često umorni, zamarate li se ili ste pospani tijekom dana?** (1) Da (2) Ne

**UPITNIK O BUDNOSTI** (Munich chronotype questionnaire)

279. Koliko dana tijekom tjedna radite: \_\_\_\_\_

280. U koliko sati počinjete i prestajete raditi: Početak u \_\_\_\_ sati Kraj u \_\_\_\_\_ sati

281. Koliko je Vaš raspored posla fleksibilan:

(1) Vrlo fleksibilan (2) Fleksibilan (3) Nefleksibilan (4) Vrlo nefleksibilan \_\_\_\_\_

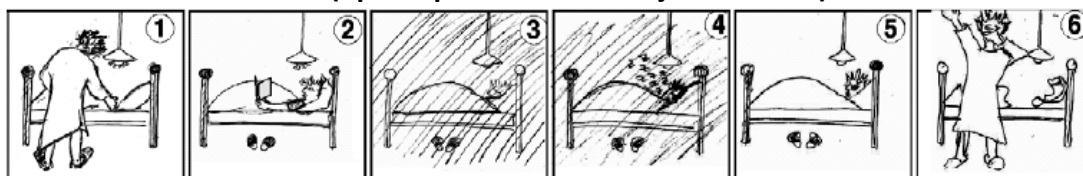
282. U prosjeku, koliko vremena provodite u putovanju na posao i s posla:

Na posao \_\_\_\_\_ minuta, s posla \_\_\_\_\_ minuta

283. Jeste li tijekom zadnja tri mjeseca radili na nekom poslu koji se odvija u smjenama?

(1) Da (2) Ne

Molimo Vas da odgovorite na sva pitanja, bez obzira radite li stalno ili ne. Koristite skalu od 24 sata (npr. napišite 23 sata umjesto 11 sati).



284. Tijekom radnih dana (uključujući i noći prije radnog dana)

... u krevet odlazim u \_\_\_\_\_ sati (pogledajte sliku 1)

... u \_\_\_\_\_ sati odlučim da ću zaspati (pogledajte sliku 3)

... potrebno mi je oko \_\_\_\_\_ minuta da zaspim (pogledajte sliku 4)

... probudim se oko \_\_\_\_\_ sati (pogledajte sliku 5)

bez alarma sa alarmom

... nakon \_\_\_\_\_ minuta se ustajem (pogledajte sliku 6)

U prosjeku, koliko vremena svakog dana provodite izvan kuće,  
na dnevnom svjetlu (bez krova iznad glave) \_\_\_\_\_sati \_\_\_\_\_minuta

285. Tijekom slobodnih dana (uključujući i noći prije slobodnog dana)

... u krevet odlazim u \_\_\_\_\_ sati (pogledajte sliku 1)

... u \_\_\_\_\_ sati odlučim da ću zaspati (pogledajte sliku 3)

... potrebno mi je oko \_\_\_\_\_ minuta da zaspim (pogledajte sliku 4)

... probudim se oko \_\_\_\_\_ sati (pogledajte sliku 5)

bez alarma sa alarmom

... nakon \_\_\_\_\_ minuta se ustajem (pogledajte sliku 6)

U prosjeku, koliko vremena svakog dana provodite izvan kuće,  
na dnevnom svjetlu (bez krova iznad glave) \_\_\_\_\_sati \_\_\_\_\_minuta







Sveučilište u Splitu  
Medicinski fakultet

Universitas Studiorum  
Spalatensis  
Facultas Medica

Šoltanska 2, 21000 Split  
Hrvatska

## Projekt 10,001 Dalmatinac

Zahvaljujemo Vam na sudjelovanju u projektu 10,001 Dalmatinac. Dobiveni podaci bit će korišteni u znanstvene svrhe, s ciljem boljeg shvaćanja zdravlja i pojave bolesti.

S druge strane ovog lista nalaze se najvažniji rezultati Vaših mjerenja. Naš liječnik Vam je na kraju pregleda objasnio značenje tih rezultata, no ako imate dodatnih pitanja vezanih uz Vaše rezultate ili drugih pitanja vezanih uz projekt možete se javiti na broj telefona **021-557-920**.

Dosadašnji rezultati projekta bili su jako zanimljivi, posebice u shvaćanju nekih kroničnih stanja i bolesti. Istražili smo i doprinijeli shvaćanju uzroka povišenog krvnog tlaka, šećerne bolesti, plućnih bolesti, poremećaja mokraćne kiseline i gihta, nekih upalnih bolesti i drugih stanja. Nadamo se da će projekt i dalje stvarati nove spoznaje i u konačnici služiti razvoju novih spoznaja i poboljšanju zdravlja ljudi. Također se nadamo da ćete se odazvati ovakvim pozivima i u budućnosti, i time doprinijeti boljem razumijevanju zdravlja!

Redoviti pregledi i briga o zdravlju jako su važni, jer je većinu bolesti lakše liječiti ako se na vrijeme otkriju, nego kada je bolest već uznapredovala. Zahvaljujem što ste sudjelovali u pregledima i pozivam Vas da potaknete i druge oko Vas na bolju brigu o zdravlju i predložite im sudjelovanje u ovom projektu.

Doc. dr. sc. Ozren Polašek, voditelj projekta  
Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu

Ime i prezime \_\_\_\_\_

Datum: \_\_\_\_\_

Rezultati preventivnog pregleda provedenog na Medicinskom fakultetu u Splitu (svibanj 2013.)

EKG:

Tlak:

Nalaz urina:

Krvni tlak odražava stanje krvožilnog sustava. Povećan krvni tlak povećava rizik nastanka srčanog i moždanog udara i jedan je od vrlo važnih pokazatelja zdravstvenog stanja. Krvni tlak veći od 140/90 mmHg smatra se povećanim rizikom i trebao bi se liječiti. Ukoliko koristite lijekove za smanjivanje krvnog tlaka trebali biste se redovito pridržavati uputa Vašeg liječnika.

Spirometrija – FVC:

FEV1:

PEF:

Slika očne pozadine:

Osjeti – okus, miris:

Mineralna gustoća kosti (T-score)

Mineralna gustoća kosti koristi se u procjeni rizika od prijeloma. Normalnim rezultatom smatraju se vrijednosti do -1,1. Ukoliko Vam je ova vrijednost manja od -1,1 onda biste trebali više pažnje posvetiti koštanoj gustoći – povećajte razinu fizičke aktivnosti, unosite više kalcija hranom ili uzimajte tablete kalcija i povećajte izlaganje suncu (no, nikada ne pretjerujte s izlaganjem suncu). Ukoliko Vam je vrijednost manja od -2,5 imate povećan rizik za nastanak prijeloma i trebali biste se javiti Vašem liječniku.

Visina

Težina

Preporuke: