

UNIVERZITET U BEOGRADU

BIOLOŠKI FAKULTET

Biljana Lj. Pokimica

**EFEKTI POLIFENOLA SOKA OD ARONIJE NA
KARDIOVASKULARNE FAKTORE RIZIKA I
MASNOKISELINSKI PROFIL U ANIMALNOJ I
HUMANNOJ STUDIJI**

doktorska disertacija

Beograd, 2021.

UNIVERSITY OF BELGRADE

FACULTY OF BIOLOGY

Biljana Lj. Pokimica

**THE EFFECTS OF CHOKEBERRY JUICE
POLYPHENOLS ON CARDIOVASCULAR RISK
FACTORS AND FATTY ACID PROFILE IN
ANIMAL AND HUMAN STUDY**

Doctoral Disertation

Belgrade, 2021.

MENTOR:

dr Marija Glibetić, naučni savetnik, Univerzitet u Beogradu - Institut za medicinska istraživanja

ČLANOVI KOMISIJE ZA ODBRANU DOKTORSKE DISERTACIJE:

dr Marija Glibetić, naučni savetnik, Univerzitet u Beogradu - Institut za medicinska istraživanja

dr Marija Takić, naučni saradnik, Univerzitet u Beogradu - Institut za medicinska istraživanja

dr Iva Lakić, docent, Univerzitet u Beogradu - Biološki fakultet

Datum odbrane: _____

Zahvalnica

Eksperimentalni deo doktorske disertacije je urađen pod rukovodstvom dr Marije Glibetić u okviru projekta Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja "Biološki mehanizmi, nutritivni unos i status polinezasićenih masnih kiselina i folata: Unapređenje ishrane u Srbiji-FOLOMEGA" (III41030) i projekta "Povoljni efekti dijetarnih bioaktivnih peptida i polifenola na kardiovaskularno zdravlje kod ljudi- BACCHUS"(312090) koji je finansirala Evropska Unija iz programa FP7.

Mentoru, dr Mariji Glibetić, se zahvaljujem zato što me je 2014. godine primila na projekat FOLOMEGA (III41030). Time mi je omogućila da se bavim onim što sam najviše želela - istraživanjima iz oblasti ishrane i metabolizma. Zahvalna sam što mi je dr Glibetić odredila temu disertacije odmah po mom dolasku u laboratoriju, kao i na razumevanju i korisnim savetima tokom svih faza rada na doktorskoj disertaciji.

Zahvalna sam dr Mariji Takić na divnoj saradnji i na velikom znanju koje je nesebično podelila sa mnom. Izuzetno sam zahvalna što joj je moja teza uvek bila prioritet, iako je imala brojne druge obaveze.

Zahvaljujem se dr Ivi Lakić na tome što je uložila trud i vreme u pregledanje i ocenjivanje teze.

I am thankful to dr María Teresa García-Conesa, Senior Researcher at Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura-Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CEBAS-CSIC), who contributed a lot to our article about the effects of chokeberry juice in human adults, which is important part of this thesis. I am happy that dr María Teresa was my supervisor during short term scientific mission at CEBAS CSIC in Murcia (Positive COST action FA1403), where I learned from her about the effects of dietary bioactive compounds on human gene expression and how to critically analyse the quality of articles. Gracias.

Zahvaljujem se profesorki dr Marini Stamenković-Radak na pomoći prilikom prijave teme doktorske disertacije i savetima vezanim za doktorske akademske studije.

Zahvalna sam dr Gordani Petrović-Oggiano na velikom doprinosu u humanoj studiji ove doktorske disertacije i na prenetim korisnim znanjima iz oblasti ishrane i metabolizma.

Dr Tamari Popović se zahvaljujem na značajnom doprinosu u animalnoj studiji disertacije i prenetim korisnim znanjima vezanim za animalni model.

Zahvaljujem se dr Mirku Tomiću i njegovom timu sa Instituta za Biološka istraživanja "Siniša Stanković" za organizovanje animalne studije, pogotovo za gajenje i tretman pacova.

Hvala dr Neveni Vidović, dr Manji Zec i dr Aleksandri Konić-Ristić na organizovanju BACCHUS studije, u okviru koje je sprovedena humana studija.

Zahvalna sam Maji Bošković i dr Ljiljani Stojković, kao i drugim kolegicama i kolegama iz Laboratorije za radiobiologiju i molekularnu biologiju Instituta za Nuklearne nauke "Vinča", koji su mi mnogo pomogli u eksperimentalnoj analizi varijanti gena FADS.

Zahvaljujem se dr Milici Kojadinović na korisnim savetima vezanim za pripremu prezentacije za javnu odbranu disertacije.

Dr Slavici Ranković se zahvaljujem na tome što mi je pokazala tehničke greške koje je napravila prilikom rada na svojoj tezi, kako ne bih ponovila iste.

Hvala Filipu Stojanoviću i dr Jasmini Debeljković Martačić na pomaganju u analizi masnih kiselina. Hvala Suzani Avramović na podršci.

Dr Milici Zeković se zahvaljujem na pomoći u analizi unosa proteina, ugljenih hidrata i masti ispitanika humane studije.

Hvala dr Mariji Ranić na savetima vezanim za sređivanje teksta na slikama teze.

Dr Vesni Vučić sam izuzetno zahvalna na tome što me 2015. godine prihvatila u tim kojim je rukovodila, a koji se bavio ispitivanjem profila masnih kiselina kod pacijenata obolelih od raka pluća. Tom prilikom sam stekla važna iskustva, koja sam primenila i u radu na disertaciji. Zahvaljujem joj se i na svim korisnim i dobronamernim savetima koji su mi bili veoma značajni za disertaciju i posao.

Dr Ani Stojanović, načelnici odeljenja pulmologije KBC Bežanijska kosa, se zahvaljujem na izuzetnoj saradnji koja mi je mnogo značila.

Dr Aleksandru Trboviću, profesoru na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu, sam zahvalna na dragocenoj prilici da učim kako se pišu projekti.

Dr Snježani Petrović se zahvaljujem na velikoj pomoći u pisanju izveštaja za izbor u zvanje istraživač saradnik 2018. godine, što mi je značajno i za pisanje drugih izveštaja.

Dr Danijeli Ristić Medić se zahvaljujem za razgovor sa početka mojih doktorskih studija nakon čega sam shvatila značaj procene unosa i statusa masnih kiselina.

Hvala dr Ivani Šarac za uključivanje u studiju kojom je rukovodila 2019. godine, iz oblasti javnog zdravlja, čime sam stekla novo važno iskustvo.

Zahvaljujem se profesoru dr Goranu Brajuškoviću na tome što je uvek bio dobronameran i na svim prenesenim korisnim znanjima iz oblasti molekularne biologije tokom osnovnih, master i doktorskih akademskih studija. Izuzetno sam zahvalna što mi je bio mentor sa fakulteta na master akademskim studijama i na tadašnjim savetima za izlaganje teze, koji su mi korisni i za sva druga javna izlaganja.

Profesorki dr Duškanki Savić-Pavićević se zahvaljujem na divnim predavanjima na osnovnim i master akademskim studijama, na tome što je bila član komisije moje master teze i na izuzetno korisnim savetima vezanim za prijavu teme doktorske disertacije. Predavanja dr Gorana Brajuškovića i dr Dušanke Savić Pavićević su mi ostala u najlepšem sećanju sa studija.

Profesoru dr Predragu Vujoviću se zahvaljujem na savetima za efikasno učenje, na predmetu Hematologija, koji su bili korisni i prilikom učenja drugih predmeta.

Zahvalna sam kolegama sa Instituta za medicinska istraživanja Vojnomedicinske akademije, gde sam imala prilike da tokom 2012. godine steknem važna prva iskustva u radu u laboratoriji.

Sono grata a tutti dal laboratorio italiano TOMA Biomedical Assays Spa, dove ho trascorso 5 mesi straordinari imparando metodi di laboratorio in citogenetica e biologia molecolare nel 2014 e 2015. Ringrazio di più Elena Niada, che è stata la mia supervisore e un'amica meravigliosa. Ho imparato molto da Elena Niada sul lavoro in laboratorio. Grazie mille.

I am thankful to Riham Kordofan, my dear Egyptian colleague and friend for her sincere support and friendship since we met in Italy in 2014.

Zahvaljujem se Ivani Jovanović na divnom prijateljstvu još od detinjstva i na rečima ohrabrenja prilikom upisa doktorskih studija i tokom pisanja teze.

Beskrajno sam zahvalna svojoj porodici Pokimica na svemu što su uradili za mene tokom celog života, a pre svega na njihovoj dobroti, ljubavi, podršci i razumevanju.

Baka Radi sam posebno zahvalna na ohrabrivanju tokom rada na tezi, i na svim divnim receptima i informacijama o voću koje sa pažnjom i ljubavlju čuva iz novina za mene. Deku Radetu sam zahvalna na divnim uspomenu. Deku Draganu i nani Ljubici sam zahvalna na prelepim uspomenu.

Tati Ljubomiru sam izuzetno zahvalna na velikoj podršci u sticanju korisnih iskustava u laboratorijama u Italiji i Španiji, što mi je bilo od velikog značaja i za disertaciju. Mnogo mu hvala što se uvek interesovao šta sam učila na fakultetu i čime se bavim u laboratoriji, i što kao hirurg ortoped uvek ističe kako je to zanimljivo i važno, zbog čega mi je lakše da učim i radim.

Mami Dragani sam posebno zahvalna što me posavetovala da upišem Biološki fakultet, koji je za mene najbolji izbor. Bez toga ne bi bilo ni ove teze. Beskrajno sam joj zahvalna što mi je mnogo puta pomogla da poboljšam tekstove napisane na engleskom i što mi je prenela znanje iz tog jezika, neophodnog za pisanje naučnih radova.

Bratu Radetu i snaji Branki sam veoma zahvalna na izuzetnim rečima ohrabrenja tokom pisanja i ispravljanja teze.

I am grateful to the family of my fiancé, to my dear Turkish family, for fabulous holidays in Kuşadası, Izmir and Datça, where I was also working on thesis. I am especially thankful to dede Abdullah and anne anne Asiye, for their love and our wonderful memories. Çok teşekkür ederim.

I am thankful to the most amazing fiancé Cem Kaya, who is ideal and the best, who is my soulmate, and who improved my life with his love and support. I am so happy that we met in 2017. in Spain and I highly appreciate his immense support regarding my thesis.

Efekti polifenola soka od aronije na kardiovaskularne faktore rizika i masnokiselinski profil u animalnoj i humanoj studiji

Sažetak

Kardiovaskularne bolesti su vodeći uzrok smrtnosti u Srbiji i svetu. Svakodnevni dijetarni unos voća i povrća može smanjiti učestalost nastanka ovih oboljenja. Namirnice biljnog porekla sadrže različite komponente sa antiinflamatornim i antioksidativnim svojstvima, a među njima su i polifenoli. Ova doktorska disertacija je imala za cilj ispitivanje efekata polifenola soka od aronije na faktore rizika za kardiovaskularne bolesti i masnokiselinski profil pacova *Wistar* soja i ljudi.

U obe studije analiziran je uticaj: 1) soka od aronije (sa 1177,11 mg/100 mL polifenola izraženih u ekvivalentima galne kiseline); 2) placebo bez polifenola; 3) soka od aronije razblaženog placebo (sa 294,28 mg/100 mL polifenola izraženih u ekvivalentima galne kiseline). Animalna studija je trajala pet nedelja tokom kojih je svaka grupa mužjaka *Wistar* pacova ($n = 8$) imala neometan pristup, *ad libitum*, jednoj od tri tečnosti. Humana studija je trajala četiri nedelje, tokom kojih su ispitanici ($n = 84$), podeljeni u tri grupe, dnevno pili po 100 mL jednog od pića. Svaka grupa je imala povišene vrednosti sledećih parametara: koncentracije LDL holesterola u serumu, indeksa telesne mase, obima struka i sistolnog pritiska.

Procenjeno je da je prosečan dnevni unos polifenola bio 557 mg za grupu pacova koja je pila sok od aronije, odnosno 120 mg za onu koja je unosila razblaženi sok od aronije. Na kraju studije je koncentracija LDL holesterola u plazmi bila manja, a procentualna zastupljenost vaskulske kiseline veća u fosfolipidima i plazme i jetre, kod pacova koji su unosili više polifenola, u poređenju sa onima koji su pili placebo. Rezultati humane studije pokazali su smanjen krvni pritisak ispitanika sve tri grupe u poređenju sa početnim vrednostima, ali bez razlike između grupa. Došlo je do smanjenja vrednosti oksidovanog LDL-a kod ljudi koji su pili sok od aronije, u poređenju sa početnim vrednostima, ali bez statistički značajne razlike u odnosu na one koji su pili placebo. Unos oba soka sa polifenolima je smanjio procentualnu zastupljenost ukupnih n-6 polinezasićenih masnih kiselina i povećao udeo zasićene palmitinske kiseline u fosfolipidima plazme, u poređenju sa početkom studije i placebo. To je pokazano i poređenjem samo muškaraca tri grupe. Nije bilo povezanosti varijanti gena desaturaze masnih kiselina 2 (rs174576, rs174593, rs174616) sa efektima polifenola soka od aronije.

Efekti polifenola aronije na masne kiseline plazme pacova *Wistar* soja nisu pokazani kod ljudi, stoga se na osnovu promena u masnokiselinskom profilu jetre pacova ne može pretpostaviti kakve se promene očekuju u jetri ljudi usled dijetarnog unosa ovog voća. Zbog odsustva statističke značajnosti u poređenju sa placebo grupom, smanjenja krvnog pritiska i koncentracije oksidovanog LDL-a u humanoj studiji se ne mogu pripisati dejstvu polifenola. Naši rezultati ukazuju da su polifenoli komponenta soka od aronije koja je potrebna za promene zastupljenosti n-6 polinezasićenih masnih kiselina i palmitinske kiseline fosfolipida plazme ljudi, da je za to dovoljna količina od 294 mg ekvivalenata galne kiseline, a moguće je da je ovo dejstvo polno-specifično. Neophodno je dalje ispitati efekte unosa polifenola soka od aronije u prevenciji kardiovaskularnih bolesti putem uticaja na masnokiselinski profil.

Ključne reči: polifenoli, sok od aronije, n-6 polinezasićene masne kiseline, palmitinska kiselina, faktori rizika za nastanak kardiovaskularnih bolesti, pacov, čovek.

Naučna oblast: Biologija

Uža naučna oblast: Animalna i humana fiziologija

The effects of chokeberry juice polyphenols on cardiovascular risk factors and fatty acid profile in animal and human study

Abstract

Cardiovascular diseases are the leading cause of death in Serbia and the world. Daily dietary intake of fruits and vegetables can reduce the incidence of these diseases. Foods of plant origin contain various components, with anti-inflammatory and antioxidant properties, and among them are polyphenols. This doctoral dissertation aimed to examine the effects of chokeberry juice polyphenols on risk factors for cardiovascular diseases and fatty acid profile of *Wistar* rats and humans.

In both studies was analyzed the influence of: 1) chokeberry juice (with 1177.11 mg/100 mL of polyphenols expressed as gallic acid equivalents); 2) polyphenol-free placebo 3) chokeberry juice diluted with placebo (with 294.28 mg/100 mL of polyphenols expressed as gallic acid equivalents). The animal study lasted for five weeks during which each group of male *Wistar* rats ($n = 8$) had unrestricted access, *ad libitum*, to one of the three liquids. The human study lasted for four weeks, during which subjects ($n = 84$), divided into three groups, drank 100 mL of one of the drinks per day. Each group had elevated values of the following parameters: serum LDL cholesterol concentrations, body mass index, waist circumference and systolic pressure.

The average daily intake of polyphenols was estimated to be 557 mg for the group of rats that had been drinking chokeberry juice, and 120 mg for the group that had been ingesting diluted chokeberry juice. At the end of the study, the concentration of LDL cholesterol in plasma was lower, and the percentage of vaccenic acid was higher in plasma and liver phospholipids, in rats that ingested more polyphenols, compared to those who drank placebo. Results of the human study showed decreased blood pressure of the subjects of all three groups compared to the initial values, but without a difference between the groups. There was a decrease in oxidized LDL levels in people who drank chokeberry juice, compared to baseline values, but there was no statistically significant difference from those who drank placebo. Intake of both polyphenol juices reduced the percentage of total n-6 polyunsaturated fatty acids and increased the percentage of saturated palmitic acid in plasma phospholipids, compared to the beginning of the study and placebo. That was also shown by comparing only men of the three groups. There was no association between the fatty acid desaturase 2 gene variants (rs174576, rs174593, rs174616) and the effects of chokeberry juice polyphenols.

The effects of chokeberry polyphenols on *Wistar* rat plasma fatty acids have not been shown in humans, therefore, based on changes in the fatty acid profile of rat liver, it cannot be assumed what changes are expected in human liver due to dietary intake of this fruit. Because of the lack of statistical significance in comparison with the placebo group, the reduction in blood pressure and oxidized LDL concentration in the human study cannot be attributed to the effect of polyphenols. Our results indicate that polyphenols are the component of chokeberry juice needed for changes in the percentage of n-6 polyunsaturated fatty acids and palmitic acid in human plasma phospholipids, that the amount of 294 mg of gallic acid equivalent is sufficient, and this effect may be gender-specific. It is necessary to further investigate the effects of chokeberry juice polyphenol intake in prevention of cardiovascular diseases via the influence on fatty acid profile.

Key words: polyphenols, chokeberry juice, n-6 polyunsaturated fatty acids, palmitic acid, risk factors for cardiovascular disease, rat, human.

Scientific field: Biology

Scientific subfield: Animal and human physiology

SPISAK SKRAĆENICA

1/4-AMJ	sok od aronije razblažen placebom
ABCG	eng. <i>ATP-binding cassette transporter</i>
AMJ	sok od aronije (lat. <i>Aronia melanocarpa</i> , eng. <i>juice</i>)
BHT	2,6-bi-tercbutil-hidroksi-toluen
BMI	indeks telesne mase (eng. <i>body mass index</i>)
Ca	kalcijum
CD36	eng. <i>cluster determinant 36</i>
CE	estri holesterola (eng. <i>cholesterol esters</i>)
CETP	holesterol ester transfer protein (eng. <i>cholesterol ester transfer protein</i>)
CGE	ekvivalent cijanidin glukozida (eng. <i>cyanidin glycoside equivalent</i>)
DAP	softver za procenu i planiranje ishrane (eng. <i>diet assess and plan</i>)
DBP	dijastolni krvni pritisak (eng. <i>diastolic blood pressure</i>)
DF	faktor razblaženja (eng. <i>dilution factor</i>)
DNK	dezoksiribonukleinska kiselina (eng. <i>deoxyribonucleic acid</i>)
EDTA	etildiamintetrasirćetna kiselina (eng. <i>ethylenediaminetetraacetic acid</i>)
ELISA	eng. <i>enzyme linked immunosorbent assay</i>
FADS	gen desaturaza masnih kiselina (eng. <i>fatty acid desaturase</i>)
FFQ	anketa o učestalosti uzimanja pojedinih namirnica (eng. <i>food frequency questionnaire</i>)
GAE	ekvivalent galne kiseline (eng. <i>galic acid equivalent</i>)
HDL	lipoprotein velike gustine (eng. <i>high-density lipoprotein</i>)
HMGR	eng. <i>3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase</i>
ICAM	intercelularni adhezivni molekul (eng. <i>intercellular adhesion molecule</i>)
IL-6	interleukin-6
K	kalijum
KVB	kardiovaskularne bolesti
LDL	lipoprotein male gustine (eng. <i>low-density lipoprotein</i>)
LOX-1	lektinu sličan receptor za oksidovani LDL (eng. <i>lectin-like oxidized LDL receptor-1</i>)
mCSF	faktor stimulacije kolonija makrofaga (eng. <i>macrophage colony-stimulating factor</i>)
MCP-1	monocitni hemotaktični protein-1 (eng. <i>monocyte chemotactic protein-1</i>)
Mg	magnezijum
MW	molekularna težina (eng. <i>molecular weight</i>)
Na	natrijum
NADPH	nikotindiamid adenin dinukleotid fosfat (eng. <i>nicotinamide adenine dinucleotide phosphate</i>)
NCBI	Nacionalni Centar za Biotehnoške Informacije (eng. <i>The National Center for Biotechnology Information</i>)
NO	azot monoksid (eng. <i>nitric oxide</i>)
NPC1L1	eng. <i>Niemann-Pick C1-Like 1</i>
oxLDL	oksidovani LDL (eng. <i>oxidized LDL</i>)
PAI-1	inhibitor aktivatora plazminogena-1 (eng. <i>plasminogen activator inhibitor-1</i>)
PLB	placebo
PUFA	polinezasićene masne kiseline (eng. <i>polyunsaturated fatty acids</i>)
RT-PCR	lančana reakcija polimeraze u realnom vremenu (eng. <i>Real-Time Polymerase Chain Reaction</i>).

SBP	sistolni krvni pritisak (eng. <i>systolic blood pressure</i>)
SDS	natrijum dodecil sulfat (eng. <i>sodium dodecyl sulfate</i>)
SREBP-2	eng. <i>sterol regulatory element-binding transcription factor 2</i>
TG	trigliceridi (eng. <i>triglycerides</i>)
TNF-α	faktor nekroze tumora- α (eng. <i>tumor necrosis factor-α</i>)
VCAM	vaskularni ćelijski adhezivni molekul (eng. <i>vascular cell adhesion molecule</i>)
VLDL	lipoprotein veoma male gustine (eng. <i>very-low-density lipoprotein</i>)

SADRŽAJ

1. Uvod.....	1
1.1. Faktori rizika za nastanak kardiovaskularnih bolesti.....	1
1.1.1. Krvni pritisak.....	1
1.1.2. Indeks telesne mase i obim struka.....	2
1.1.3. Glikemija.....	3
1.1.4. LDL i HDL holesterol u cirkulaciji.....	3
1.1.4.1. Oksidovani LDL i ateroskleroza.....	5
1.1.5. Trigliceridi u cirkulaciji.....	6
1.1.6. Masne kiseline fosfolipida.....	6
1.1.6.1. Zasićene i mononezasićene masne kiseline.....	8
1.1.6.2. Polinezasićene masne kiseline.....	10
1.1.6.2.1. Varijante gena <i>FADS</i> i polinezasićene masne kiseline.....	12
1.2. Dijetarni unos voća i povrća u prevenciji kardiovaskularnih bolesti.....	13
1.2.1. Efekti polifenola na faktore rizika za nastanak kardiovaskularnih bolesti.....	13
1.2.2. Sok od aronije.....	15
2. Ciljevi doktorske disertacije.....	17
3. Materijal i metode.....	18
3.1. Sastav soka od aronije i placebo.....	18
3.1.1. Određivanje količine ukupnih polifenola soka od aronije.....	18
3.1.2. Određivanje količine ukupnih antocijana u soku od aronije.....	19
3.2. Animalna studija.....	20
3.2.1. Eksperimentalne životinje i dizajn studije.....	20
3.2.2. Uzimanje uzoraka krvi i tkiva jetre životinja i biohemijske analize.....	20
3.2.3. Određivanje masnokiselinskog profila fosfolipida životinja.....	20
3.2.3.1. Izolacija ukupnih lipida plazme.....	20
3.2.3.2. Izolacija ukupnih lipida jetre.....	21
3.2.3.3. Razdvajanje klasa lipida tankoslojnom hromatografijom.....	21
3.2.3.4. Metilacija masnih kiselina fosfolipida plazme i jetre životinja.....	21
3.2.3.5. Analiza metil-estara masnih kiselina gasno-tečnom hromatografijom.....	22
3.2.4. Statistička obrada podataka animalne studije.....	22
3.3. Humana studija.....	23
3.3.1. Ispitanici i dizajn humane studije.....	23
3.3.2. Procena dijetarnog unosa tokom trajanja studije.....	23
3.3.3. Merenje krvnog pritiska i antropometrijskih parametara.....	23
3.3.4. Uzimanje uzoraka krvi i merenje biohemijskih parametara.....	24
3.3.5. Određivanje vrednosti oxLDL-a.....	24
3.3.6. Određivanje masnokiselinskog profila fosfolipida plazme.....	24
3.3.7. Genotipizacija varijanti gena <i>FADS2</i>	24
3.3.7.1. Izolacija DNK.....	24
3.3.7.2. Određivanje koncentracije i čistoće izolovane DNK.....	25
3.3.7.3. Odabir varijanti gena <i>FADS2</i>	25
3.3.7.4. Genotipizacija odabranih varijanti gena <i>FADS2</i> metodom lančane reakcije polimeraze u realnom vremenu.....	25
3.3.8. Statistička analiza podataka humane studije.....	26
4. Rezultati.....	28
4.1. Količina ukupnih polifenola i antocijana u soku od aronije.....	28
4.2. Efekti polifenola soka od aronije na telesnu masu, biohemijske parametre i masnokiselinski profil u animalnoj studiji.....	28
4.2.1. Prosečan dnevni unos polifenola i hrane.....	28

4.2.2. Efekti polifenola soka od aronije na telesnu masu i biohemijske parametre pacova	29
4.2.3. Efekti polifenola soka od aronije na masnokiselinski profil fosfolipida plazme i jetre pacova	29
4.3. Efekti polifenola soka od aronije na faktore rizika za kardiovaskularne bolesti i masnokiselinski profil u humanoj studiji.....	31
4.3.1. Karakteristike ispitanika na početku studije	31
4.3.2. Efekti polifenola soka od aronije na krvni pritisak i biohemijske parametre	31
4.3.3. Efekti polifenola soka od aronije na masnokiselinski profil fosfolipida plazme	35
4.3.3.1. Polno-specifične razlike u promenama zastupljenosti palmitinske i n-6 masnih kiselina fosfolipida plazme nakon intervencije	39
4.3.4. Procenjen dijetarni unos ispitanika na osnovu anketa ishrane	40
4.3.5. Povezanost varijanti gena <i>FADS2</i> i efekata polifenola soka od aronije na status polinezasićenih masnih kiselina u fosfolipidima plazme	42
4.3.5.1. Učestalost alela i zastupljenost masnih kiselina u odnosu na genotip kod svih ispitanika	42
4.3.5.2. Distribucija genotipova i zastupljenost masnih kiselina u odnosu na genotip kod ispitanika svake grupe	44
5. Diskusija	48
5.1. Efekti polifenola soka od aronije na krvni pritisak u humanoj studiji	48
5.2. Efekti polifenola soka od aronije na telesnu masu u animalnoj i humanoj studiji	48
5.3. Efekti polifenola soka od aronije na glikemiju i lipidni status u animalnoj i humanoj studiji ..	49
5.4. Efekti polifenola soka od aronije na vrednosti oxLDL-a u serumu ispitanika humane studije ..	50
5.5. Efekti polifenola soka od aronije na masne kiseline fosfolipida u animalnoj i humanoj studiji	51
5.6. Povezanost pola sa efektima polifenola soka od aronije na profil masnih kiselina fosfolipida plazme	52
5.7. Povezanost varijanti gena <i>FADS2</i> sa efektima polifenola soka od aronije na profil polinezasićenih masnih kiselina fosfolipida plazme	53
6. Zaključci	54
Literatura	56
Biografija	80

1. UVOD

1.1. Faktori rizika za nastanak kardiovaskularnih bolesti

Kardiovaskularne bolesti (KVB) predstavljaju grupu oboljenja srca i krvnih sudova, u koje spadaju koronarna bolest, cerebrovaskularne bolesti, ali i mnoge druge (World Health Organization, 2011; Holt i Tulis, 2015). Prema podacima Svetske zdravstvene organizacije, KVB su tokom 2016. godine bile vodeći uzrok smrtnosti u svetu, ali i u Srbiji (World Health Organization, 2018). Zbog slabe implementacije preventivnih mera i visoke stope smrtnosti od kardiovaskularnih oboljenja, Evropsko kardiološko udruženje je Srbiju svrstalo u zemlje visokog rizika (Piepoli i sar., 2016).

Na nastanak KVB utiču različiti faktori, među kojima su: hipertenzija, prekomerna masa, dijabetes i hiperlipidemija (World Health Organization, 2011; Yusuf i sar., 2020; Nelson, 2013), koji su najčešće posledica neodgovarajućeg načina ishrane i nedovoljne fizičke aktivnosti (Garfinkle 2017; Meldrum i sar., 2017; Schwingshackl i sar., 2017; Pang i sar., 2019). Ovi faktori rizika često se javljaju kod ljudi uzrasta od 18 do 45 godina (Andersson i Vasana, 2018). Nedavna analiza je pokazala da su KVB vodeći uzrok smrtnosti u svetu kod oba pola (Woodward, 2019). Žene u reproduktivnom periodu imaju manju incidencu nastanka kardiovaskularnih oboljenja u odnosu na one koje su u menopauzi ili muškarce iste starosti (dos Santos i sar., 2014; Pérez-López i sar., 2010). Istraživanja su pokazala da estrogen doprinosi održavanju optimalnih vrednosti krvnog pritiska, telesne mase, glukoze, triglicerida i ukupnog holesterola (Di Giosia i sar., 2018; Mauvais-Jarvis i sar., 2013; Yeasmin i sar., 2017).

1.1.1. Krvni pritisak

Krvni pritisak je sila kojom krv deluje na jedinicu površine zida krvnog suda (Guyton, 1963). Zid arterija i vena čine tri sloja: unutrašnji (lat. *tunica intima*), središnji (lat. *tunica media*) i spoljašnji (lat. *tunica externa*) (dela Paz i D'Amore, 2009).

Krvni pritisak se meri u nadlaktičnoj arteriji (lat. *arteria brachialis*), a izražava se kao sistolni (eng. *systolic blood pressure*, SBP) i dijastolni (eng. *diastolic blood pressure*, DBP) (Muntner i sar., 2019; McEniery i sar., 2014). Prema klasifikaciji Evropskog kardiološkog društva i Evropskog društva za hipertenziju vrednosti SBP/DBP preko 140/90 mm Hg definišu hipertenziju (Williams i sar., 2018) (Tabela 1). Smatra se da je ona jedan od najčešćih faktora rizika za nastanak KVB (Yusuf i sar., 2020; Kokubo i Matsumoto, 2017; Weber i sar., 2016).

Tabela 1. Kategorije krvnog pritiska.

	Optimalan krvni pritisak	Normalan krvni pritisak	Visok normalan krvni pritisak	Hipertenzija
SBP (mm Hg)	< 120	120 – 129	130 – 139	≥ 140
DBP (mm Hg)	< 80	i/ili 80 – 84	i/ili 85 – 89	i/ili ≥ 90

Preuzeto i prilagođeno iz izveštaja Evropskog kardiološkog društva i Evropskog društva za hipertenziju (Williams i sar., 2018).

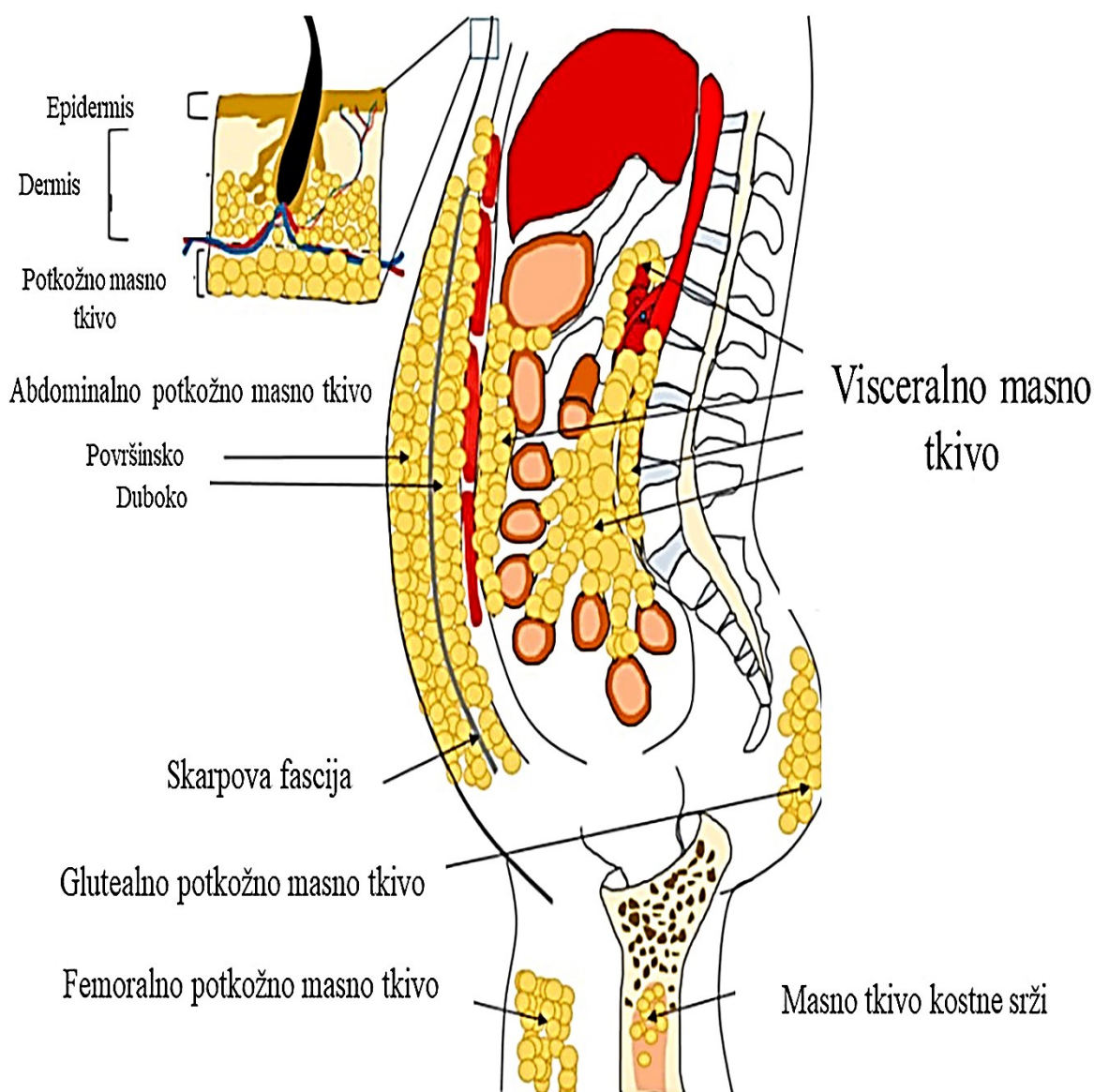
Hipertenzija dovodi do disfunkcije endotela koronarnih arterija (Bolad i Delafontaine, 2005), što može biti uzrok ishemijske miokardije (Matsuzava i Lerman, 2014; Summers i sar., 2011), odnosno nedovoljnog snabdevanja srčanog mišića oksigenisanom krvlju. To može dovesti do infarkta miokarda i smrti (Shimokawa i Yasuda, 2008).

Endotel je selektivna fizička barijera koja kontroliše propustljivost krvnog suda (Matsuzava i Lerman, 2014). On takođe reguliše vaskularnu homeostazu produkcijom autokrinih i parakrinih faktora. Jedan od njih je azot monoksid (eng. *nitric oxide*, NO), koji ima ulogu vazodilatatora, inhibira

proliferaciju glatkih mišićnih ćelija zida krvnog suda, agregaciju i adheziju trombocita, a i reguliše interakciju endotela sa leukocitima (Tousoulis i sar., 2005; Moncada i Higgs, 2006). Najčešće je disfunkcija endotela okarakterisana smanjenom bioraspoloživošću NO (Arrebola-Moreno i sar., 2012).

1.1.2. Indeks telesne mase i obim struka

Telesna masa se može promeniti samo kada energetski unos nije jednak potrošnji energije tokom određenog vremenskog perioda (Hill i sar., 2012). Višak energije se primarno deponuje u vidu triglicerida u adipocitima belog masnog tkiva. U telu postoji nekoliko različitih depoa belog masnog tkiva (Luong i Lee, 2018). Visceralno masno tkivo se nalazi oko srca i unutrašnjih organa abdomena (Luong i sar., 2019). Potkožno masno tkivo je ispod sloja dermisa (Luong i Lee, 2018; Fenner i Clark, 2016), sa najvećim depovima u abdominalnom, glutealnom i femoralnom regionu (Chusyd i sar., 2016). U odnosu na Skarpovu fasciju, razlikuju se površinsko i duboko potkožno masno tkivo abdomena (Slika 1) (Luong i sar., 2019).



Slika 1. Potkožno i visceralno masno tkivo čoveka. Preuzeta i prilagođena iz Luong i saradnici (2019).

Pored adipocita, masno tkivo čine preadipociti, fibroblasti, vaskularne ćelije i ćelije imunog sistema (Ouchi i sar., 2011), od kojih su najbrojniji makrofagi (Klein-Wieringa i sar., 2013). Višak energije se akumulira u postojećim zrelim adipocitima, koji postaju veći (hipertrofični). Oni mogu da stimulišu proliferaciju i diferencijaciju preadipocita (Haczeyni i sar., 2018; Longo i sar., 2019). Preadipociti potiču od mezenhimalnih matičnih ćelija vaskularne strome (Tang i Lane, 2012). Stopa proliferacije i adipogeni potencijal matičnih ćelija i diferencijacija preadipocita potkožnog tkiva su viši u odnosu na one visceralnog (Baglioni i sar., 2012; L.F. Liu i sar., 2017).

Hipertrofični adipociti regrutuju makrofage koji sekretuju proinflamatorne citokine, kao što su faktor nekroze tumora- α (eng. *tumor necrosis factor- α* , TNF- α) i interleukin-6 (IL-6) (Eguchi i sar., 2015). Oni doprinose lokalnoj i sistemskoj inflamaciji (Longo i sar., 2019) i disfunkciji endotela (Esteve i sar., 2007; H. Zhang i sar., 2009). Kim i saradnici (2016) su pokazali da je koncentracija TNF- α i IL-6 u serumu u direktnoj korelaciji sa količinom visceralnog i dubokog potkožnog masnog tkiva abdomena. Ovi citokini stimulišu produkciju inhibitora aktivatora plazminogena-1 (eng. *plasminogen activator inhibitor-1*, PAI-1) (Plomgaard i sar., 2005; Rega i sar., 2005; Cesari, 2010), koji sprečava aktivaciju plazminogena i nastanak plazmina, potrebnog za razgradnju krvnog ugruška i uklanjanje fibrina iz cirkulacije (Song i sar., 2017; Đorđević i sar., 2013). Meta-analiza Songa i saradnika (2017) je pokazala da povišene vrednosti PAI-1 u cirkulaciji povećavaju rizik od nastanka bolesti koronarnih arterija. Koncentracija PAI-1 u plazmi je pozitivno korelisana sa količinom abdominalnog visceralnog masnog tkiva (Sam i sar., 2009), kao i ekspresijom u abdominalnom potkožnom, ali ne i femoralnom masnom tkivu (Mavri i sar., 2001).

Ukupna akumulacija masti u abdomenu se procenjuje na osnovu obima struka. Abdominalna gojaznost Kavkazoida je definisana vrednostima jednakim i većim od 94 cm za muškarce i od 80 cm za žene (Catapano i sar., 2016; Alberti i sar., 2006; Yumuk i sar., 2015). Indeks telesne mase (eng. *body mass index*, BMI) predstavlja količnik telesne mase i kvadrata visine. Normalne vrednosti su od 18,5 do 24,9 kg/m², one od 25 do 29,9 kg/m² označavaju prekomernu masu (predgojaznost), a jednake i veće od 30 kg/m² gojaznost (Marques i sar., 2018; Bodicoat i sar., 2014; World Health Organization, 2000). Meta-analiza prospektivnih studija je pokazala da su i abdominalna gojaznost i vrednosti BMI jednake i veće od 25 kg/m² povezani sa povećanim rizikom od poremećaja rada srca (eng. *heart failure*) (Aune i sar., 2016).

1.1.3. Glikemija

Glukoza je primarni energetska supstrat za većinu ćelija (Navale i Paranjape, 2016). Optimalne vrednosti koncentracije glukoze u krvi čoveka iznose od 3,9 do 5,5 mmol/L (Sanders i Lupton, 2012). Pokazano je *in vitro* da hiperglikemija dovodi do smanjene produkcije NO endotelnih ćelija aorte (Kemeny i sar., 2013; Du i sar., 2001) i koronarnih arterija (Ding i sar., 2000). Humane studije su pokazale povezanost vrednosti glukoze od 5,6 do 6,9 mmol/L sa disfunkcijom endotela nadlaktične arterije (Rodriguez i sar., 2005; Su i sar., 2008). Ove vrednosti glukoze u plazmi nakon neuzimanja hrane od minimum osam sati predstavljaju jedan od kriterijuma za dijagnostikovanje predijabetesa (American Diabetes Association, 2019). Na osnovu meta-analize prospektivnih studija utvrđeno je da su navedene koncentracije glukoze kod ljudi pozitivno korelisane sa rizikom od nastanka KVB (Huang i sar., 2016).

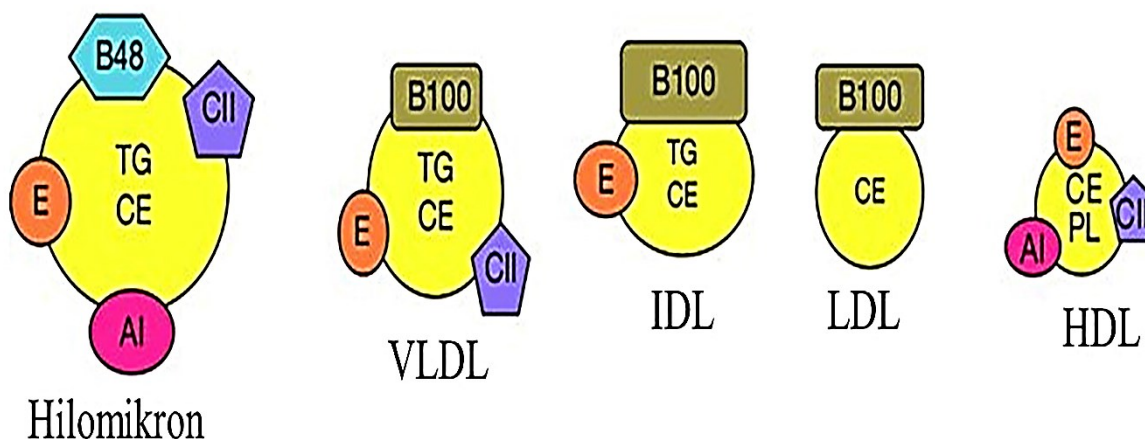
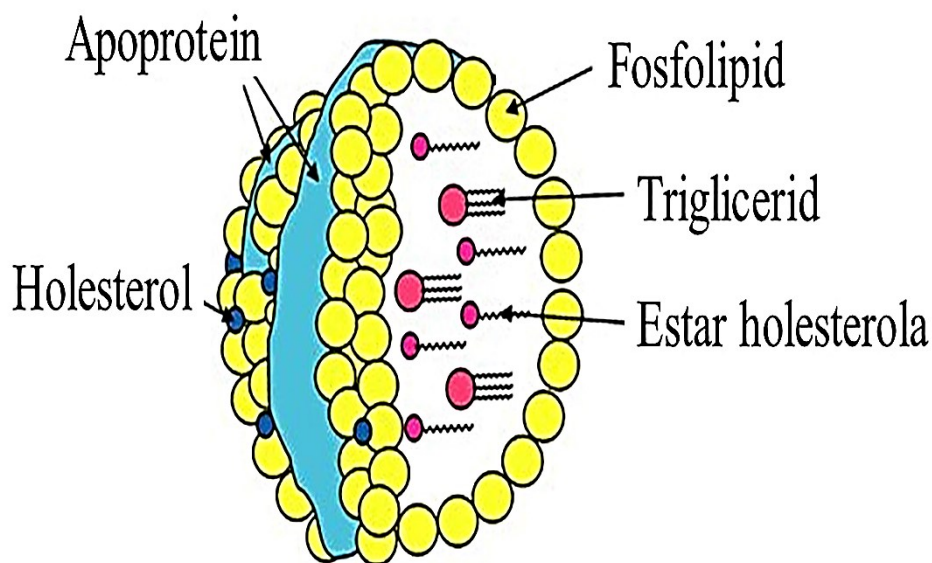
1.1.4. LDL i HDL holesterol u cirkulaciji

Holesterol je strukturna komponenta ćelijskih membrana životinja (Lange i sar., 1989; Crocke, 1998), prekursor vitamina D3 u koži (Holick i sar., 1977), steroidnih adrenalnih i gonadalnih hormona i žučnih soli (Cox i García-Palmieri, 1990). Kod životinja holesterol potiče od unosa hrane i sinteze u organizmu (Dietschy, 1984).

U cirkulaciji se holesterol nalazi u sklopu različitih lipoproteinskih čestica (Slika 2), a najzastupljeniji je u lipoproteinima male gustine (eng. *low-density lipoprotein*, LDL) (Ginsberg,

1994). Povišene vrednosti LDL holesterola u cirkulaciji se povezuju sa povećanim rizikom od infarkta miokarda i šloga na osnovu prospektivnih studija (Kim, 2019; Y. Wang i sar., 2013). Takođe, meta-analiza je pokazala da snižavanje povišenih vrednosti LDL holesterola ($> 2,59$ mmol/L) smanjuje rizik od smrtnosti izazvane KVB (Navarese i sar., 2018). LDL ulazi u ćelije receptor-posredovanom endocitozom (Brown i Goldstein, 1976; Goldstein i Brown, 2009).

Višak holesterola se iz perifernih ćelija transportuje do jetre pomoću lipoproteina velike gustine (eng. *high-density lipoprotein*, HDL). Na osnovu epidemioloških podataka, postoji povezanost između povećanog rizika od KVB i vrednosti HDL holesterola manjih od 1 mmol/L kod muškaraca, odnosno manjih od 1,2 mmol/L kod žena (Catapano i sar., 2016).



Slika 2. Šematski prikaz lipoproteinskih čestica. Preuzeta i prilagođena iz Chiang i saradnici (2014). CE: estri holesterola (eng. *cholesterol esters*); TG: trigliceridi (eng. *triglycerides*).

1.1.4.1. Oksidovani LDL i ateroskleroza

Ateroskleroza je hronična inflamatorna bolest srednjih i velikih arterija. To je višedecenijski proces koji za rezultat može imati trombozu koronarnih arterija (Bentzon i sar., 2014).

Nastanku ateroskleroze doprinosi disfunkcionalni endotel, kroz koji LDL čestica dolazi do podendotelskog prostora (Mundi i sar., 2018). Tu se preko APO-B100 vezuje za proteoglikane i postaje podložna oksidaciji (Leiva i sar., 2015) (Slika 3). Stopa oksidacije LDL čestica zavisi od više faktora, a veoma značajni su lokalna koncentracija oksidanata i LDL-a (Scheffer i sar., 2005).

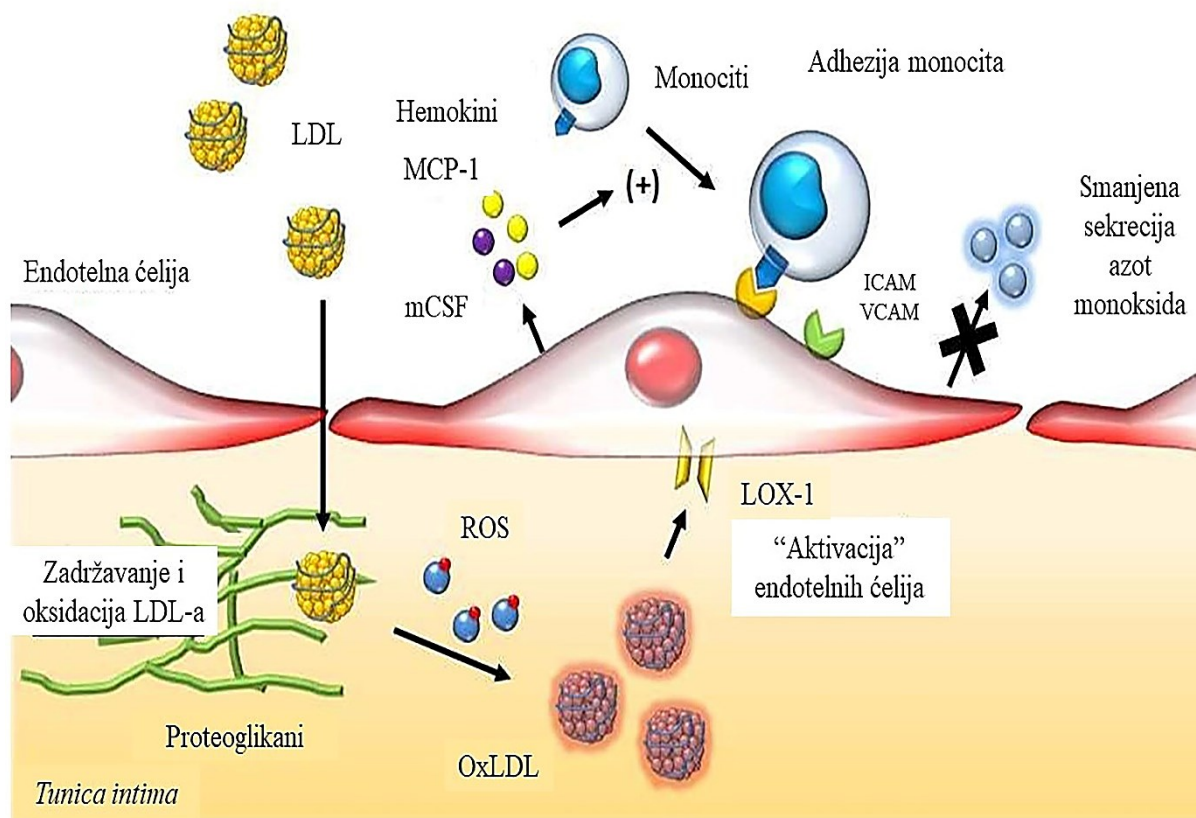
Oksidanti nastaju usled različitih reakcija, od kojih su neke katalizovane enzimima, kao što su lipoksigenaza, mijeloperoksidaza i nikotindiamid adenin dinukleotid fosfat (eng. *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate*, NADPH) oksidaza. U vaskularnom endotelu je NADPH oksidaza glavni izvor superoksida anjona (Channon i Guzik, 2002), koji je prekursor brojnih reaktivnih kiseoničnih vrsta (eng. *reactive oxygen species*, ROS) (Leopold i Loscalzo, 2008; Turrens, 2003). ROS imaju značajnu ulogu u signalnim putevima i odbrani od patogena, ali u povišenim koncentracijama mogu da oštete lipide, proteine i dezoksiribonukleinsku kiselinu (eng. *deoxyribonucleic acid*, DNK) (Phaniendra i sar., 2015). Zato postoje enzimi koji ih neutrališu, kao što su superoksid dismutaza, katalaza i hem oksigenaza, koji predstavljaju antioksidante prve linije odbrane (Ighodaro i Akinloye, 2018). Antioksidativnoj odbrani organizma doprinose i egzogeni dijetarni antioksidanti, kao što su vitamin C, vitamin E i vitamin A, kada se unose u većim količinama (Schneider i sar., 2018).

Do akumulacije ROS u vaskularnom endotelu dolazi usled njihovog povećanog stvaranja i/ili smanjenog antioksidativnog kapaciteta (Leopold i Loscalzo, 2008).

Oksidacijom lipida LDL-a u podendotelskom prostoru ova čestica postaje minimalno modifikovana oxLDL (eng. *oxidized LDL*) i ona se može transportovati u cirkulaciju (Itabe i sar., 2011; Brites i sar., 2017). Primenom imunoeseja se direktno meri oxLDL u cirkulaciji (Verhoye i sar., 2009). Na osnovu meta-analize opservacionih studija pokazano je da su vrednosti oxLDL u cirkulaciji pozitivno korelisane sa rizikom od nastanka KVB (Gao i sar., 2017).

Minimalno modifikovana oxLDL u podendotelskom prostoru stimuliše endotelske ćelije da eksprimiraju adhezivne molekule (Lusis, 2010) i da stvaraju monocitni hemotaktični protein-1 (eng. *monocyte chemotactic protein-1*, MCP-1) i faktor stimulacije kolonija makrofaga (eng. *macrophage colony-stimulating factor*, mCSF) (Slika 3). Usled toga dolazi do regrutacije monocita i njihove diferencijacije u makrofage. Makrofagi promovišu oksidaciju LDL-a (Maiolino i sar., 2013), koji preuzimaju endocitozom kada je APO-B fragmentisan (Brites i sar., 2017). Akumulacijom lipida u makrofagima nastaju penaste ćelije. Brojne penaste ćelije smeštene između glatkih mišićnih ćelija i proteoglikana sloja *tunica intima* čine masne pruge (Sakakura i sar., 2013). Masne pruge su lezije do čije regresije može doći pomoću HDL-a iz plazme (Badimon, 1990) koji transcitozom ulazi u podendotelski prostor (Röhrli i Stangl, 2018), preuzima višak slobodnog holesterola makrofaga i transportuje ga do jetre (Röhrli i Stangl, 2013).

Pod uticajem drugih faktora rizika za nastanak KVB, dolazi do progresije masnih pruga i nastanka nereverzibilnih lezija, kao što su patološko zadebljanje intime i fibroaterom (Sakakura i sar., 2013).



Slika 3. Oksidacija LDL-a u sloju tunica intima. Preuzeto i prilagođeno iz Leiva i saradnici (2015). ICAM: intercelularni adhezivni molekul (eng. *intercellular adhesion molecule*); LOX-1: lektinu sličan receptor za oksidovani LDL (eng. *lectin-like oxidized LDL receptor-1*); VCAM: vaskularni ćelijski adhezivni molekul (eng. *vascular cell adhesion molecule*).

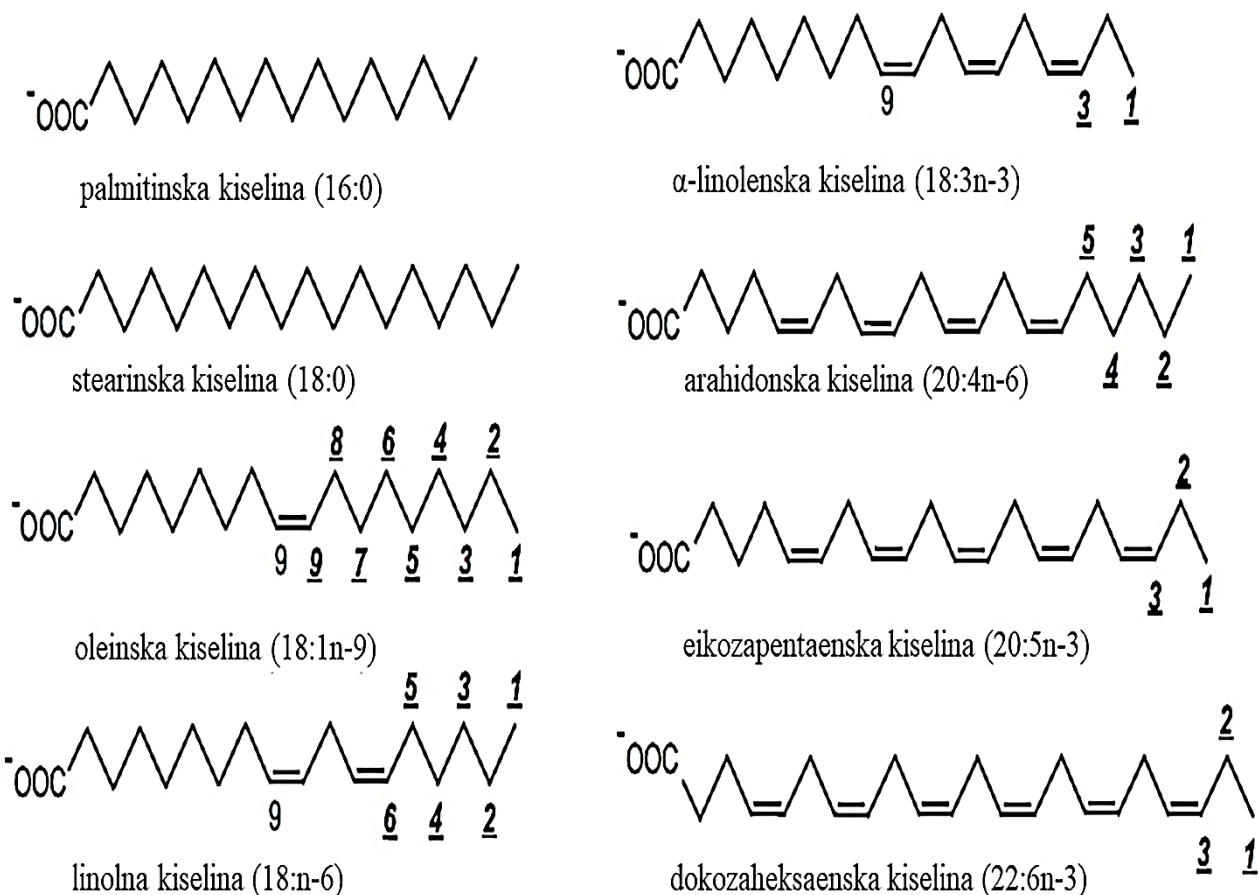
1.1.5. Trigliceridi u cirkulaciji

Trigliceridi se u cirkulaciji nalaze u sklopu različitih lipoproteinskih čestica (Slika 2), a najzastupljeniji su u hilomikronima i lipoproteinima veoma male gustine (eng. *very-low-density lipoprotein*, VLDL) (Ginsberg, 1994).

Vrednosti triglicerida u plazmi ukazuju na zastupljenost lipoproteinskih čestica koje sadrže APO-B i mogu doprineti razvoju ateroskleroze. Koncentracije triglicerida do 1,7 mmol/L se povezuju sa manjim rizikom od nastanka KVB, na osnovu izveštaja Evropskog kardiološkog društva i Evropskog društva za aterosklerozu (Mach i sar., 2020). Pokazano je da VLDL, bez prethodnog podleganja oksidaciji, mogu da indukuju nastanak penastih ćelija (Huff i sar., 1991; Evans i sar., 1993; Gianturco i sar., 1982; Sacks i Breslow, 1987).

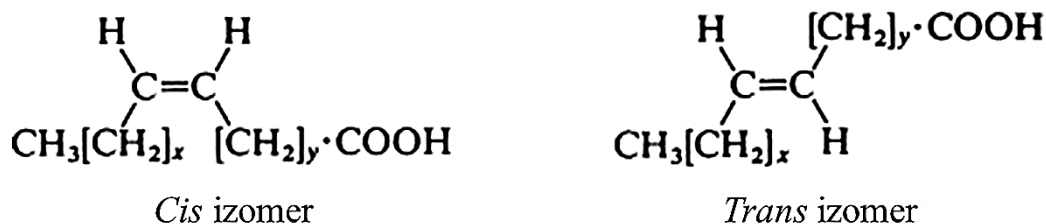
1.1.6. Masne kiseline fosfolipida

Masne kiseline se sastoje iz ugljovodoničnog lanca na čijem se jednom kraju nalazi metil, a na drugom karboksilna grupa. U tkivima životinja i biljaka su najzastupljenije one sa 16 i 18 atoma ugljenika. Ukoliko između ugljenikovih atoma ne postoje dvostruke veze, govorimo o zasićenim masnim kiselinama. One koje između ugljenikovih atoma imaju jednu dvostruku vezu nazivaju se mononezasićene masne kiseline, dok su one sa dve i više dvostrukih veza polinezasićene masne kiseline. Na osnovu pozicije prve dvostruke veze u odnosu na metil grupu, masne kiseline se mogu podeliti u familije, kao što su: n-3, n-6, n-7 i n-9 (Slika 4) (Lichtenstein i Jones, 2012; Schumann, 2012; Trzicka i sar., 2011).



Slika 4. Strukturne formule odabranih zasićenih i nezasićenih masnih kiselina. Preuzeta i prilagođena iz Tvrzicka i saradnici (2011).

Dvostruke veze mogu imati *cis* ili *trans* konfiguraciju, od koji je češća *cis*. Kod nje se atomi vodonika nalaze sa iste strane dvostruke veze (Slika 5) (Schumann, 2012; Tvrzicka i sar., 2011).



Slika 5. *Cis* i *trans* konfiguracija dvostruke veze nezasićenih masnih kiselina. Preuzeta i prilagođena iz Cole i Eastoe (2014).

Masnokiselinski ostaci su sastavne komponente fosfolipida (Lordan i sar., 2017; Watson, 2015). Glicerofosfolipidi se sastoje iz dva masnokiselinska lanca esterifikovana sa glicerolom, za koji je vezana fosfatna grupa, koja je povezana sa reziduom (holinom, serinom, etanolaminom ili inozitolom). U sastav lizofosfolipida ulazi jedan masnokiselinski lanac, a kod sfingolipida je prisutan sfingozin umesto glicerola (Lordan i sar., 2017).

Fosfolipidni dvosloj čini osnovu građe membrana ćelija i organela. Ćelijske membrane definišu granice ćelija (Goñi, 2014), selektivno su propustljive (Lordan i sar., 2017; Watson, 2015), omogućavaju transport materija (N. Yang i Hinner, 2015), transdukciju signala (Groves i Kurian, 2010), adheziju i komunikaciju sa drugim ćelijama (Cooper, 2000). Na sve ove funkcije značajno

utiče balansirana zastupljenosti masnih kiselina različitih karakteristika u membrani (Ferreri i sar., 2016; Lordan i sar., 2017).

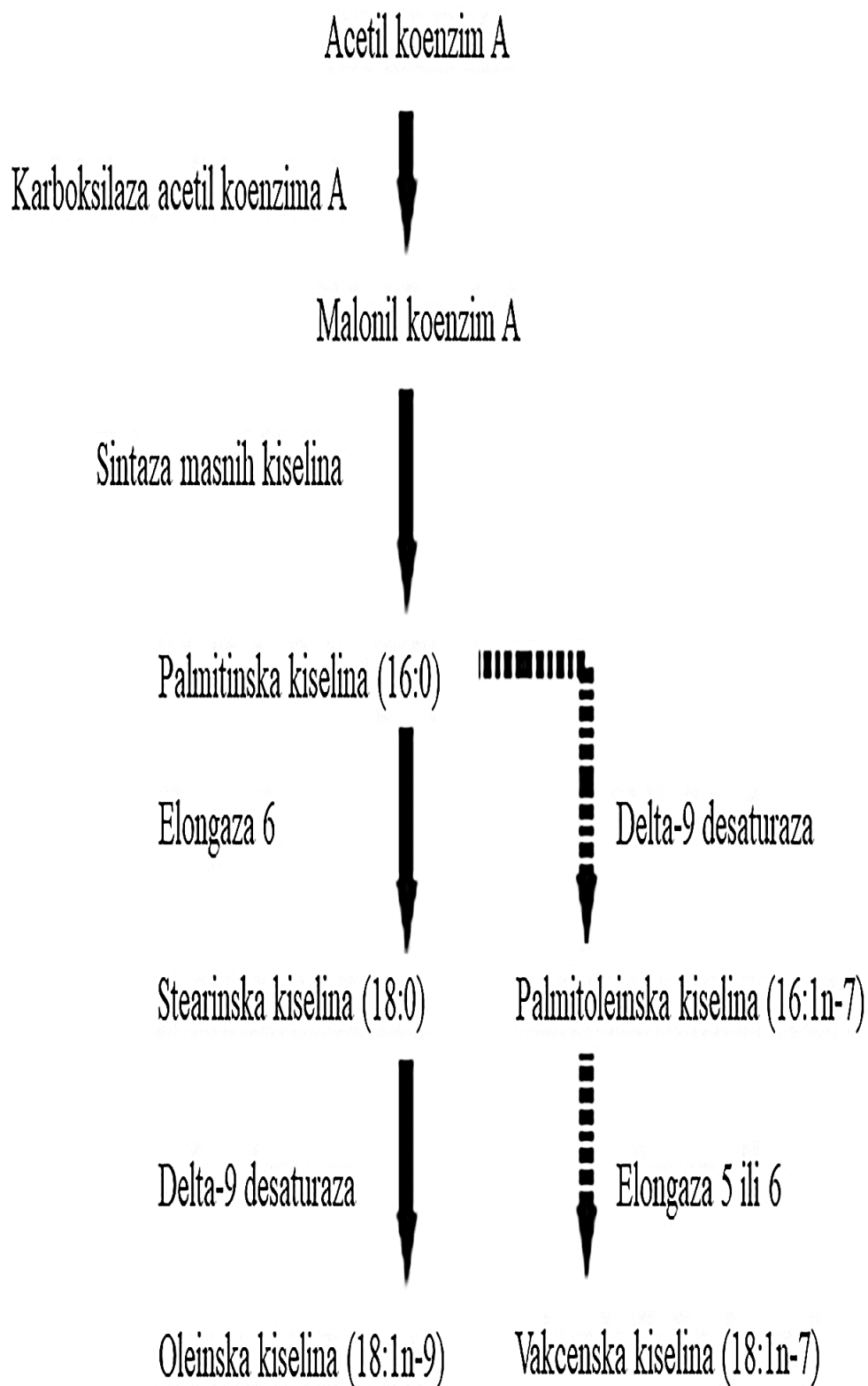
Masnokiselinski profili membrana i lipoproteina plazme su slični zbog njihove međusobne neprestane razmene fosfolipida (Urban i sar., 2000; Tvrzicka i sar., 2011). Zastupljenost pojedinačnih masnih kiselina u plazmi se povezuje sa rizikom za nastanak KVB (Matthan i sar., 2014; Q. Liu i sar., 2019; Khaw i sar., 2012).

1.1.6.1. Zasićene i mononezasićene masne kiseline

Palmitinska kiselina (16:0) je najzastupljenija masna kiselina u fosfolipidima plazme ljudi (Tvrzicka i sar., 2011; Grabež i sar., 2020; Kojadinović i sar., 2017). Ona se nalazi u raznim namirnicama, među kojima su mleko i mlečni proizvodi (Markiewicz-Kęszycka i sar., 2013; Barać i sar., 2018), kao i industrijski proizvodi koji sadrže palmino ulje (Mancini i sar., 2015). Osim toga, palmitinska kiselina nastaje *de novo* lipogenezom usled visokog unosa ugljenih hidrata (Sanders i Griffin, 2016; Song i sar., 2018), što je pokazano i kod čoveka i kod glodara, a dešava se pretežno u jetri i masnom tkivu (Song i sar., 2018; Bergen i Mersman, 2005; Aarsland i sar., 1997). Glukoza se u citoplazmi konvertuje u piruvat, a on se transportuje u mitohondrije, gde se odvija ciklus trikarbonskih kiselina u kom nastaje citrat, koji se transportuje u citoplazmu. Pod dejstvom ATP-citrat liaze se oslobađa acetil koenzim A, čijom karboksilacijom nastaje malonil koenzim A. On se delovanjem sintaze masnih kiselina konvertuje do palmitinske kiseline (Song i sar., 2018).

Elongacijom palmitinske kiseline nastaje stearinska kiselina (18:0), koja se desaturacijom prevodi u oleinsku kiselinu (18:1n-9). Palmitinska kiselina može biti desaturisana do palmitoleinske kiseline (16:1n-7), čijom elongacijom nastaje vakcenska kiselina (18:1n-7) (Marks i sar., 2013) (Slika 6). Sve one mogu biti unete i ishranom, različitim namirnicama, među kojima su: kakao buter (stearinska kiselina), maslinovo, lešnikovo, bademovo, kikiriki ulje (oleinska kiselina), makadamija (palmitoleinska kiselina), japanska jabuka (vakcenska kiselina) (Naik i Kumar, 2014; Orsavova i sar., 2015; Terruzzi i sar., 2018; Hu i sar., 2019; Shibahara i sar., 1987).

Povećana zastupljenost palmitinske i stearinske kiseline u fosfolipidima plazme je povezana sa dislipidemijom (Zheng i sar., 2017a) i nastankom dijabetesa tipa 2 (L. Wang i sar., 2003). Pokazana je pozitivna korelacija između zastupljenosti palmitoleinske kiseline u fosfolipidima plazme i rizika od poremećaja u radu srca, kao i odsustvo povezanosti vakcenske i oleinske kiseline sa ovom dijagnozom (Djoussé i sar., 2012; Morin i sar., 2018).



Slika 6. Sinteza zasićenih i mononezasićenih masnih kiselina. Preuzeta i prilagođena iz Marks i saradnici (2013).

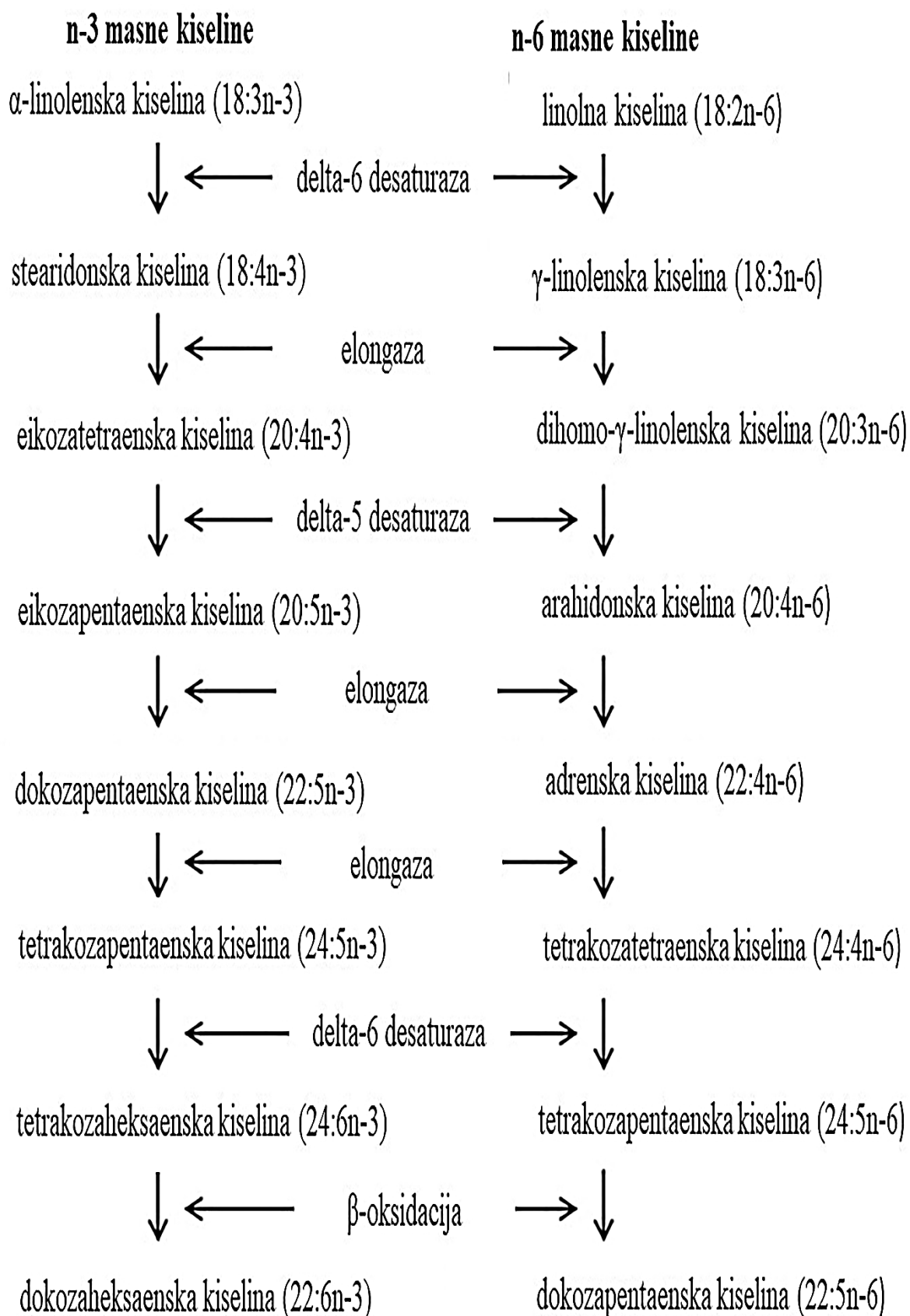
1.1.6.2. Polinezasićene masne kiseline

Sisari ne mogu da sintetišu n-3 i n-6 polinezasićene masne kiseline, zbog toga što nemaju enzime delta-12 i delta-15 desaturazu (Arab, 2003; Saini i Keum, 2018). Pokazano je da nedostatak linolne kiseline (18:2n-6) u ishrani dovodi do lezija bubrega pacova (Burr i Burr, 1930), a odsustvo α -linolenske kiseline (18:3n-3) u fosfolipidima plazme do neuroloških problema kod čoveka (Holman i sar., 1982; Holman, 1998). One su esencijalne masne kiseline (Saini i Keum, 2018; Das, 2006; Chilton i sar., 2014), koje se moraju uneti ishranom. U lanenom ulju je u velikoj količini zastupljena α -linolenska kiselina (Bayrak i sar., 2010; Saini i Keum, 2018), a linolna u ulju semena grožđa, suncokreta i kukuruza (Garavaglia i sar., 2016; Carrillo i sar., 2017)

Veliki deo α -linolenske kiseline unete hranom podleže β -oksidaciji (Barceló-Coblign i Murphy, 2009; Szeffel i sar., 2015). Ona se ugrađuje i u fosfolipide, kao i linolna kiselina (Tsukamoto i Sugavara, 2017), koja je veoma zastupljena u ovoj frakciji (Tvrzicka i sar., 2011). Ove masne kiseline se mogu prevesti u druge dužeg lanca (Slika 7), u čemu učestvuju enzimi: delta-5 desaturaza, delta-6 desaturaza i elongaze (Saini i Keum, 2018). Desaturaze su ekspimirane u više organa, sa najvećom aktivnošću u jetri (Glaser i sar., 2011). Brzinu metaboličkog puta procesa elongacije i desaturacije kod sisara određuje delta-6 desaturaza (Saini i Keum, 2018; Lohner i sar., 2013), a njeni kofaktori su: cink, magnezijum, vitamini B3 i B6 (Das, 2006). Ona katalizuje konverziju linolne kiseline u γ -linolensku (18:3n-6), čijom elongacijom nastaje dihomo- γ -linolenska kiselina (20:3n-6). Ona se prevodi u arahidonsku (20:4n-6) (Das, 2006; Saini i Keum, 2018), čijom elongacijom nastaje adrenska kiselina (22:4n-6) (Guijas, 2012) (Slika 7). One mogu biti unete i ishranom, na primer γ -linolenska kiselina je zastupljena u velikoj količini u crnoj ribizli (Lyashenko i sar., 2019), dok je arahidonska kiselina prisutna u hrani animalnog porekla, kao što su jaja (Kawashima, 2019; Koletzko i sar., 2019; Chilton i sar., 2014). Isti enzimi učestvuju i u metabolizmu n-3 polinezasićenih masnih kiselina. Delovanjem delta-6 desaturaze od α -linolenske kiseline nastaje stearidonska kiselina (18:4n-3), čijom elongacijom nastaje eikosatetraenska (20:4n-3), koja se desaturacijom konvertuje u eikozapentaensku kiselinu (20:5n-3). Od nje nastaje dokozaheksaenska kiselina (22:6n-3) delovanjem elongaze i delta-6 desaturaze, uz dodatni korak β -oksidacije u peroksizomima (Barceló-Coblign i Murphy, 2009; Saini i Keum, 2018) (Slika 7). Procenjeno je da se kod ljudi od 0,2 do 6% α -linolenske kiseline prevodi u eikozapentaensku, a do 0,1% u dokozaheksaensku kiselinu (Minihane, 2016; Burdge, 2006). One se unose i ishranom, a najzastupljenije su u ribama iz hladnih mora, kao što je losos (Rimm i sar., 2018; Saini i Keum, 2018; Chilton i sar., 2014).

Istraživanja na pacovima su pokazala da testosteron smanjuje aktivnost delta-5 i delta-6 desaturaze, a da estradiol povećava ekspresiju delta-6 desaturaze (Marra i de Alaniz, 1989; Kitson i sar., 2013). Meta-analiza humanih studija je pokazala da su arahidonska i dokozaheksaenska kiselina zastupljenije u fosfolipidima plazme žena nego muškaraca (Lohner i sar., 2013). Ove masne kiseline su veoma važne za razvoj fetusa i novorođenčeta (Hadley i sar., 2016; Koletzko i sar., 2019).

Dihomo- γ -linolenska, arahidonska, eikozapentaenska, dokozaheksaenska i adrenska kiselina su prekursori za signalne molekule. Eikozanoidi nastaju delovanjem ciklooksigenaze, lipooksigenaze i/ili P450 epoksigenaze na masne kiseline dužine 20 ugljenikovih atoma koje su oslobođene hidrolizom fosfolipida ćelijske membrane delovanjem fosfolipaze A2 (Gomes i sar., 2018). Ovu grupu metabolita čine: prostaglandini, prostaciklini, tromboksani i leukotrieni (Schumann, 2012). Od dihomo- γ -linolenske kiseline nastaju prostaglandini serije-1 i tromboksani koji imaju antiinflamatorni, antiagregacijski i vazodilatatorni efekat (Kwon i sar., 2020). Većina eikozanoida nastalih od arahidonske kiseline su proinflamatorni, dok većina onih izvedenih od eikozapentaenske kiseline ima slabije proinflamatorno dejstvo (Calder, 2010). Resolvini, protektini i maresini nastali od eikozapentaenske i dokozaheksaenske kiseline imaju značajnu ulogu u imunom odgovoru (Kwon i sar., 2020). Adrenska kiselina je prekursor vazodilatatornih metabolita (Kopf i sar., 2009; Yi i sar., 2007).



Slika 7. Metabolizam n-3 i n-6 polinezasićenih masnih kiselina. Preuzeta i prilagođena iz van Valenberg i saradnici (2013).

Veća procentualna zastupljenost eikozapentaenske i dokozaheksaenske kiseline u fosfolipidima plazme je asocirana sa smanjenim rizikom od nastanka KVB, na osnovu Multi-etničke studije o aterosklerozi (de Oliveira i sar., 2013). Kod ispitanika ove studije je pokazana i pozitivna povezanost vrednosti BMI-a sa zastupljenošću n-6, a inverzna sa n-3 masnim kiselinama (Hastert i sar., 2018). Pokazano je da je rigidnost arterija u pozitivnoj korelaciji sa ukupnim n-6 masnim kiselinama, pogotovo linolnom kiselinom, a u negativnoj sa ukupnim n-3 polinezasićenim kiselinama, posebno eikozapentaenskom i dokozaheksaenskom, u fosfolipidima plazme/seruma (Reinders, 2015; Lee i sar., 2016).

1.1.6.2.1. Varijante gena FADS i polinezasićene masne kiseline

Geni desaturaze masnih kiselina 1 i 2 (eng. *fatty acid desaturase*, *FADS1* i *FADS2*) kodiraju delta-5 i delta-6 desaturazu, redom (Buckley i sar., 2017; Koletzko i sar., 2019). U brojnim studijama je pokazano da postoji povezanost varijanti gena *FADS* sa aktivnošću desaturaza i zastupljenošću pojedinačnih polinezasićenih masnih kiselina u plazmi i tkivima (Schaeffer i sar., 2006; Xie i Innis 2008; Moltó-Puigmartí i sar., 2010; Lattka i sar., 2011; Koletzko i sar., 2011). Bokor i saradnici (2010) su utvrdili da postoji povezanost ređih alela varijante rs174616 gena *FADS2* sa smanjenom zastupljenošću arahidonske kiseline, kao i većim udelom linolne kiseline u fosfolipidima seruma. Slično tome, nosioci ređih alela nekoliko varijanti, kao što su rs174593 i rs174576, su imali manju aktivnost desaturaza i manje zastupljene γ -linolensku, arahidonsku i eikozapentaensku kiselinu u ukupnim lipidima plazme (Merino i sar., 2011). He i saradnici (2018) su zabeležili da je aktivnosti delta-5 desaturaze u metabolizmu n-6 masnih kiselina povećana kod homozigota za češće alele varijante rs174570 gena *FADS2*. Autori su na osnovu toga zaključili da nosioci ovih alela treba da unose ishranom više α -linolenske nego linolne kiseline, kako bi se smanjila količina arahidonske kiseline koja nastaje desaturacijom i elongacijom linolne kiseline. Slično tome, Porenta i saradnici (2013) su pokazali da homozigoti za češće alele četiri varijante gena *FADS1/2* imaju više arahidonske kiseline u mukozi kolona, ali da se mediteranskom ishranom ta koncentracija smanjuje. Potrebne su i druge studije, kako bi se, na osnovu genotipa, mogli kreirati saveti za ishranu (Koletzko i sar., 2019; Minihane, 2016)

1.2. Dijetarni unos voća i povrća u prevenciji kardiovaskularnih bolesti

Evropsko kardiološko udruženje preporučuje svakodnevni unos voća i povrća, kao deo ishrane koja doprinosi prevenciji KVB (Piepoli i sar., 2016), što potvrđuje meta-analiza prospektivnih studija (Aune i sar., 2017). Voće i povrće sadrži vitamine, minerale, vlakna (Alissa i Ferns, 2017) i polifenolna jedinjenja (Fraga i sar., 2019).

Dijetarni unos vitamina C, karotenoida i α -tokoferola je povezan sa smanjenim rizikom od nastanka kardiovaskularnih oboljenja (Aune i sar., 2018).

Unos kalijuma, kalcijuma i magnezijuma je pokazao efekte na smanjenje hipertenzije (Houston i Harper, 2008). D'Elia i saradnici (2012) su na osnovu meta-analize prospektivnih studija zaključili da unos hrane koja sadrži kalijum može biti korišćen u prevenciji KVB.

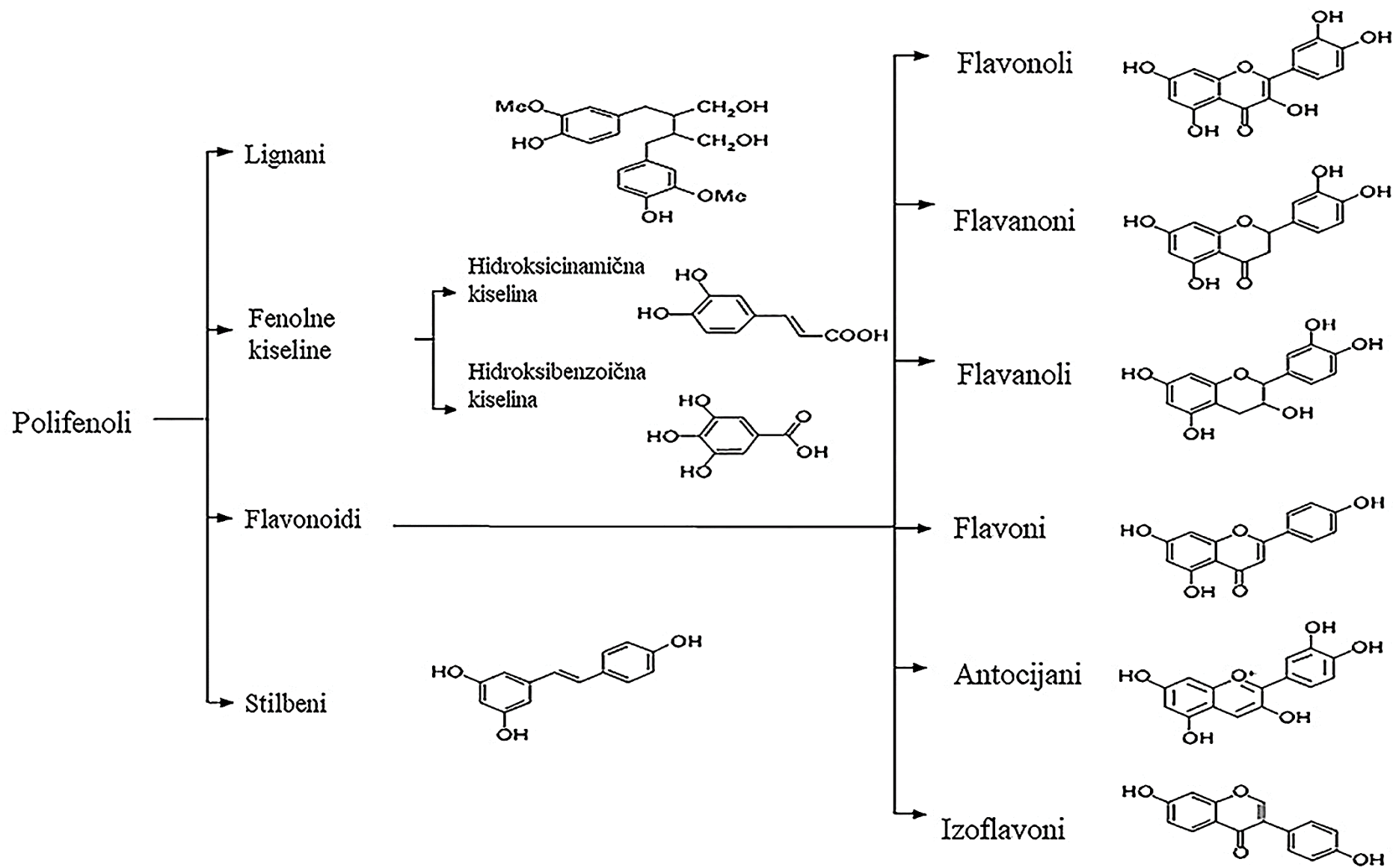
Na osnovu meta-analize prospektivnih studija dijetarni unos vlakana je inverzno povezan sa rizikom od smrti izazvane oboljenjima srca i krvnih sudova (Kim i Je, 2016).

1.2.1. Efekti polifenola na faktore rizika za nastanak kardiovaskularnih bolesti

Polifenoli su sekundarni metaboliti biljaka, koji ih štite od UV zračenja i patogena (Pandey i Rizvi, 2009; Manach i sar., 2004), a utiču i na boju (Khoo i sar., 2017) i ukus namirnica biljnog porekla (Soares i sar., 2017; Soares i sar., 2018). Oni se na osnovu strukture mogu svrstati u: lignane, fenolne kiseline, flavonoide i stilbene (Fraga i sar., 2019; Pandey i Rizvi, 2009; Manach i sar., 2004; Lipiński i sar., 2017) (Slika 8). Najbrojniji su flavonoidi, koji obuhvataju: antocijane, izoflavone, flavanone, flavonole, flavone i flavanole (Lipiński i sar., 2017) (Slika 8).

Na osnovu prospektivnih studija (X. Wang i sar., 2014; McCullough i sar., 2012) utvrđeno je da je povećan dijetarni unos flavonoida povezan sa smanjenim rizikom od nastanka KVB i smrti usled ovih oboljenja. Opservacione studije pokazale su da se prema uticaju na smanjenje rizika od nastanka hipertenzije (Godos i sar., 2019) i infarkta miokarda (Cassidy i sar., 2013), među flavonoidima izdvajaju antocijani. Oni su zastupljeni u crvenom i ljubičastom voću, kao što su: crna ribizla, kupina, malina, trešnja, jagoda i aronija (Lipiński i sar., 2017).

Pored opsežnih studija, i dalje ne postoji saglasnost oko količine antocijana i drugih polifenola neophodnih za ostvarivanje pozitivnog efekta na rad kardiovaskularnog sistema (Williamson, 2017; Fairlie-Jones i sar., 2017; L. Yang i sar., 2017). Osim toga, postoji interindividualna varijabilnost u efektima polifenola na kardiometaboličke biomarkere. Među faktorima koji doprinose ovoj varijabilnosti su pol i polimorfizmi gena (Milenković i sar., 2017).



Slika 8. Polifenoli. Preuzeta i prilagođena iz Spencer i saradnici (2008).

1.2.2. Sok od aronije

Aronija (lat. *Aronia melanocarpa*) (Slika 9) je biljka iz porodice ruža (Rosaceae), poreklom iz Severne Amerike (Borowska i Brzoska., 2016; Jurikova i sar., 2017).

Plod aronije sadrži najveću količinu polifenola, poređenjem sa drugim voćem (Pérez-Jiménez i sar., 2010; Tylewicz i sar., 2018). U ishrani se češće koristi sok od aronije nego svež plod (Jurikova i sar., 2017; Albuquerque i sar., 2018). Dosadašnja istraživanja su pokazala da 100 mL soka od aronije sadrži od oko 300 do 1109 mg polifenola, koji su izraženi kao ekvivalenti galne kiseline (eng. *galic acid equivalent*, GAE) (Tolić i sar., 2015; Tolić i sar., 2017). U ovom soku se nalaze i vitamini, minerali, organske kiseline i ugljeni hidrati (Kardum i sar., 2017).



Slika 9. Plod i listovi biljke aronije. Autor dr Marija Takić.

Rezultati studija koje su ispitivale efekte soka od aronije na faktore rizika za KVB nisu konzistentni. Pokazano je smanjenje povišenih vrednosti serumskih triglicerida (Skoczyńska i sar., 2007; Kardum i sar., 2015), ukupnog i LDL holesterola, glukoze (Skoczyńska i sar., 2007), ali i odsustvo efekata na ove parametre (Loo i sar., 2016). Unos soka od aronije je doveo i do povećanja procentualne zastupljenosti ukupnih n-3 masnih kiselina u fosfolipidima eritrocita (Kardum i sar., 2014a; Kardum i sar., 2014b), ali i do smanjenja udela α -linolenske kiseline u fosfolipidima plazme (Petrović i sar., 2016). Ni u jednoj studiji nije ispitivan uporedni uticaj različitih količina polifenola soka, a većina nije bila placebo kontrolisana (Kardum i sar., 2014a; Kardum i sar., 2014b; Kardum i

sar., 2015; Skoczyńska i sar., 2007). Upotreba odgovarajućeg placebo je neophodna za procenu doprinosa određenih komponenti, kao što su polifenoli (Kardum i sar., 2017).

Uticaj aronije je ispitivan i na pacovima. Pokazani su antioksidativni (Kujawska i sar., 2011; Francik i sar., 2014; Valcheva-Kuzmanova i sar., 2005), kao i antihiperlipidemični i hipoglikemijski efekti (Valcheva-Kuzmanova i sar., 2007a; Valcheva-Kuzmanova i sar., 2007b), ali nije analizirano dejstvo soka od aronije na masnokiselinski profil ovih životinja.

2. CILJEVI DOKTORSKE DISERTACIJE

Humane interventne studije su pokazale da unos voćnih sokova može da utiče pozitivno na faktore rizika za KVB (Zheng i sar., 2017b). Ipak, i dalje se ne zna dovoljno o doprinosu pojedinačnih komponenti, kao što su polifenoli. Njihovo dejstvo zavisi od različitih faktora, među kojima su uneta količina polifenola (Giglio i sar., 2018), ali i od karakteristika samih ispitanika, kao što su pol i genetička osnova (Milenković i sar., 2017).

Cilj ove doktorske disertacije je bio da se ispitaju efekti unosa dve količine polifenola soka od aronije na:

1. telesnu masu, koncentraciju glukoze, triglicerida, ukupnog, LDL i HDL holesterola u plazmi pacova *Wistar* soja;
2. masnokiselinski profil fosfolipida plazme i jetre pacova *Wistar* soja;
3. vrednosti SBP i DBP, BMI, obima struka, glukoze, triglicerida, ukupnog, LDL i HDL holesterola u serumu ispitanika, kod kojih je bar jedan od navedenih parametara bio povišen, zbog čega su bili pod rizikom od nastanka KVB;
4. vrednosti oxLDL-a u serumu ispitanika humane studije;
5. masnokiselinski profil fosfolipida plazme svih ispitanika humane studije, zatim u odnosu na pol i varijante rs174576, rs174593 i rs174616 gena *FADS2*.

3. MATERIJAL I METODE

3.1. Sastav soka od aronije i placeba

U animalnoj i humanoj studiji su korišćeni:

- 1) sok od aronije;
- 2) placebo bez polifenola;
- 3) sok od aronije razblažen placebom.

Sok od aronije je obezbedila kompanija Nutrika iz Beograda, bio je registrovan kao dijetetski suplement dostupan u prodaji. Informacije o sastavu ovog soka (osim ukupnih polifenola) i placeba su pokazali Kardum i saradnici (2017) (Tabela 2).

Tabela 2. Sastav placeba i soka od aronije (bez polifenola).

Komponenta	Količina na 100 mL
Ugljeni hidrati	
Glukoza (g)	4,5
Fruktoza (g)	2,8
Sorbitol (g)	5
Limunska kiselina, g	0,121
Minerali	
K (g)	0,22
Ca (mg)	15,2
Mg (mg)	13,9
Na (mg)	3,0
Vitamini	
C (mg)	2,92
B1 (µg)	38,1
B2 (µg)	70,8
B3 (µg)	39,4
B6 (µg)	44,2

Preuzeto i prilagođeno iz Kardum i saradnici (2017).

Placebo se sastojao od vode u koju su dodati komercijalno nabavljeni: ugljeni hidrati (glukoza, fruktoza, sorbitol), limunska kiselina, minerali (K, Ca, Mg, Na) i vitamini (C, B1, B2, B3, B6), u istim količinama u kojima su bili prisutni u soku od aronije. Placebo je sadržao i veštačke boje (“jagoda crvenu” 30,0 mg/100 mL i “briljantno crnu” 10,0 mg/100 mL) i ukus (“borovnicu” 0,10 mL/100 mL) u količinama dozvoljenim pravilnikom Evropske Unije (broj 94/36/EC) (Kardum i sar., 2017).

3.1.1. Određivanje količine ukupnih polifenola soka od aronije

Količina polifenola soka od aronije je izmerena spektrofotometrijski na osnovu reakcije sa Folin-Ciocalteu reagensom (mešavinom fosfomolibdenske i fosfotungistične kiseline). Ova metoda se zasnivala na oksidaciji polifenola i redukciji jona metala (Agbor i sar., 2014). Intenzitet reakcije zavisio je od dostupnosti hidroksilnih grupa polifenolnih jedinjenja. Galna kiselina se zbog svoje strukture koristila kao referentna supstanca (Kamboj, 2015).

Pripremljena su razblaženja galne kiseline destilovanom vodom (0 – 600 µg/mL). Sok od aronije je takođe bio razblažen destilovanom vodom. U 125 µL radnog rastvora soka bilo je dodato

500 µL destilovane vode i 125 µL Folin-Ciocalteu reagensa. Slepa proba je pripremljena dodavanjem 125 µL destilovane vode umesto rastvora soka.

Posle 6 minuta bilo je dodato 125 µL natrijum-karbonata (70 g/L) i 750 µL vode, nakon čega je usledila inkubacija u trajanju od 90 minuta, u mraku, na sobnoj temperaturi.

Apsorbanca je merena na 760 nm, prvo za slepu probu. Na osnovu vrednosti apsorpcije reakcionih proizvoda razblaženja galne kiseline konstruisana je standardna kriva ($y = 0,0038x + 0,070$, $R^2 = 0,995$), prema kojoj je određena količina polifenola u soku nakon merenja apsorbanca reakcionih proizvoda radnih rastvora soka. Ista procedura je primenjena za placebo i sok od aronije razblažen placebo.

3.1.2. Određivanje količine ukupnih antocijana u soku od aronije

Količina antocijana je određivana pH diferencijalnom metodom, koja se zasnivala na činjenici da se struktura i obojenost monomera antocijana menja u zavisnosti od pH vrednosti (na pH 1 su obojeni, a na pH 4,5 su bez boje). Koncentracija pigmenta je bila proporcionalna razlici u apsorpciji na 520 nm dve pH vrednosti, a izražavana kao ekvivalent cijanidin glukozida (eng. *cyanidin glycoside equivalent*, CGE), zato što je to najzastupljeniji antocijan u prirodi (Lee, 2005). Dodatno, merena je apsorbanca i na 700 nm, kako bi se otklonio šum.

Kalijum-hlorid (0,025 M) je pravljen mešanjem 0,93 g bezvodnog kalijum-hlorida i 440 mL destilovane vode. Zatim je dodavana koncentrovana hlorovodonična kiselina dok nije postignuta pH 1. Smeša je bila prenetu u stakleni sud, u koji je dodavana voda do 500 mL.

Natrijum-acetat (0,4 M) je pravljen mešanjem 16,4 g bezvodnog natrijum-acetata i 430 mL vode. U smešu je dodavana koncentrovana hlorovodonična kiselina dok nije postignuta pH od 4,5, nakon čega je prenetu u normalan sud i dopunjena vodom do 500 mL.

Napravljena su razblaženja sokova u obe smeše. Rastvori su upotrebljeni za merenje apsorbanca na 520 nm i 700 nm korišćenjem spektrofotometra.

Ukupna količina antocijana je računata formulom:

$$\frac{A \times MW \times DF \times 10^3}{\epsilon \times b}$$

u kojoj je:

$$A = (A_{520\text{nm}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH 1}} - (A_{520\text{nm}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH 4,5}};$$

MW = molekularna težina (eng. *molecular weight*) cijanidin-3-glukozida (449,2 g/mol);

DF = faktor razblaženja (eng. *dilution factor*);

10^3 = faktor konverzije iz g u mg;

ϵ = molarni ekstincioni koeficijent cijanidin-3-glukozida (26900 L/mol/cm);

b = dužina optičkog puta (1 cm).

Ista procedura je primenjivana za placebo i sok od aronije razblažen placebo.

3.2. Animalna studija

3.2.1. Eksperimentalne životinje i dizajn studije

Animalna studija je sprovedena na Institutu za Biološka istraživanja “Siniša Stanković”, u skladu sa Direktivom 2010/63/EU o zaštiti životinja koje se koriste u naučne svrhe. Etički komitet Instituta za Biološka istraživanja “Siniša Stanković” je dao odobrenje za sprovođenje studije (broj odobrenja: 01-758).

Korišćeni su mužjaci pacova *Wistar* soja, starosti četiri meseca i telesne mase 380 – 440 g. U svakom kavezu je bilo po četiri pacova, temperatura je bila 23 – 25 °C, a režim osvetljenja po 12 sati svetla i 12 sati mraka. Studija je trajala pet nedelja. Svaka grupa, od po osam životinja, je imala neometan, *ad libitum*, pristup tečnosti čijih je 80% činila voda, a 20% jednog od sledećih: 1) soka od aronije; 2) placebo; 3) soka pripremljenog mešanjem soka od aronije i placebo. Na kraju svakog dana je merena količina popijene tečnosti svake grupe. Na kraju svake nedelje je računata prosečna količina popijene tečnosti svake grupe i izražavana u mL po pacovu po danu. Na osnovu toga je procenjena prosečna dnevna količina unetih polifenola po grupama.

Briketi (Veterinarski zavod, Subotica) su bili dostupni *ad libitum*. Sadržali su: 20% proteina, 40% ugljenih hidrata, 5% masti (18,91% zasićenih, 29,24% mononezasićenih i 52,9% polinezasićenih masnih kiselina), 8% vlakana, vitamine i minerale. Količina pojedjenih briketa je merena tri puta nedeljno. Na kraju svake nedelje je računata prosečna količina pojedjenih briketa svake grupe i izražavana u gramima po pacovu po danu.

Telesna masa pacova je merena na svakih sedam dana tokom pet nedelja studije, korišćenjem laboratorijske vage.

3.2.2. Uzimanje uzoraka krvi i tkiva jetre životinja i biohemijske analize

Krv je uzorkovana iz abdominalne aorte, kardiopunkcijom, u epruvetama sa natrijum-citratom (3,8%, v/v), kao antikoagulumom. Krv je centrifugirana na 2500 rpm, tokom 5 minuta, kako bi se izdvojila plazma od eritrocita. Deo plazme je upotrebljavan za merenje koncentracije: glukoze, ukupnog holesterola, LDL holesterola, HDL holesterola, i triglicerida standardnim laboratorijskim kitovima na biohemijском analizatoru Cobas c-111 (Roche, Basel, Switzerland).

Po 500 µL plazme je odvajano u epruvete i čuvano na -80 °C za dalje analize masnih kiselina. Izolovano tkivo jetre je čuvano na -80 °C do analize masnih kiselina fosfolipida.

3.2.3. Određivanje masnokiselinskog profila fosfolipida životinja

3.2.3.1. Izolacija ukupnih lipida plazme

Ukupni lipidi plazme su izolovani primenom modifikovane metode po Folch-u i saradnicima (1957). U 500 µL plazme je dodavano 4,5 mL mešavine hloroform-metanola (2:1, v/v) sa antioksidantom 2,6-bi-tercbutil-hidroksi-toluenom (BHT).

Inkubirani su tokom 3 sata na +4 °C uz povremeno vorteksovanje. Zatim su centrifugirani 15 minuta na 3000 rcf, nakon čega su se izdvojila dva sloja. Lipidi su bili u donjem sloju koji je izvučen pipetom i prebačen u epruvete, u kojima je inkubiran tokom noći na -20 °C. Sutradan su uzorci uparavani do suva na vakuum uparivaču. U njih je dodavano 300 mL hloroform-metanola (2:1, v/v), nakon čega su bili spremni za razdvajanje klasa lipida tankoslojnom hromatografijom.

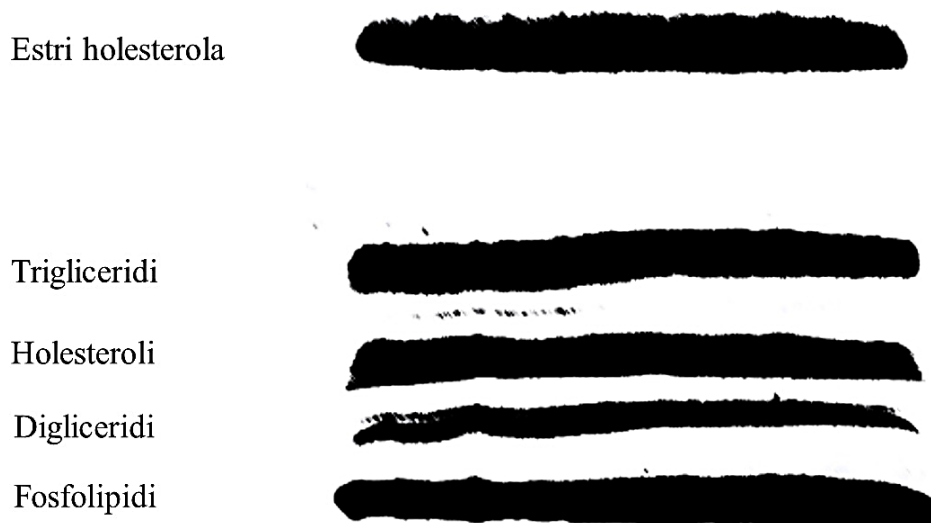
3.2.3.2. Izolacija ukupnih lipida jetre

Za izolaciju ukupnih lipida jetre je primenjivana modifikovana metoda po Folch-u (1957). Tkivo jetre (1 g) je homogenizovano, uz dodatak 10 mL hloroform-metanola (2:1, v/v) sa BHT-om. Uzorci su inkubirani na $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ tokom noći. Potom su filtrirani, a u svaki je tri puta dodavan hloroform-metanol (prva dva puta po 10 mL, a treći put 5 mL). Zatim je vršeno uparavanje korišćenjem vakuum uparivača, na temperaturi od $+50\text{ }^{\circ}\text{C}$, nakon čega su uzorci resuspendovani u 10 mL hloroform-metanola i 2 mL destilovane vode, pa inkubirani na $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ tokom noći. Sutradan su centrifugirani 15 minuta na 3000 rcf, nakon čega su se izdvojile dve faze, od kojih je gornja izvlačena pipetom i odbacivana. Nakon toga je dodavano 1,5 mL destilovane vode, a uzorci su centrifugirani tokom 15 minuta na 3000 rcf. Izdvojila su se dva sloja, od kojih je donji predstavljao čist lipidni ekstrakt, a gornji je odbacivan. Tokom noći su uzorci inkubirani na $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$. Sledećeg dana su uparavani do suva, korišćenjem vakuum uparivača. U uzorke je sukcesivno dodavano po 2 mL metanol-benzena, aceton-benzena i etanol-benzena (1:1, v/v). Nakon svakog dodavanja sledilo je uparavanje. Uzorci su inkubirani tokom noći na $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$. Sutradan je u svaki uzorak dodavano po 4 mL hloroforma, pa su uparavani do suvih ekstrakata, u koje je dodavano po 250 μL heksana, nakon čega su bili spremni za razdvajanje klasa lipida primenom tankoslojne hromatografije.

3.2.3.3. Razdvajanje klasa lipida tankoslojnom hromatografijom

Pravljena je mešavina silika gela i vode, koja je nanošena u tankom sloju (0,5 mm) na staklene ploče (dimenzije: 20 cm x 20 cm). Pre nanošenja uzoraka, one su stavljene u termostat na $+110\text{ }^{\circ}\text{C}$ tokom 1 sata, da bi se aktivirale.

Uzorci su nanošeni na ploču kap po kap u vidu linije dužine oko 4 cm, na rastojanju 2 cm od donje ivice ploče, sa razmakom od 0,5 cm između dva uzorka. Ploča je postavljena u razvijlač, smešu petroletra, dietiletra i glacijalne sirćetne kiseline (87:12:1, v/v/v), u staklenoj kadici. Razdvajanje je trajalo 45 minuta. Ispod UV lampe su identifikovane frakcije (Slika 10), od kojih je fosfolipidna bila najbliža donjoj ivici ploče (R_f vrednost = 0).



Slika 10. Frakcije lipida razdvojene tankoslojnom hromatografijom.

3.2.3.4. Metilacija masnih kiselina fosfolipida plazme i jetre životinja

Frakcija fosfolipida je sastrugana sa ploče korišćenjem špatule, a da bi se fosfolipidi skinuli sa silika gela dodavano je 1,5 mL heksana. Proces transesterifikacije masnih kiselina fosfolipida je započinjan dodavanjem 0,2 mL natrijum-hidroksida (2 mol/L) u metanolu. Uzorci su inkubirani u

termostatu (+85 °C) tokom 1 sata. Nakon hlađenja do sobne temperature, dodavano je po 0,2 sumporne kiseline (1 mol/L) u metanolu i uzorci su ponovo inkubirani na +85 °C tokom 2 sata. Posle hlađenja do sobne temperature uzorci su centrifugirani na 3000 rcf tokom 15 minuta. Izdvojeni donji sloj je uparavan do suva u struji azota. Uzorci su čuvani na -20 °C do analize gasno-tečnom hromatografijom.

3.2.3.5. Analiza metil-estara masnih kiselina gasno-tečnom hromatografijom

Uzorci metil-estara masnih kiselina su rastvoreni u 10 µL heksana, a potom je po 1 µL injektovano za analizu na kapilarnoj koloni Rtx 2330 (dimenzije: 60 m × 0.25 mm × 0.2 µm) (Restek Co, Bellefonte, PA, USA) gasnog hromatografa (Shimadzu chromatograph GC 2014, Tokyo, Japan). Temperatura injekcionog dela je bila podešavana na +220 °C. Temperatura detektora je bila +260 °C. Protok gasova za plameno-jonizacioni detektor, vazduha i vodonika, je bio 320 mL/min i 30 mL/min, redom; a nosećeg gasa helijuma 5 mL/min.

Temperaturni program kolone je bio sledeći: +140 °C tokom 5 minuta, potom rast po +3 °C/min do +220 °C, koja je održavana 20 minuta.

Poređenjem sa standardima (PUFA-2, Supelco, Bellefonte, PA, USA i 37 FAMES mix, Sigma Chemical Co, St. Louis, MO, USA) detektovani su metil-estri sledećih masnih kiselina: palmitinske, stearinske, palmitoleinske, oleinske, vakkenske, linolne, dihomo- γ -linolenske, arahidonske, adrenske, eikozapentaenske, dokozaheksaenske i dokozaheksaenske kiseline.

Zastupljenost svake masne kiseline je predstavljena kao procenat od ukupno detektovanih masnih kiselina.

Omega-3-indeks je bio izračunat kao zbir udela eikozapentaenske i dokozaheksaenske kiseline. Aktivnost delta-5 desaturaze je procenjivana kao količnik arahidonske/dihomo- γ -linolenske kiseline, a aktivnost delta-6 desaturaze kao količnik dihomo- γ -linolenske/linolne kiseline.

3.2.4. Statistička obrada podataka animalne studije

Podaci su statistički analizirani korišćenjem SPSS softvera (Čikago, Illinois). Normalna raspodela podataka je proverena Shapiro-Wilk testom. Rezultati su izraženi kao srednja vrednost \pm standardna devijacija. Razlike između tri grupe na kraju studije su analizirane jednosmernom analizom varijanse praćene post hoc Tuckey testom. Kao statistički značajne razlike smatrane su one čija je p vrednost bila manja od 0,05.

3.3. Humana studija

3.3.1. Ispitanici i dizajn humane studije

Studija je bila randomizovana, paralelnog dizajna, placebo kontrolisana, duplo slepa (eng. *double blinded*) u trajanju od četiri nedelje. Protokol je bio u skladu sa Helsinškom deklaracijom (1975) i odobren od strane Etičkog komiteta Kliničko bolničkog centra u Zemunu (broj odobrenja: 2125, 2013). Svi ispitanici su potpisali Informisani pristanak nakon usmene i pismene informisanosti o detaljima studijskog ispitivanja.

Kriterijumi za uključivanje u studiju su bili prisustvo najmanje jednog od sledećih faktora rizika za nastanak KVB: povišene vrednosti BMI-a ($\geq 25 \text{ kg/m}^2$), obima struka ($\geq 80 \text{ cm}$ za žene, $\geq 94 \text{ cm}$ za muškarce), SBP/DBP ($\geq 120/80 \text{ mm Hg}$), serumske glukoze nakon 8 – 12 časova bez uzimanja hrane ($\geq 5,5 \text{ mmol/L}$), triglicerida ($\geq 1,7 \text{ mmol/L}$), ukupnog holesterola ($\geq 5,0 \text{ mmol/L}$), LDL holesterola ($> 2,6 \text{ mmol/L}$) i HDL holesterola ($< 1 \text{ mmol/L}$ za muškarce i $< 1,2 \text{ mmol/L}$ za žene).

Kriterijumi na osnovu kojih su potencijalni učesnici u studiji isključivani su bili: dijagnostikovana KVB, dijabetes tip 2, tumor, astma, bolesti gastrointestinalnog trakta, alergija na bobičasto voće, upotreba duvana, veoma nizak krvni pritisak ($< 90/50 \text{ mm Hg}$), trudnoća, laktacija, doniranje krvi 16 nedelja pre početka studije, paralelno učestvovanje u još nekoj kliničkoj studiji.

Ispitanici su bili podeljeni u tri grupe, u okviru kojih su pili po 100 mL dnevno jednog od sledećih napitaka:

- 1) soka od aronije ($n = 27$);
- 2) placebo ($n = 29$);
- 3) soka od aronije razblaženog placebo ($n = 28$).

Količina od 100 mL je odabrana na osnovu rezultata ispitivanja sprovedenih u našoj laboratoriji, koja su pokazala da nije bilo negativnih efekata na funkciju jetre, bubrega i reaktivnost trombocita usled unosa 100 mL placebo dnevno tokom četiri nedelje (Kardum i sar., 2017).

Ispitanicima je objašnjeno da tokom trajanja studije treba da nastave sa uobičajenim stepenom fizičke aktivnosti i načinom ishrane, ali i da ne jedu aroniju i slično voće (jagode, maline, kupine i borovnice), kao i da ograniče unos maslinovog ulja, zelenog čaja i orašastih plodova, koji sadrže velike količine polifenola.

3.3.2. Procena dijetarnog unosa tokom trajanja studije

Dijetarni unos tokom studije je procenjivan na osnovu ankete o učestalosti uzimanja pojedinih namirnica (eng. *food frequency questionnaire*, FFQ) i dva ponovljena 24-časovna dijetarna upitnika. Prilikom odgovaranja na ankete ishrane, kao pomoćno sredstvo je bio ponuđen Atlas namirnica i gotovih jela sa Balkanskog područja, sa četiri različite veličine porcija, kako bi ispitanici preciznije procenili količinu unete hrane.

Pomoću softvera za procenu i planiranje ishrane (eng. *diet assess and plan*, DAP) (Gurinović i sar., 2018) su povezani podaci iz anketa sa informacijama o sastavu namirnica iz Srpske baze podataka (Gurinović i sar., 2016) i tako je procenjivan ukupan energetske unos, a posebno unos sledećih nutrijenata: ugljenih hidrata, proteina, masti, kao i ukupnih zasićenih, mononezasićenih i polinezasićenih masnih kiselina.

3.3.3. Merenje krvnog pritiska i antropometrijskih parametara

Električnim meračem pritiska (OMRON, HEM-907, Omron Healthcare) su mereni SBP i DBP, tri puta, sa 2 minuta pauze između svakog merenja. Telesna masa je merena korišćenjem vage (TANITA Health Equipment H.K. Ltd) sa tačnošću od 0,1 kg. Ispitanici su stajali na sredini vage,

bez cipela, imajući na sebi jedan sloj odeće. Za merenje visine je korišćen visinometar sa tačnošću od 0,5 cm. BMI je računat kao količnik telesne mase i kvadrata visine i izražen u kg/m². Obim struka je meren u nivou pupka neelastičnom trakom za merenje, postavljenom horizontalno u odnosu na pod.

3.3.4. Uzimanje uzoraka krvi i merenje biohemijskih parametara

Na početku i na kraju studije, krv je uzorkovana ujutru, pre doručka (nakon 8 – 12 časova bez uzimanja hrane), u epruvete bez antikoagulansa (za biohemijske analize) i u epruvete sa antikoagulansom etildiamintetrasirćetnom kiselinom (eng. *ethylenediaminetetraacetic acid*, EDTA) (za analize masnih kiselina fosfolipida i varijante gena *FADS2*).

Serum i plazma su izdvajani centrifugiranjem na 2500 rpm tokom 5 minuta. Merene su serumske koncentracije glukoze, ukupnog holesterola, LDL holesterola, HDL holesterola i triglicerida, korišćenjem standardnih spektrofotometrijskih kitova (Roche, Basel, Switzerland), prema uputstvu proizvođača, na analizatoru za kliničku biohemiju (Cobas c111, Roche, Basel, Switzerland).

Ostatak seruma, plazma i puna krv su čuvani na -80 °C za ostale analize (oxLDL-a, masnih kiselina i varijanti gena *FADS2*).

3.3.5. Određivanje vrednosti oxLDL-a

Vrednosti oxLDL-a u serumu su određivane ELISA testom (eng. *enzyme linked immunosorbent assay*), prema uputstvima proizvođača (Cell Biolabs Inc., San Diego, USA). Mikrotitar ploča je bila obložena anti-malonildialdehid antitelima za koja se vezivao oxLDL iz uzoraka. Potom se za njega vezivalo biotinizovano APO-B antitelo, za koje se vezivao streptavidin konjugovan sa enzimom, čiji substrat je imao apsorbancu na 450 nm, koja je merena korišćenjem ELISA čitača (Thermo Scientific Multiskan FC). Određene vrednosti oxLDL uzoraka su izražavane u ng/mL.

3.3.6. Određivanje masnokiselinskog profila fosfolipida plazme

Metode za analizu masnokiselinskog profila fosfolipida plazme ispitanika humane studije su bile iste kao u animalnoj studiji, opisane u odeljcima 3.2.3.1., 3.2.3.3., 3.2.3.4. i 3.2.3.5. Ukupni lipidi su izolovani smešom rastvarača hloroform:metanol (2:1, v/v) iz 500 µL plazme, potom je frakcija fosfolipida izolovana tankoslojnom hromatografijom, a metil-estri masnih kiselina su analizirani gasno-tečnom hromatografijom.

3.3.7. Genotipizacija varijanti gena *FADS2*

3.3.7.1. Izolacija DNK

Primenjivana je metoda po Kunkel-u i saradnicima (1977), koju karakteriše visok prinos i kvalitet izolovane DNK. U 3 – 5 mL pune krvi dodavano je 24 mL lizogenog rastvora (0,32 mol/L saharoze, 10 mmol/L Tris-hlorovodonične kiseline (pH 7,5), 5 mmol/L magnezijum-hlorida, 1% Triton X-100). Nakon toga je stavljano na led tokom 5 minuta, da bi došlo do degradacije ćelijskih membrana. Potom je dobijena smeša bila centrifugirana na 800 ref tokom 10 minuta, na temperaturi od +4 °C. Supernatant je pažljivo odlivan, a talog resuspendovan dodavanjem 125 µL rastvora (0,024 mmol/L EDTA, pH 8,0 i 0,075 mmol/L natrijum-hlorida), a nakon toga je dodavano 62,5 µL 10% natrijum dodecil sulfata (eng. *sodium dodecyl sulfate*, SDS), da bi membrane jedra bile razgrađene. Dodavano je i 50 µL proteinaze K (10 mg/mL), a potom je sledila inkubacija tokom 12 sati na +37 °C u vodenom kupatilu. Sutradan je u smešu dodavano 0,5 mL ekvilibrisanog fenola (pH 7,8) i izdvajana je gornja faza nakon centrifugiranja na 10800 rpm, tokom 19 minuta, na temperaturi od

+18 °C. U nju je dodavano po 0,5 mL smeše fenol:hloroform (1:1, v/v), pa je ponavljano centrifugiranje pod istim uslovima. Izdvojenoj gornjoj fazi je dodavano po 0,5 mL smeše hloroform:izoamilalkohol (24:1, v/v), a zatim je centrifugirana (10800 rpm, 19 minuta, +18 °C). DNK se uočavala u vidu končaste strukture nakon dodavanja ledenog 96% etanola i 3 M natrijum-acetata (pH 5,0) u izdvojenoj gornjoj fazi. Centrifugiranjem na 11900 rcf tokom 19 minuta na +4 °C, DNK se staložila na zidu mikroeprevete, isprana je u 70% etanola i rastvorena u 200 µL Tris-EDTA pufera (pH 8,0), pa čuvana na +4 °C.

3.3.7.2. Određivanje koncentracije i čistoće izolovane DNK

Koncentracija i čistoća izolovane DNK su procenjivane korišćenjem BioSpec-nano aparata (Shimadzu Biotech, Kyoto, Japan). Merenje koncentracije (ng/µL) je bilo neophodno da bi se napravila odgovarajuća razblaženja za efikasnu lančanu reakciju polimeraze u realnom vremenu (eng. *Real-Time Polymerase Chain Reaction*, RT-PCR). Odnosi apsorbanci uzoraka na 260 nm i 280 nm su bili u opsegu 1,8 – 2,0 čime je pokazana zadovoljavajuća čistoća.

3.3.7.3. Odabir varijanti gena *FADS2*

Varijante gena *FADS2* rs174576, rs174593 i rs174616 su odabrane pretragom literature, na osnovu pokazane povezanosti sa udelima pojedinačnih n-6 i/ili n-3 polinezasićenih masnih kiselina u fosfolipidima seruma i ukupnim lipidima plazme (Bokor i sar., 2010; Merino i sar., 2011; Roke i sar., 2013). One se nalaze u intronima (Tabela 3), a predstavljaju potencijalno funkcionalne varijante na osnovu rezultata *RegulomeDB* baze podataka (<http://www.regulomedb.org>) (Boyle i sar., 2012).

Tabela 3. Karakteristike odabranih varijanti gena *FADS2*.

Varijanta gena <i>FADS2</i>	Pozicija na hromozomu 11	Region gena	Češći/ređi alel
rs174576	61836038	Intron	C/A
rs174593	61851359	Intron	T/C
rs174616	61861650	Intron	G/A

Pozicije varijanti gena *FADS2* su preuzete iz baze podataka Nacionalnog Centra za Biotehnologiju (eng. *National Center for Biotechnology*, NCBI). Informacije o alelima su preuzete iz projekta 1000 genoma (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>).

3.3.7.4. Genotipizacija odabranih varijanti gena *FADS2* metodom lančane reakcije polimeraze u realnom vremenu

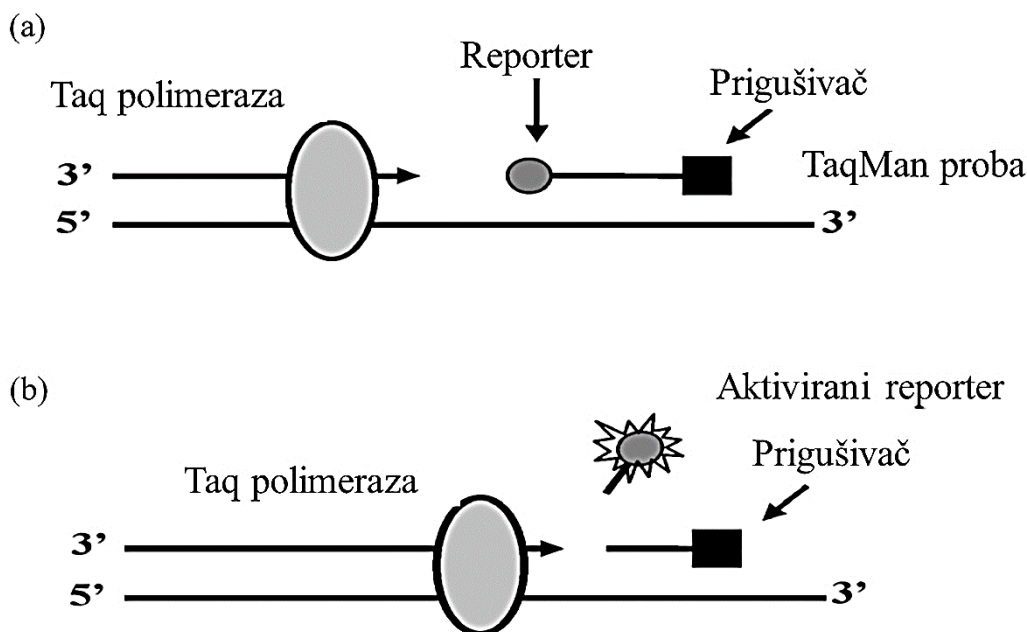
Varijante gena *FADS2* su genotipizirane korišćenjem Applied Biosystems 7500 Real-time PCR sistema, kvalitativnom detekcijom, na osnovu podataka prikupljenih na kraju PCR reakcije. Za detekciju svake od varijanti korišćeni su komercijalni esejji TaqMan, odnosno par amplimera komplementarnih krajevima sekvence koja se umnožava, i par TaqMan alel specifičnih proba. Sekvence proba su se međusobno razlikovale samo za jedan nukleotid, koji je kod jedne probe komplementaran ređem alelu, a kod druge probe češćem alelu. Probe su se razlikovale i po fluorescentnoj reporter boji kojom su obeležene na 5' kraju. Obe su na 3' kraju bile obeležene bojom prigušivačem (eng. *quencher*) koja sprečava emitovanje fluorescencije, što se naziva transfer fluorescentne rezonantne energije. To je omogućeno zahvaljujući blizini dva kraja (Didenko, 2001; Popa i sar., 2009). U fazi ekstenzije dolazilo je do presecanja probe 5' → 3' egzonomskom aktivnošću Taq polimeraze (Slika 11) (Popa i sar., 2009).

Hibridizacija probe sa odgovarajućom sekvencom omogućavala je detekciju signala na kraju reakcije. Homozigoti su se detektovali na osnovu intenziteta signala koji je poticao samo od jedne fluorescentne boje, a na osnovu konkretne boje su se razlikovali homozigoti za ređi i češći alel. Heterozigoti su se određivali na osnovu fluorescentnog signala koji je poticao od obe boje, podjednakog intenziteta.

Za varijantu rs174576 gena *FADS2* je ciljna sekvenca bila:

ACTCCCGAAAAACCTGGTATAACTT[A/C]TTTTTCCTTCAAGTGAGAGCCTGT

Proba specifična za ređi alel (nukleotid A) je bila obeležena bojom VIC, a proba specifična za češći alel (nukleotid C) je bila obeležena bojom FAM.



Slika 11. Princip TaqMan eseja. (a) TaqMan proba je intaktna i prigušivač sprečava emitovanje fluorescentnog signala reportera. (b) Taq polimeraza je preseklala TaqMan probu i reporter emituje fluorescentni signal. Slika je preuzeta i prilagođena iz Popa i saradnici (2009).

Za varijantu rs174593 gena *FADS2* je ciljna sekvenca bila:

GACATCTTCTCACCCCGACACTTC[C/T]GGAACGCTGGCTTTGGGGCAGGAGA

Proba specifična za ređi alel (nukleotid C) je bila obeležena bojom VIC, a ona za češći alel (nukleotid T) je bila obeležena bojom FAM.

Za varijantu rs174616 gena *FADS2* je ciljna sekvenca bila:

ACCTTGAAGGCCACCTTATTGGAAC[A/G]TGAGGTCCTGCCCTCGGCAATGTT

Proba specifična za ređi alel (nukleotid A) je bila obeležena bojom VIC, a ona za češći alel (nukleotid G) bojom FAM.

Svaka varijanta gena *FADS2* je analizirana posebno. U prvom ciklusu je RT-PCR zabeležio početnu fluorescenciju poreklom od komponenata reakcije pre amplifikacije, na temperaturi od +60 °C, tokom 1 minuta. Zatim je usledio ciklus inicijalne denaturacije na temperaturi od +95 °C tokom 10 minuta. U narednih 40 ciklusa je denaturacija trajala 0,25 minuta, na temperaturi od +95 °C. Potom je usledila hibridizacija prajmera i proba, i elongacija, na temperaturi od +60 °C, tokom jednog minuta. Na kraju je RT-PCR zabeležio fluorescencu nakon amplifikacije, oduzeo od nje početni nivo fluorescence, a rezultati su detektovani korišćenjem softverskog programa SDS Software v1.4.0.

3.3.8. Statistička analiza podataka humane studije

Podaci su analizirani korišćenjem statističkog programa SPSS verzija 22.0 (Čikago, Illinois). Normalna raspodela podataka svake grupe je testirana Shapiro-Wilk testom. Rezultati su izraženi kao medijana i interkvartilni raspon. Razlike između grupa su procenjene Kruskal-Wallis

testom sa Mann-Whitney U testom. Promene vrednosti nakon intervencije u odnosu na početak studije unutar svake grupe su analizirane Wilcoxon signed rank testom. Koeficijent varijabilnosti je bio izračunat kao količnik standardne devijacije i srednje vrednosti.

Učestalosti alela i genotipova su određene metodom prebrojavanja. Slaganje distribucije genotipova ispitanika sa očekivanim vrednostima po Hardy-Weinberg ravnoteži je ispitano primenom χ^2 testa. Za analizu interakcija genotipa i intervencije je primenjen generalni mešoviti model sa ponovljenim merenjima (eng. *general mixed model with repeated measures*). Rezultati su izraženi kao srednja vrednost \pm standardna greška srednje vrednosti.

Prag statističke značajnosti je bio postavljen na $p < 0,05$ u svim primenjenim analizama.

4. REZULTATI

4.1. Količina ukupnih polifenola i antocijana u soku od aronije

Placebo je bio bez polifenola, a sok od aronije je sadržao više ukupnih polifenola i antocijana nego razblaženi sok (Tabela 4).

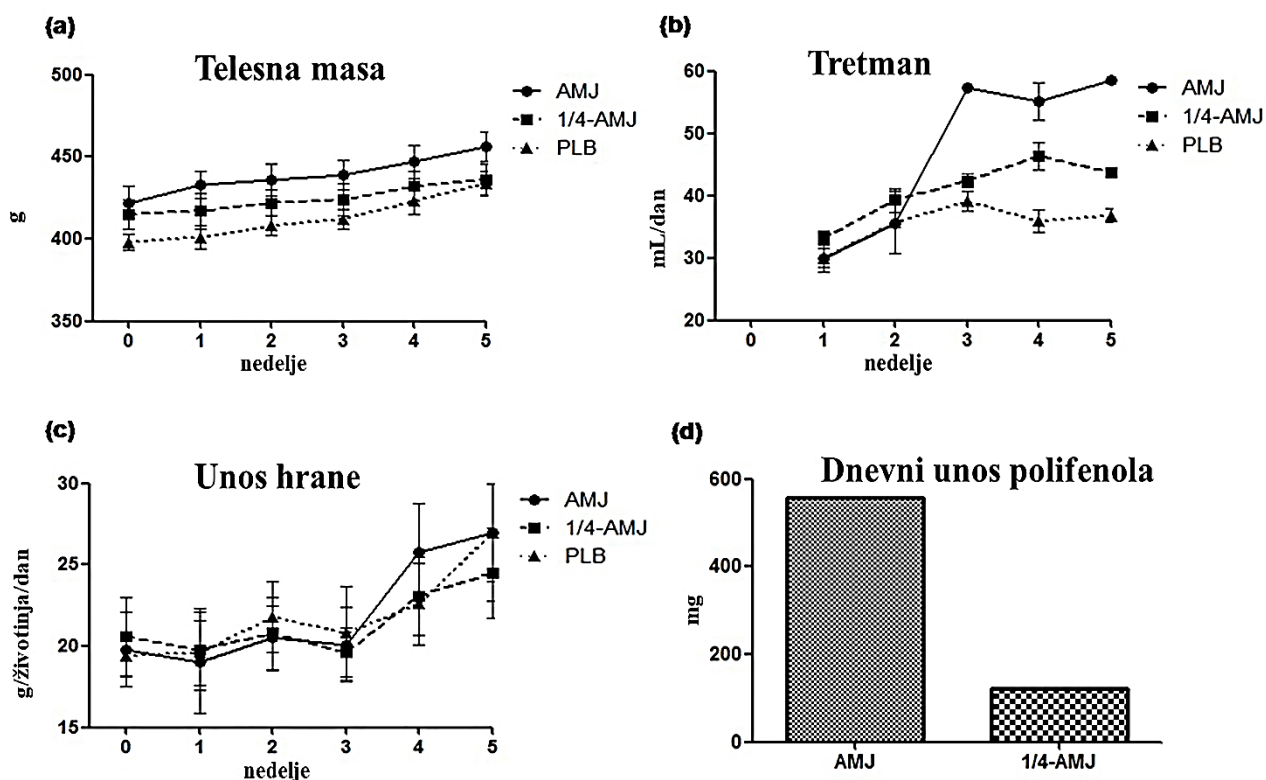
Tabela 4. Sadržaj polifenola i antocijana u sokovima korišćenim u animalnoj i humanoj studiji.

	Sok od aronije	Razblaženi sok od aronije	Placebo
Ukupni polifenoli (mg/100 mL GAE)*	1177,11	294,28	0
Ukupni antocijani (mg/100mL CGE)	113,3	28,3	0

4.2. Efekti polifenola soka od aronije na telesnu masu, biohemijske parametre i masnokiselinski profil u animalnoj studiji

4.2.1. Prosečan dnevni unos polifenola i hrane

Na slici 12b prikazan je prosečan dnevni unos tečnosti za sve tri ispitivane grupe. Prosečan dnevni unos polifenola je bio 557,22 mg u grupi koja je pila sok od aronije, odnosno 120,64 mg u onoj koja je unosila sok od aronije razblažen placebo (Slika 12d). Nije bilo statistički značajnih razlika prosečnog unosa hrane između tri grupe pacova (Slika 12c).



Slika 12. (a) telesna masa; (b) tretman; (c) unos hrane; (d) dnevni unos polifenola. Vrednosti su predstavljene kao srednja vrednost ± standardna greška srednje vrednosti. AMJ: sok od aronije (lat. *Aronia melanocarpa*, eng. juice); 1/4-AMJ: sok od aronije razblažen placebo; PLB: placebo.

4.2.2. Efekti polifenola soka od aronije na telesnu masu i biohemijske parametre pacova

Telesna masa pacova nije se statistički značajno razlikovala između pacova tri grupe, ni na početku, ni tokom studije. Telesne mase su merene svakih sedam dana studije (Slika 12a).

Koncentracije lipida i glukoze u plazmi na kraju studije su prikazane u Tabeli 5. Vrednosti LDL holesterola su bile manje u grupi pacova koji su pili sok od aronije u odnosu na one koji su unosili placebo ($p < 0,05$) i sok od aronije razblažen placebo (p < 0,05).

Tabela 5. Vrednosti glukoze, holesterola i triglicerida pacova tri grupe na kraju studije.

	Placebo (n = 8)	Razblaženi sok od aronije (n = 8)	Sok od aronije (n = 8)
Ukupni holesterol (mmol/L)	0,91 ± 0,09	1,05 ± 0,10	0,96 ± 0,17
Glukoza (mmol/L)	8,94 ± 1,35	9,61 ± 3,62	7,31 ± 1,27
HDL holesterol (mmol/L)	0,78 ± 0,08	0,72 ± 0,09	0,70 ± 0,10
LDL holesterol (mmol/L)	0,12 ± 0,03	0,14 ± 0,04	0,09 ± 0,03 ^{1,2}
Trigliceridi (mmol/L)	0,72 ± 0,14	0,96 ± 0,16	0,99 ± 0,44

Vrednosti su prikazane kao srednja vrednost ± standardna devijacija. Razlike između grupa su procenjene jednosmernom analizom varijanse : ¹ $p < 0,05$ poređenjem sa placebo grupom; ² $p < 0,05$ poređenjem sa grupom koja je pila sok od aronije razblažen placebo.

4.2.3. Efekti polifenola soka od aronije na masnokiselinski profil fosfolipida plazme i jetre pacova

Poređenjem sa grupom koja je pila placebo, udeli vakcenske kiseline i ukupnih mononezasićenih masnih kiselina plazme su bili veći u grupi koja je unosila sok od aronije ($p = 0,003$, $p = 0,017$, redom) i u grupi koja je pila sok od aronije razblažen placebo ($p = 0,039$, $p = 0,042$, redom) (Tabela 6). Nije bilo razlike između grupa u procenjenim aktivnostima desaturaza.

Tabela 6. Masnokiselinski profil fosfolipida plazme pacova tri grupe na kraju studije.

	Placebo (n = 8)	Sok od aronije (n = 8)	Razblaženi sok od aronije (n = 8)
Palmitinska kiselina, 16:0	24,57 ± 0,76	24,25 ± 1,45	23,38 ± 1,49
Stearinska kiselina, 18:0	22,06 ± 0,82	21,56 ± 1,48	21,79 ± 1,20
Ukupne zasićene masne kiseline	46,63 ± 0,83	45,80 ± 2,66	45,17 ± 2,18
Palmitoleinska kiselina, 16:1n-7	0,43 ± 0,06	0,46 ± 0,12	0,41 ± 0,15
Oleinska kiselina, 18:1n-9	3,95 ± 0,63	4,47 ± 0,46	4,55 ± 0,42
Vakcenska kiselina, 18:1n-7	2,66 ± 0,22	3,34 ± 0,48 ¹	3,14 ± 0,33 ¹
Ukupne mononezasićene masne kiseline	7,04 ± 0,74	8,28 ± 0,93 ¹	8,10 ± 0,76 ¹
Linolna kiselina, 18:2n-6	21,75 ± 1,38	22,38 ± 1,65	21,05 ± 1,76
Dihomo- γ -linolenska kiselina, 20:3n-6	1,12 ± 0,24	1,22 ± 0,25	1,22 ± 0,28
Arahidonska kiselina, 20:4n-6	16,89 ± 1,60	15,48 ± 0,98	17,14 ± 1,52
Eikozapentaenska kiselina, 20:5n-3	0,50 ± 0,08	0,59 ± 0,11	0,58 ± 0,16
Adrenska kiselina, 22:4n-6	0,41 ± 0,06	0,41 ± 0,17	0,50 ± 0,11
Dokozapentaenska kiselina, 22:5n-3	0,94 ± 0,25	0,97 ± 0,22	0,95 ± 0,27
Dokozaheksaenska kiselina, 22:6n-3	4,71 ± 0,72	4,80 ± 0,93	5,29 ± 0,36
Ukupne polinezasićene masne kiseline	46,33 ± 1,39	45,84 ± 1,94	46,73 ± 2,47
n-6 polinezasićene masne kiseline	40,18 ± 1,19	39,49 ± 1,50	39,90 ± 2,53
n-3 polinezasićene masne kiseline	6,15 ± 0,83	6,36 ± 1,14	6,83 ± 0,47
Odnos n-6/n-3 polinezasićene masne kiseline	6,63 ± 0,88	6,37 ± 1,08	5,88 ± 0,64
Omega-3-Index	5,21 ± 0,75	5,39 ± 1,03	5,88 ± 0,40
Odnos arahidonska/eikozapentaenska kiselina	34,89 ± 6,96	27,02 ± 4,25	31,46 ± 0,45

Vrednosti su prikazane kao srednja vrednost ± standardna devijacija. Razlike između grupa su procenjene jednosmernom analizom varijanse i Tukey *post-hoc* testom: ¹ $p < 0,05$ poređenjem sa placebo grupom. Omega-3-index: eikozapentaenska + dokozaheksaenska kiselina.

Masnokiselinski profil fosfolipida jetre na kraju studije je prikazan u Tabeli 7. Vakcenska kiselina ($p = 0,001$) i ukupne mononezasićene masne kiseline ($p = 0,023$) su bile zastupljenije u fosfolipidima jetre pacova koji su pili sok od aronije, u poređenju sa onima koji su unosili placebo. Udeo stearinske kiseline je bio manji kod pacova koji su unosili sok od aronije ($p = 0,005$) i razblaženi sok od aronije ($p = 0,01$) u poređenju sa onima koji su pili placebo. Udeo dihomo- γ -linolenske kiseline je bio veći ($p = 0,05$), a arahidonske kiseline manji ($p = 0,05$), u grupi koja je pila sok od aronije u poređenju sa onom koja je unosila placebo. Dokozaentaenska kiselina je bila manje zastupljena kod pacova placebo grupe u poređenju sa onima koje su pile sok od aronije ($p = 0,076$) i sok od aronije razblažen placebo ($p = 0,049$). Ukupne n-3 polinezasićene masne kiseline su bile zastupljenije kod pacova koji su unosili sok od aronije ($p = 0,053$) u odnosu na one placebo grupe (Tabela 7). Procenjena aktivnost delta-5 desaturaze je bila niža u grupi koja je pila sok od aronije u odnosu na onu koja je unosila placebo ($p = 0,015$).

Tabela 7. Masnokiselinski profil fosfolipida jetre pacova tri grupe na kraju studije.

	Placebo (n = 8)	Sok od aronije (n = 8)	Razblaženi sok od aronije (n = 8)
Palmitinska kiselina, 16:0	19,91 ± 0,57	20,52 ± 0,91	21,01 ± 1,21
Stearinska kiselina, 18:0	22,24 ± 0,93	20,70 ± 0,51 ¹	20,78 ± 0,88 ¹
Ukupne zasićene masne kiseline	42,15 ± 0,83	41,22 ± 0,98	41,79 ± 1,07
Palmitoleinska kiselina, 16:1n-7	0,57 ± 0,12	0,59 ± 0,15	0,55 ± 0,11
Oleinska kiselina, 18:1n-9	3,10 ± 0,50	3,19 ± 0,29	3,19 ± 0,34
Vakcenska kiselina, 18:1n-7	2,68 ± 0,25	3,50 ± 0,48 ¹	3,13 ± 0,31
Ukupne mononezasićene masne kiseline	6,35 ± 0,57	7,29 ± 0,72 ¹	6,87 ± 0,44
Linolna kiselina, 18:2n-6	15,99 ± 1,85	16,33 ± 0,96	16,59 ± 1,09
Dihomo- γ -linolenska kiselina, 20:3n-6	0,90 ± 0,15	1,08 ± 0,10	1,01 ± 0,14
Arahidonska kiselina, 20:4n-6	25,65 ± 1,23	24,08 ± 1,26	24,06 ± 1,02
Eikozapentaenska kiselina, 20:5n-3	0,69 ± 0,18	0,79 ± 0,14	0,80 ± 0,15
Adrenska kiselina, 22:4n-6	0,27 ± 0,02	0,30 ± 0,03	0,26 ± 0,03
Dokozaentaenska kiselina, 22:5n-3	1,09 ± 0,14	1,26 ± 0,14	1,28 ± 0,12 ¹
Dokozaheksaenska kiselina, 22:6n-3	7,26 ± 0,63	7,64 ± 0,54	7,34 ± 0,39
Ukupne polinezasićene masne kiseline	51,84 ± 0,93	51,48 ± 1,28	51,35 ± 0,75
n-6 polinezasićene masne kiseline	42,81 ± 1,33	41,79 ± 1,54	41,92 ± 1,08
n-3 polinezasićene masne kiseline	9,03 ± 0,68	9,69 ± 0,45	9,43 ± 0,43
Odnos n-6/n-3 polinezasićene masne kiseline	4,77 ± 0,47	4,32 ± 0,33	4,46 ± 0,30
Omega-3-Index	7,94 ± 0,65	8,43 ± 0,44	8,15 ± 0,36
Odnos arahidonska/eikozapentaenska kiselina	40,15 ± 12,68	31,42 ± 6,93	31,08 ± 7,60

Vrednosti su prikazane kao srednja vrednost ± standardna devijacija. Razlike između grupa su procenjene jednosmernom analizom varijanse i Tukey *post-hoc* testom: ¹ $p < 0,05$ poređenjem sa placebo grupom.

4.3. Efekti polifenola soka od aronije na faktore rizika za kardiovaskularne bolesti i masnokiselinski profil u humanoj studiji

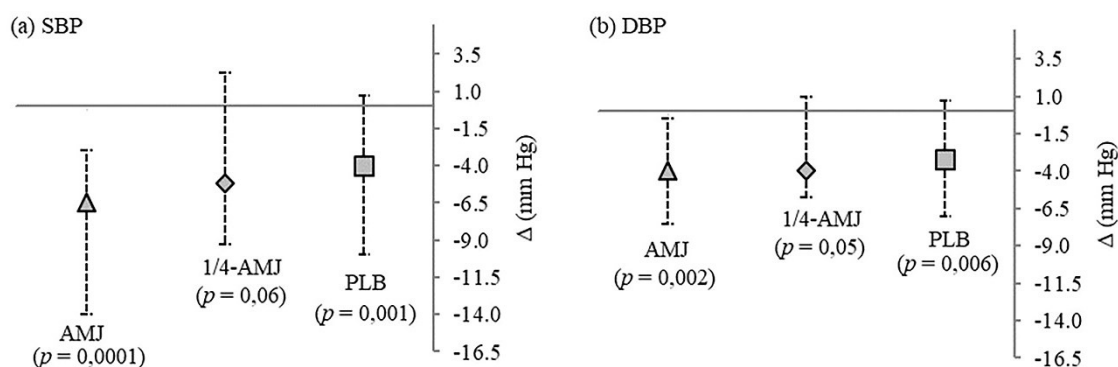
4.3.1. Karakteristike ispitanika na početku studije

U studiju je bilo uključeno 84 ispitanika (52 žene i 32 muškarca), a njihova prosečna starost je bila $40,6 \pm 7,1$ godina. Većina je imala povišene vrednosti: koncentracije LDL holesterola u serumu (89%), i/ili BMI-a i/ ili obima struka (74%), ukupnog holesterola i/ili SBP (58%). Na početku studije su ispitanici bili podeljeni u tri grupe i u svakoj od njih je većina imala tri ili više faktora rizika za nastanak KVB - u grupi koja je pila placebo 79% ispitanika, u grupi koja je unosila sok od aronije njih 81%, a u grupi koja je pila razblaženi sok od aronije 86% ispitanika. Njihove karakteristike po grupama na početku studije su prikazane u Tabelama 8 – 14.

Za analizu efekata polifenola soka aronije na vrednosti oxLDL-a u serumu određena je podgrupa ispitanika ($n = 34$), koja je, kao i cela grupa, bila sačinjena od ljudi sa povišenim vrednostima: LDL holesterola (94%), BMI-a (73%), obima struka (76%) i SBP-a (64%).

4.3.2. Efekti polifenola soka od aronije na krvni pritisak i biohemijske parametre

Na početku studije nije bilo razlike između grupa za vrednosti krvnog pritiska (Tabela 8). Nakon intervencije je došlo do smanjenja SBP i DBP ($\sim 4 - 5$ mm Hg) u sve tri grupe u odnosu na početak studije, bez statistički značajnih razlika među grupama (Slika 13) (Tabela 8).



Slika 13. Promene sistolnog (a) i dijastolnog (b) krvnog pritiska ispitanika koji su pili sok od aronije, razblaženi sok od aronije ili placebo tokom četiri nedelje. Vrednosti su predstavljene kao medijana i interkvartilni raspon promena unutar svake grupe. Promene vrednosti nakon intervencije u odnosu na početak studije unutar svake grupe su procenjene Wilcoxon signed rank testom i p vrednost je naznačena.

Na početku studije nije bilo statistički značajnih razlika između tri grupe za vrednosti BMI, ukupnog i LDL holesterola, kao ni glukoze u serumu. Koncentracija triglicerida je bila veća u placebo grupi nego kod ispitanika određenih za unos razblaženog soka od aronije (Tabela 8). Na kraju studije nije bilo statistički značajnih razlika između grupa za ove parametre (Tabela 8).

Tabela 8. Vrednosti krvnog pritiska, antropometrijskih i biohemijskih parametara ispitanika pre i nakon intervencije.

	Placebo (n = 29)	Razblaženi sok od aronije (n = 28)	Sok od aronije (n = 27)	p (između grupa)
Sistolni krvni pritisak (mm Hg)				
Početak studije	120,00 (23,25)	121,00 (14,50)	124,50 (16,00)	0,26
Kraj studije	113,75 (24,63)	118,75 (16,00)	115,00 (13,00)	0,96
Δ (Δ%)	-4,00 (-3,31%)	-5,25 (-4,58%)	-6,50 (-5,42%)	0,33
p (unutar grupe)	0,001	0,06	0,0001	
Dijastolni krvni pritisak (mm Hg)				
Početak studije	75,00 (19,38)	75,50 (13,00)	77,00 (17,00)	0,36
Kraj studije	73,00 (23,38)	70,50 (14,50)	72,00 (14,00)	0,89
Δ (Δ%)	-3,25 (-4,57%)	-4,00 (-5,20%)	-4,00 (-4,83%)	0,69
p (unutar grupe)	0,006	0,05	0,002	
Indeks telesne mase (kg/m²)				
Početak studije	27,29 (5,64)	26,59 (7,13)	27,38 (5,73)	0,82
Kraj studije	27,33 (5,46)	26,75 (6,67)	27,00 (5,64)	0,86
Δ (Δ%)	-0,03 (-0,09%)	0,02 (0,26%)	-0,11 (-0,52%)	0,38
p (unutar grupe)	0,40	0,58	0,06	
Ukupni kolesterol (mmol/L)				
Početak studije	5,37 (1,35)	4,98 (0,95)	5,18 (1,77)	0,44
Kraj studije	5,38 (1,27)	5,02 (1,36)	5,26 (1,98)	0,46
Δ (Δ%)	-0,04 (-1,52%)	-0,07 (-1,20%)	-0,06 (-1,16%)	0,96
p (unutar grupe)	0,39	0,35	0,74	
LDL kolesterol (mmol/L)				
Početak studije	3,79 (1,09)	3,29 (1,00)	3,43 (1,72)	0,26
Kraj studije	3,81 (1,02)	3,27 (1,15)	3,56 (1,59)	0,32
Δ (Δ%)	-0,02 (-1,75%)	0,01 (0,42%)	-0,01 (-0,22%)	0,78
p (unutar grupe)	0,49	0,93	0,86	
Trigliceridi (mmol/L)				
Početak studije	1,35 (0,62)	0,95 (0,54) ¹	1,10 (1,10)	0,05
Kraj studije	1,28 (1,17)	1,13 (0,61)	1,00 (0,75)	0,10
Δ (Δ%)	0,02 (-4,47%)	-0,01 (0,78%)	0,03 (3,33%)	0,97
p (unutar grupe)	0,20	0,88	0,78	
Glukoza (mmol/L)				
Početak studije	5,06 (0,57)	4,75 (0,69)	4,86 (0,67)	0,08
Kraj studije	5,04 (0,84)	4,77 (0,67)	5,10 (0,73)	0,11
Δ (Δ%)	-0,09 (-1,72%)	0,04 (1,09%)	0,18 (3,93%)	0,25
p (unutar grupe)	0,37	0,45	0,08	

Vrednosti su predstavljene kao medijana i interkvartilni raspon. Δ: medijana od razlike vrednosti (kraj-početak studije); Δ%: medijana od vrednosti ((kraj-početak studije)/početak studije) × 100. Razlike između grupa su procenjene Kruskal-Wallis testom, a razlike unutar svake grupe su procenjene Wilcoxon signed rank testom. Mann-Whitney test je primenjen kada je bilo razlika između grupa: ¹p < 0,05 poređenjem sa placebo grupom.

Vrednosti oxLDL-a, kao i odnosi oksidacije holesterola (oxLDL/LDL holesterol i oxLDL/ukupni holesterol) su prikazane u Tabeli 9. Nije bilo statistički značajnih razlika u navedenim parametrima između odabranih ispitanika tri grupe na početku intervencije.

Nakon četiri nedelje intervencije pokazano je statistički značajno smanjenje oxLDL-a, kao i odnosa oxLDL/ukupni holesterol i oxLDL/LDL holesterol u odnosu na početne vrednosti ispitanika koji su pili sok od aronije, ali ove promene nisu bile različite od onih zabeleženih kod ispitanika koji su unosili placebo (p > 0,05) (Tabela 9).

Tabela 9. Vrednosti oxLDL-a ispitanika pre i nakon intervencije.

	Placebo (<i>n</i> = 12)	Razblaženi sok od aronije (<i>n</i> = 10)	Sok od aronije (<i>n</i> = 12)	<i>p</i> (između grupa)
oxLDL (ng/mL)				
Početak studije	117,00 (46,50)	133,00 (43,75)	129,00 (36,50)	0,46
Kraj studije	115,00 (50,50)	121,50 (46,00)	110,50 (28,00)	0,58
Δ (Δ%)	-8,00 (-6,85%)	-21,50 (-15,72%)	-21,50 (-16,81%)	0,73
<i>p</i> (unutar grupe)	0,53	0,65	0,02	
oxLDL/ukupni holesterol (ng/mg)				
Početak studije	53,16 (21,05)	65,84 (21,13)	65,70 (24,42)	0,22
Kraj studije	53,62 (20,95)	58,42 (56,73)	45,79 (21,58)	0,52
Δ (Δ%)	-3,44 (-5,59%)	-10,11 (-13,78%)	-9,49 (-18,95%)	0,53
<i>p</i> (unutar grupe)	0,58	0,96	0,02	
oxLDL/LDL holesterol (ng/mg)				
Početak studije	76,84 (37,98)	93,94 (45,28)	93,09 (41,28)	0,23
Kraj studije	74,56 (34,50)	86,73 (109,43)	62,71 (36,46)	0,48
Δ (Δ%)	-3,64 (-4,00%)	-13,66 (-11,45%)	-15,55 (-19,02%)	0,31
<i>p</i> (unutar grupe)	0,69	0,80	0,01	

Vrednosti su predstavljene kao medijana i interkvartilni raspon. Δ: medijana od razlike vrednosti (kraj-početak studije); Δ%: medijana od vrednosti ((kraj-početak studije)/početak studije) × 100. Razlike između grupa su procenjene Kruskal-Wallis testom, a razlike unutar svake grupe su procenjene Wilcoxon signed rank testom.

Vrednosti obima struka i HDL holesterola su predstavljene odvojeno za ispitanike i ispitanice (Tabela 10) zbog toga što za ove biomarkere postoje različite granične vrednosti za muškarce i žene (Catapano i sar., 2016; Alberti i sar., 2006; Yumuk i sar., 2015). Osim toga, Kruskal-Wallis testom je pokazano da su na početku studije ispitanici imali statistički značajno veći obim struka ($p = 0,00001$), a manju koncentraciju HDL-a ($p = 0,00003$) nego ispitanice. Zbog toga su posebno predstavljene i vrednosti odnosa LDL/HDL holesterol i ukupni/HDL holesterol. Nije bilo statistički značajnih razlika između poređenih muškaraca tri grupe, kao ni žena između grupa, ni pre intervencije, niti nakon (Tabela 10).

Tabela 10. Vrednosti obima struka i HDL holesterola kod žena i muškaraca pre i nakon nakon intervencije.

	Placebo (n = 14)	Razblaženi sok od aronije (n = 21)	Sok od aronije (n = 17)	p (između grupa)
Žene				
Obim struka (cm)				
Početak studije	87,00 (19,00)	83,00 (15,50)	85,00 (27,50)	0,86
Kraj studije	86,00 (24,25)	83,00 (15,50)	88,00 (24,00)	0,72
Δ (Δ%)	-1,50 (-1,75%)	-1,00 (-1,25%)	-1,00 (-1,10%)	0,78
p (unutar grupe)	0,09	0,07	0,28	
HDL holesterol (mmol/L)				
Početak studije	1,87 (0,52)	1,74 (0,64)	1,79 (0,63)	0,52
Kraj studije	1,72 (0,52)	1,63 (0,61)	1,66 (0,67)	0,57
Δ (Δ%)	-0,09 (-4,48%)	-0,16 (-8,74%)	-0,03 (-1,41%)	0,18
p (unutar grupe)	0,21	0,02	0,42	
Ukupni holesterol/HDL holesterol				
Početak studije	3,13 (1,35)	2,96 (0,78)	3,02 (1,70)	0,77
Kraj studije	3,21 (1,03)	3,21 (1,51)	3,12 (1,55)	0,86
Δ (Δ%)	0,08 (2,74%)	0,14 (7,10%)	-0,03 (-1,53%)	0,26
p (unutar grupe)	0,64	0,11	0,59	
LDL holesterol/HDL holesterol				
Početak studije	2,19 (1,02)	1,94 (0,83)	1,85 (1,48)	0,83
Kraj studije	2,17 (0,96)	1,90 (1,13)	2,03 (1,14)	0,79
Δ (Δ%)	0,13 (6,39%)	0,11 (6,50%)	-0,03 (-1,25%)	0,48
p(unutar grupe)	0,55	0,16	0,87	
	Placebo (n = 15)	Razblaženi sok od aronije (n = 7)	Sok od aronije (n = 10)	p (između grupa)
Muškarci				
Obim struka (cm)				
Početak studije	101,00 (11,00)	109,00 (9,00)	100,00 (16,00)	0,36
Kraj studije	100,50 (15,71)	105,00 (18,00)	99,00 (15,25)	0,45
Δ (Δ%)	-1,00 (-0,99%)	-1,00 (-0,98%)	-2,00 (-1,91%)	0,88
p (unutar grupe)	0,04	0,38	0,08	
HDL holesterol (mmol/L)				
Početak studije	1,25 (0,27)	1,60 (0,71)	1,47 (0,46)	0,21
Kraj studije	1,18 (0,30)	1,45 (0,46)	1,47 (0,70)	0,31
Δ (Δ%)	-0,07 (-4,82%)	-0,10 (-6,25%)	-0,04 (-2,45%)	0,68
p (unutar grupe)	0,03	0,11	0,44	
Ukupni holesterol/HDL holesterol				
Početak studije	4,01 (2,21)	3,26 (0,99)	4,04 (1,95)	0,40
Kraj studije	4,40 (1,79)	3,89 (1,02)	4,24 (2,36)	0,31
Δ (Δ%)	0,43 (9,69%)	0,33 (9,40%)	-0,04 (-1,76%)	0,80
p (unutar grupe)	0,06	0,31	0,72	
LDL holesterol/HDL holesterol				
Početak studije	2,84 (1,74)	2,34 (0,52)	2,86 (1,36)	0,31
Kraj studije	3,11 (1,35)	2,54 (1,01)	3,10 (2,12)	0,38
Δ (Δ%)	0,25 (8,77%)	0,27 (13,19%)	0,23 (8,90%)	0,96
p (unutar grupe)	0,27	0,31	0,33	

Vrednosti su predstavljene kao medijana i interkvartilni raspon. Δ: medijana od razlike vrednosti (kraj-početak studije); Δ%: medijana od vrednosti ((kraj-početak studije)/početak studije) × 100. Razlike između grupa su procenjene Kruskal-Wallis testom, a razlike unutar svake grupe su procenjene Wilcoxon signed rank testom.

4.3.3. Efekti polifenola soka od aronije na masnokiselinski profil fosfolipida plazme

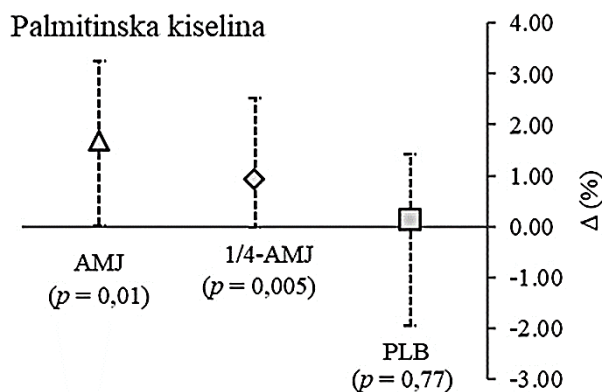
Na početku studije nije bilo razlika između grupa za zasićene i mononezasićene masne kiseline (Tabela 11). Statistički značajno je povećana procentualna zastupljenost ukupnih zasićenih masnih kiselina (~ 7% u odnosu na početne vrednosti) u grupama koje su pile sok od aronije i sok od aronije razblažen placebo, ali to nije bilo statistički značajno u poređenju sa promenom u placebo grupi (Tabela 11).

Tabela 11. Udeo zasićenih i mononezasićenih masnih kiselina fosfolipida plazme ispitanika pre i nakon nakon intervencije.

	Placebo (n = 26)	Razblaženi sok od aronije (n = 27)	Sok od aronije (n = 27)	p (između grupa)
Ukupne zasićene masne kiseline (%)				
Početak studije	47,86 (2,84)	45,93 (3,90)	46,25 (3,41)	0,17
Kraj studije	48,72 (3,79)	49,36 (3,07)	49,28 (1,27)	0,65
Δ (Δ%)	0,85 (1,75%)	3,18 (6,86%)	3,35 (7,21%)	0,13
p (unutar grupe)	0,32	0,002	0,005	
Palmitinska kiselina, 16:0 (%)				
Početak studije	30,89 (2,19)	30,06 (2,99)	29,21 (4,21)	0,20
Kraj studije	30,51 (1,33)	31,67 (1,81)	31,73 (1,87)	0,10
Δ (Δ%)	0,13 (0,44%)	0,93 (3,30%) ¹	1,69 (5,58%) ¹	0,05
p (unutar grupe)	0,77	0,005	0,01	
Stearinska kiselina, 18:0 (%)				
Početak studije	16,92 (1,96)	16,24 (1,76)	16,93 (1,77)	0,12
Kraj studije	17,68 (2,53)	17,86 (1,63)	17,60 (1,55)	0,91
Δ (Δ%)	1,03 (6,27%)	1,72 (10,76%)	0,97 (5,78%)	0,07
p (unutar grupe)	0,05	0,005	0,002	
Ukupne mononezasićene masne kiseline (%)				
Početak studije	10,83 (1,56)	10,95 (2,32)	10,86 (1,21)	0,98
Kraj studije	10,74 (1,75)	10,65 (2,33)	10,65 (2,04)	0,69
Δ (Δ%)	-0,58 (-5,37%)	-0,13 (-1,43%)	-0,05 (-0,56%)	0,71
p (unutar grupe)	0,29	0,85	0,96	
Palmitoleinska kiselina, 16:1n-7 (%)				
Početak studije	0,62 (0,33)	0,49 (0,27)	0,53 (0,33)	0,39
Kraj studije	0,56 (0,27)	0,44 (0,35)	0,49 (0,31)	0,74
Δ (Δ%)	-0,02 (-3,47%)	-0,09 (-18,02%)	0,04 (6,92%)	0,70
p (unutar grupe)	0,14	0,12	0,56	
Oleinska kiselina, 18:1n-9 (%)				
Početak studije	7,71 (1,39)	8,13 (2,02)	7,76 (1,00)	0,96
Kraj studije	6,95 (1,58)	7,46 (1,61)	7,60 (1,57)	0,25
Δ (Δ%)	-0,60 (-7,81%)	-0,46 (-6,07%)	0,16 (2,03%)	0,25
p (unutar grupe)	0,02	0,08	0,65	
Vakcenska kiselina, 18:1n-7 (%)				
Početak studije	2,44 (0,62)	2,23 (0,89)	2,63 (0,63)	0,47
Kraj studije	2,84 (0,86)	2,59 (0,89)	2,67 (0,80)	0,45
Δ (Δ%)	0,54 (19,80%)	0,26 (11,18%)	0,04 (1,49%)	0,29
p (unutar grupe)	0,002	0,06	0,18	

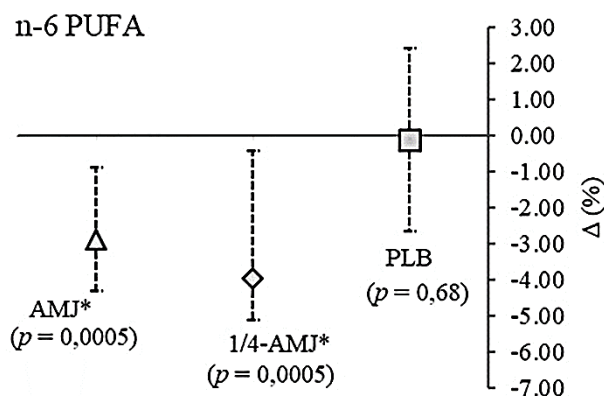
Vrednosti su predstavljene kao medijana i interkvartilni raspon. Δ: medijana od razlike vrednosti (kraj-početak studije); Δ%: medijana od vrednosti ((kraj-početak studije)/početak studije) × 100. Razlike između grupa su procenjene Kruskal-Wallis testom, a razlike unutar svake grupe su procenjene Wilcoxon signed rank testom. Mann-Whitney test je primenjen kada je bilo razlika između grupa: ¹p < 0,05 poređenjem sa placebo grupom.

Na kraju studije je udeo palmitinske kiseline bio statistički značajno povećan u odnosu na početne vrednosti, u grupama koje su pile sok od aronije (5,58%) i razblaženi sok od aronije (3,30%) (Slika 14). Ove promene su bile različite ($p = 0,05$) od povećanja u placebo grupi (0,44%), a nije bilo razlika između grupe koja je pila sok od aronije u poređenju sa onom koja je pila razblaženi sok (Tabela 11). Povećanje udela stearinske kiseline se nije statistički značajno razlikovalo između tri grupe. Nije bilo promena procentualne zastupljenosti mononezasićenih masnih kiselina nakon intervencije sokovima sa polifenolima u odnosu na placebo (Tabela 11).



Slika 14. Promene procentualne zastupljenosti palmitinske kiseline u fosfolipidima plazme ispitanika koji su pili sok od aronije, razblaženi sok od aronije ili placebo tokom četiri nedelje. Vrednosti su predstavljene kao medijana i interkvartilni raspon promena unutar svake grupe. Promene vrednosti nakon intervencije u odnosu na početak studije unutar svake grupe su procenjene Wilcoxon signed rank testom i p vrednost je naznačena.

Na početku je udeo ukupnih n-6 masnih kiselina bio statistički značajno veći u grupama koje su određene da piju sok od aronije i razblaženi sok, u poređenju sa onom koja je određena da unosi placebo (Tabela 12). Na kraju studije je došlo do smanjenja udela ovih kiselina kod ispitanika obe grupe koji su unosili sokove sa polifenolima, što je bilo statistički značajno i u poređenju sa promenama kod onih koji su pili placebo (Slika 15) (Tabela 12).



Slika 15. Promene procentualne zastupljenosti ukupnih n-6 polinezasićenih masnih kiselina u fosfolipidima plazme ispitanika koji su pili sok od aronije, razblaženi sok od aronije ili placebo tokom četiri nedelje. Vrednosti su predstavljene kao medijana i interkvartilni raspon promena unutar svake grupe. Promene vrednosti nakon intervencije u odnosu na početak studije unutar svake grupe su procenjene Wilcoxon signed rank testom i p vrednost je naznačena.

Tabela 12. Udeo ukupnih polinezasićenih masnih kiselina fosfolipida plazme i odnosi n-6 prema n-3 ispitanika pre i nakon nakon intervencije.

	Placebo (n = 26)	Razblaženi sok od aronije (n = 27)	Sok od aronije (n = 27)	p (između grupa)
Ukupne polinezasićene masne kiseline (%)				
Početak studije	41,15 (3,23)	43,46 (2,99)	42,63 (3,35)	0,14
Kraj studije	40,51 (3,63)	40,14 (2,53)	40,19 (1,81)	0,36
Δ (Δ%)	-0,46 (-1,14%)	-3,15 (-7,44%) ¹	-2,63 (-6,00%) ¹	0,01
p (unutar grupe)	0,57	0,001	0,001	
Ukupne n-6 polinezasićene masne kiseline (%)				
Početak studije	37,80 (4,53)	39,55 (3,14) ¹	38,92 (2,94) ¹	0,02
Kraj studije	36,39 (2,82)	35,97 (3,04)	35,91 (1,79)	0,62
Δ (Δ%)	-0,13 (-0,33%)	-3,97 (-9,10%) ¹	-2,89 (-7,44%) ¹	0,004
p (unutar grupe)	0,68	0,0005	0,0005	
Ukupne n-3 polinezasićene masne kiseline (%)				
Početak studije	4,03 (1,54)	3,58 (1,66)	3,36 (1,52)	0,08
Kraj studije	3,96 (1,77)	3,47 (1,84)	3,46 (1,45)	0,29
Δ (Δ%)	-0,16 (-4,19%)	0,46 (16,58%)	-0,18 (-5,44%)	0,38
p (unutar grupe)	0,87	0,25	0,94	
Odnos n-6/n-3				
Početak studije	9,21 (3,39)	11,24 (5,01) ¹	11,67 (4,31) ¹	0,04
Kraj studije	8,96 (4,57)	10,29 (5,43)	10,58 (3,92)	0,46
Δ (Δ%)	0,48 (5,37%)	-1,47 (-17,58%)	-0,32 (-2,66%)	0,15
p (unutar grupe)	0,60	0,06	0,40	
Odnos arahidonska/eikozapentaenska kiselina				
Početak studije	26,97 (16,39)	35,09 (37,20)	36,68 (23,99) ¹	0,04
Kraj studije	23,45 (18,01)	24,05 (21,19)	26,44 (20,99)	0,51
Δ (Δ%)	-3,19 (-13,30%)	-14,97 (-40,15%)	-10,44 (-24,27%)	0,47
p (unutar grupe)	0,16	0,008	0,03	
Odnos arahidonska /dokozaheksaenska kiselina				
Početak studije	3,54 (1,08)	4,37 (1,81)	4,16 (1,62)	0,08
Kraj studije	3,16 (1,19)	3,73 (1,65)	3,98 (2,28)	0,77
Δ (Δ%)	-0,03 (-0,97%)	-0,63 (-12,82%)	-0,23 (-7,94%)	0,32
p (unutar grupe)	0,95	0,10	0,34	

Vrednosti su predstavljene kao medijana i interkvartilni raspon. Δ: medijana od razlike vrednosti (kraj-početak studije); Δ%: medijana od vrednosti ((kraj-početak studije)/početak studije) × 100. Razlike između grupa su procenjene Kruskal-Wallis testom, a razlike unutar svake grupe su procenjene Wilcoxon signed rank testom. Mann-Whitney test je primenjen kada je bilo razlika između grupa: ¹p < 0,05 poređenjem sa placebo grupom.

Na početku studije su odnosi ukupnih n-6/n-3 polinezasićenih kiselina i arahidonska/eikozapentaenska kiselina bili veći u grupama raspoređenim da piju sok od aronije i razblaženi sok od aronije, nego u placebo grupi (Tabela 12). Na kraju studije je odnos arahidonska/eikozapentaenska kiselina bio manji u dve grupe koje su pile sokove sa polifenolima, ali samo u poređenju sa početkom studije, bez značajnosti u poređenju sa placebo grupom. Nije bilo statistički značajnih promena procentualne zastupljenosti ukupnih n-3 polinezasićenih masnih kiselina (Tabela 12).

U grupi koja je pila sok od aronije su bile smanjene zastupljenosti dihomo- γ -linolenske, arahidonske i adrenske kiseline, u odnosu na početne vrednosti. Kod ispitanika koji su pili sok sa manjom količinom polifenola aronije je došlo do smanjenja udela linolne kiseline, u poređenju sa početkom studije i placebo grupom (Tabela 13).

Tabela 13. Udeo pojedinačnih polinezasićenih masnih kiselina fosfolipida plazme ispitanika pre i nakon intervencije.

	Placebo (n = 26)	Razblaženi sok od aronije (n = 27)	Sok od aronije (n = 27)	p (između grupa)
Linolna kiselina, 18:2n-6 (%)				
Početak studije	23,27 (4,19)	24,88 (3,39)	23,48 (4,97)	0,15
Kraj studije	23,22 (3,74)	22,95 (2,88)	22,89 (4,17)	0,74
Δ ($\Delta\%$)	0,31 (1,61%)	-2,23 (-8,23%) ¹	-1,42 (-7,15%)	0,03
p (unutar grupe)	0,68	0,001	0,06	
Dihomo-γ-linolenska kiselina, 20:3n-6 (%)				
Početak studije	2,99 (1,24)	2,84 (1,55)	2,93 (1,67)	0,64
Kraj studije	2,54 (1,21)	2,56 (1,33)	2,42 (1,30)	0,91
Δ ($\Delta\%$)	-0,02 (-0,94%)	-0,17 (-7,51%)	-0,34 (-12,11%)	0,43
p (unutar grupe)	0,34	0,22	0,007	
Arahidonska kiselina, 20:4n-6 (%)				
Početak studije	10,74 (2,95)	10,39 (2,64)	11,37 (3,39)	0,74
Kraj studije	9,70 (4,07)	10,01 (2,59)	10,21 (3,58)	0,91
Δ ($\Delta\%$)	-0,38 (-3,59%)	-0,71 (-6,62%)	-0,48 (-6,30%)	0,79
p (unutar grupe)	0,34	0,06	0,002	
Adrenska kiselina, 22:4n-6 (%)				
Početak studije	0,40 (0,18)	0,43 (0,17)	0,42 (0,17)	0,59
Kraj studije	0,30 (0,18)	0,36 (0,15)	0,38 (0,20)	0,63
Δ ($\Delta\%$)	-0,06 (-17,10%)	-0,11 (-21,80%)	-0,09 (-21,41%)	0,74
p (unutar grupe)	0,07	0,05	0,004	
Eikozapentaenska kiselina, 20:5n-3 (%)				
Početak studije	0,39 (0,22)	0,26 (0,25)	0,28 (0,19)	0,10
Kraj studije	0,37 (0,35)	0,40 (0,31)	0,46 (0,31)	0,43
Δ ($\Delta\%$)	0,06 (23,53%)	0,11 (44,80%)	0,04 (19,74%)	0,79
p (unutar grupe)	0,17	0,05	0,07	
Dokozapentaenska kiselina, 22:5n-3 (%)				
Početak studije	0,60 (0,31)	0,53 (0,26)	0,55 (0,19)	0,22
Kraj studije	0,53 (0,34)	0,46 (0,22)	0,51 (0,22)	0,80
Δ ($\Delta\%$)	-0,07 (-15,18%)	-0,01 (-3,61%)	-0,06 (-11,08%)	0,56
p (unutar grupe)	0,12	0,55	0,06	
Dokozaheksaenska kiselina, 22:6n-3 (%)				
Početak studije	3,07 (1,09)	2,46 (1,21)	2,58 (1,34)	0,11
Kraj studije	2,90 (1,40)	2,57 (1,49)	2,68 (1,26)	0,50
Δ ($\Delta\%$)	-0,09 (-4,62%)	0,27 (13,88%)	-0,01 (-0,33%)	0,37
p (unutar grupe)	0,60	0,43	0,61	

Vrednosti su predstavljene kao medijana i interkvartilni raspon. Δ : medijana od razlike vrednosti (kraj-početak studije); $\Delta\%$: medijana od vrednosti ((kraj-početak studije)/početak studije) \times 100. Razlike između grupa su procenjene Kruskal-Wallis testom, a razlike unutar svake grupe su procenjene Wilcoxon signed rank testom. Mann-Whitney test je primenjen kada je bilo razlika između grupa: ¹p < 0,05 poređenjem sa placebo grupom.

Nije bilo statistički značajnih razlika između tri grupe u procenjenoj aktivnosti delta-5 i delta-6 desaturaza na početku studije, niti na kraju (Tabela 14).

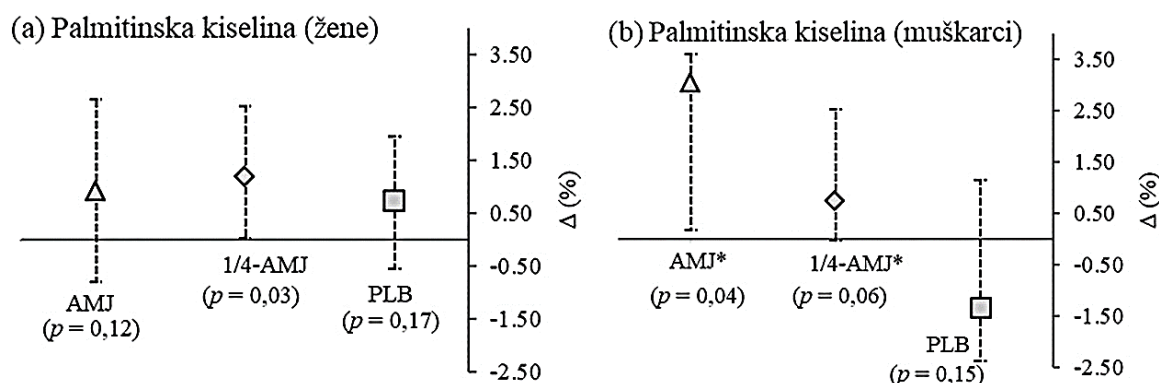
Tabela 14. Procenjene aktivnosti delta-5 i delta-6 desaturaza ispitanika pre i nakon intervencije.

	Placebo (n = 26)	Razblaženi sok od aronije (n = 27)	Sok od aronije (n = 27)	<i>p</i> (između grupa)
Aktivnost delta-5 desaturaze				
Početak studije	3,40 (1,91)	3,68 (2,30)	3,86 (2,10)	0,75
Kraj studije	4,14 (1,72)	3,85 (1,79)	4,02 (1,63)	0,91
Δ (Δ%)	-0,09 (-2,30%)	0,12 (3,66%)	0,10 (2,53%)	0,73
<i>p</i> (unutar grupe)	0,71	0,90	0,37	
Aktivnost delta-6 desaturaze				
Početak studije	0,13 (0,05)	0,11 (0,07)	0,13 (0,09)	0,35
Kraj studije	0,12 (0,06)	0,11 (0,07)	0,11 (0,05)	0,95
Δ (Δ%)	0,001 (1,17%)	0,001 (1,00%)	-0,01 (-7,30%)	0,49
<i>p</i> (unutar grupe)	0,39	0,98	0,09	

Aktivnost enzima je procenjena na osnovu odnosa masnih kiselina: arahidonske/dihomo- γ -linolenske za delta-5 desaturazu i dihomog-linolenske/linolne kiseline za delta-6 desaturazu. Vrednosti su predstavljene kao medijana i interkvartilni raspon. Δ : medijana od razlike vrednosti (kraj-početak studije); $\Delta\%$: medijana od vrednosti ((kraj-početak studije)/početak studije) \times 100. Razlike između grupa su procenjene Kruskal-Wallis testom, a razlike unutar svake grupe su procenjene Wilcoxon signed rank testom.

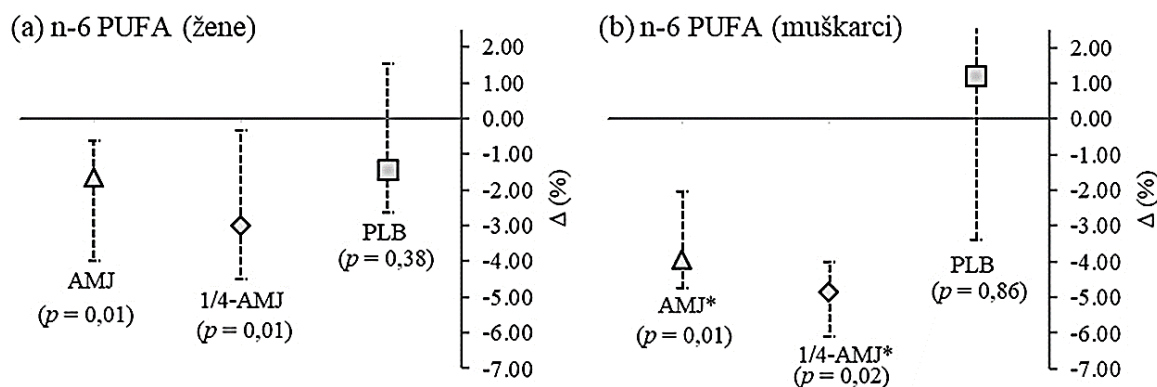
4.3.3.1. Polno-specifične razlike u promenama zastupljenosti palmitinske i n-6 masnih kiselina fosfolipida plazme nakon intervencije

Procentualna zastupljenost palmitinske kiseline bila je povećana kod žena koje su pile razblaženi sok od aronije, u poređenju sa početkom studije, ali ne i u odnosu na ispitanice koje su pile placebo. Povećanje udela palmitinske kiseline kod muškaraca koji su pili sok od aronije i razblaženi sok od aronije je bilo statistički značajno u poređenju sa promenom udela palmitinske kiseline onih iz placebo grupe (Slika 16).



Slika 16. Promene procentualne zastupljenosti palmitinske kiseline u fosfolipidima plazme kod (a) žena i (b) muškaraca koji su pili sok od aronije, razblaženi sok od aronije ili placebo tokom četiri nedelje. Vrednosti su predstavljene kao medijana i interkvartilni raspon promena unutar svake grupe. Promene vrednosti nakon intervencije u odnosu na početak studije unutar svake grupe su procenjene Wilcoxon signed rank testom i *p* vrednost je naznačena. Razlike između grupa su procenjene Kruskal-Wallis testom: **p* < 0,05 poređenjem sa placebo grupom.

Smanjenje udela ukupnih n-6 polinezasićenih masnih kiselina pokazano je i kod žena i kod muškaraca koji su pili sokove sa polifenolima, ali je bilo statistički značajno u poređenju sa placebo grupom samo kod muškaraca (Slika 17).



Slika 17. Promene procentualne zastupljenosti ukupnih n-6 polinezasićenih masnih kiselina u fosfolipidima plazme kod (a) žena i (b) muškaraca koji su pili sok od aronije, razblaženi sok od aronije ili placebo tokom četiri nedelje. Vrednosti su predstavljene kao medijana i interkvartilni raspon promena unutar svake grupe. Promene vrednosti nakon intervencije u odnosu na početak studije unutar svake grupe su procenjene Wilcoxon signed rank testom i p vrednost je naznačena. Razlike između grupa su procenjene Kruskal-Wallis testom: * $p < 0,05$ poređenjem sa placebo grupom. n-6 PUFA: ukupne n-6 polinezasićene masne kiseline (eng. *polyunsaturated fatty acids*, PUFA).

4.3.4. Procenjen dijetarni unos ispitanika na osnovu anketa ishrane

Na osnovu ponovljenih 24-časovnih dijetarnih upitnika, podataka iz Srpske baze podataka namirnica i DAP softvera, zaključeno je da nije bilo razlike između tri grupe u ukupnom energetskom unosu, unosu proteina, ugljenih hidrata, masti, kao ni ukupnih polinezasićenih, zasićenih i mononezasićenih masnih kiselina, tokom trajanja studije (Tabela 15).

U odnosu na ukupan energetski unos, prosečan unos masti je iznosio ~ 38% za ispitanike koji su pili sok od aronije, odnosno po 41% za ispitanike druge dve grupe. Prosečan unos ukupnih zasićenih masti u odnosu na ukupan kalorijski unos je iznosio ~ 12% u grupi koja je pila placebo, 13% u grupi koja je unosila sok od aronije, a 14% u grupi koja je pila razblaženi sok od aronije.

Tabela 15. Procenjen dijetarni unos ukupnih masti, proteina, ugljenih hidrata i masnih kiselina ispitanika tri grupe

	Placebo (n = 29)	Sok od aronije (n = 27)	Razblaženi sok od aronije (n = 28)	p (između grupa)
Ukupan energetski unos (kcal)				
Srednja vrednost ± SD	2075,09 ± 597,27	2055,30 ± 499,27	2015,90 ± 555,04	
Medijana	2087,48	1901,62	1931,40	0,94
95% interval poverenja	1853,86 – 2296,32	1866,98 – 2243,63	1806,53 – 2225,26	
Koeficijent varijabilnosti (%)	28,78	24,29	27,53	
Masti (g)				
Srednja vrednost ± SD	95,26 ± 33,01	89,25 ± 28,83	94,15 ± 33,84	
Medijana	97,30	81,21	86,57	0,81
95% interval poverenja	83,04 – 107,49	78,37 – 100,12	81,38 – 106,92	
Koeficijent varijabilnosti (%)	34,65	32,30	35,95	
Proteini (g)				
Srednja vrednost ± SD	82,05 ± 25,24	80,81 ± 21,48	79,82 ± 24,81	
Medijana	86,65	76,96	75,31	0,86
95% interval poverenja	72,70 – 91,40	72,71 – 88,91	70,46 – 89,18	
Koeficijent varijabilnosti (%)	30,77	26,58	31,08	
Ugljeni hidrati (g)				
Srednja vrednost ± SD	222,38 ± 77,41	226,75 ± 68,25	212,31 ± 61,89	
Medijana	219,12	202,82	204,76	0,82
95% interval poverenja	193,71 – 251,05	201,01 – 252,49	188,97 – 235,66	
Koeficijent varijabilnosti (%)	34,81	30,10	29,15	
Zasićene masne kiseline (g)				
Srednja vrednost ± SD	28,54 ± 11,17	30,22 ± 12,08	31,50 ± 13,73	
Medijana	29,45	27,52	28,78	0,82
95% interval poverenja	24,40 – 32,68	25,66 – 34,77	26,32 – 36,68	
Koeficijent varijabilnosti (%)	39,14	39,98	43,58	
Mononezasićene masne kiseline (g)				
Srednja vrednost ± SD	30,13 ± 11,66	28,27 ± 10,44	29,28 ± 12,93	
Medijana	28,03	25,37	25,71	0,84
95% interval poverenja	25,81 – 34,45	24,33 – 32,21	24,40 – 34,15	
Koeficijent varijabilnosti (%)	38,70	36,92	44,15	
Polinezasićene masne kiseline (g)				
Srednja vrednost ± SD	26,86 ± 13,67	22,29 ± 8,88	23,86 ± 8,63	
Medijana	24,23	20,05	23,83	0,60
95% interval poverenja	21,80 – 31,93	18,94 – 25,64	20,60 – 27,12	
Koeficijent varijabilnosti (%)	50,89	39,82	36,19	

Vrednosti su predstavljene kao: srednja vrednost ± standardna devijacija, medijana, 95% interval poverenja i koeficijent varijabilnosti. Razlike između grupa su procenjene Kruskal-Wallis testom.

4.3.5. Povezanost varijanti gena *FADS2* i efekata polifenola soka od aronije na status polinezasićenih masnih kiselina u fosfolipidima plazme

4.3.5.1. Učestalost alela i zastupljenost masnih kiselina u odnosu na genotip kod svih ispitanika

Zastupljenost genotipova za varijantu rs174576 je bila sledeća: 41 ispitanik (51,25%) je bio heterozigot, 31 ispitanik (38,75%) je bio homozigoti za alel C, a osam ispitanika (10%) su bili homozigotni nosioci alela A. Na osnovu projekta 1000 genoma, alel A je manje zastupljen, a njegova učestalost u našoj grupi je bila 0,36 (Tabela 16).

Zastupljenost genotipova varijante rs174593 je bila sledeća: 40 ispitanika su bili heterozigoti (50%), 33 ispitanika (41,25%) su bili homozigoti za alel T, a sedam ispitanika su bili homozigoti za alel C (8,75%). Učestalost alela C iznosila je 0,34, a to je ređi alel i na osnovu projekta 1000 genoma (Tabela 16).

Zastupljenost genotipova varijante rs174616 je bila sledeća: 48 ispitanika su bili heterozigoti (60%), 17 ispitanika su bili homozigoti za alel A (21,25%), a 15 (18,75%) ispitanika su bili homozigotni nosioci alela G. Prema rezultatima projekta 1000 genoma alela A je ređi, a u našoj studiji je zabeležena njegova učestalost od 0,51 (Tabela 16).

Distribucije genotipova ispitivanih varijanti gena su bile u Hardy-Weinberg ravnoteži ($p > 0,05$) (Tabela 16).

Tabela 16. Učestalost alela i distribucija genotipova odabranih varijanti gena *FADS2* u celoj grupi ispitanika.

Varijanta gena <i>FADS2</i>	Češći/ređi alel	Učestalost ređeg alela na osnovu projekta 1000 genoma	Učestalost ređeg alela kod ispitanika	Homozigoti za češći alel <i>n</i> (%)	Heterozigoti <i>n</i> (%)	Homozigotai za ređi alel <i>n</i> (%)	χ^2 test
rs174576	C/A	0,36	0,36	31 (38,75)	41 (51,25)	8 (10)	0,90
rs174593	T/C	0,21	0,34	33 (41,25)	40 (50)	7 (8,75)	0,67
rs174616	G/A	0,48	0,51	15 (18,75)	48 (60)	17 (21,25)	0,82

Učestalost ređeg alela varijanti gena *FADS2* preuzeta je iz baze podataka NCBI na osnovu projekta 1000 genoma (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Učestalosti genotipova i alela ispitanika su određene metodom prebrojavanja. Slaganje distribucije genotipova ispitanika sa očekivanim vrednostima po Hardy-Weinberg ravnoteži je ispitano primenom χ^2 testa.

Masne kiseline fosfolipida plazme za svaki genotip tri varijante gena *FADS2* na početku studije su predstavljene u Tabeli 17, a procenjena aktivnost desaturaza u Tabeli 18. Udeo linolne kiseline je bio veći kod homozigotnih i heterozigotnih nosilaca ređeg alela u odnosu na homozigote za češći alel varijante rs174576. Homozigotni nosioci ređih alela sve tri varijante gena *FADS2* su imali najmanju procentualnu zastupljenost arahidonske kiseline u fosfolipidima plazme poređenjem sa heterozigotima i homozigotima za češći alel. U slučaju genotipskih varijanti rs174576 i rs174593 je udeo ove kiseline bio manji i kod heterozigota, u odnosu na homozigote za češći alel (Tabela 17). Procenjena aktivnost delta-5 desaturaze je bila manja kod homozigota za ređe alele sve tri varijante gena, u odnosu na homozigote za češće alele (Tabela 18).

Tabela 17. Zastupljenost pojedinačnih polinezasićenih masnih kiselina u fosfolipidima plazme na početku studije u odnosu na varijante rs174576, rs174593 i rs174616 gena *FADS2*.

Varijanta gena <i>FADS2</i>	rs174576	rs174593	rs174616
Linolna kiselina, 18:2n-6 (%)			
Homozigoti za češći alel	22,64 ± 0,55	23,17 ± 0,56	22,44 ± 0,68
Heterozigoti	24,61 ± 0,53 ¹	24,54 ± 0,52	24,11 ± 0,45
Homozigoti za ređi alel	25,43 ± 0,71 ¹	24,00 ± 1,30	24,74 ± 0,95
<i>p</i> (genotip)	0,01	0,20	0,10
Dihomo-γ-linolenska kiselina, 20:3n-6 (%)			
Homozigoti za češći alel	2,89 ± 0,18	2,88 ± 0,17	2,84 ± 0,27
Heterozigoti	2,92 ± 0,14	2,93 ± 0,15	2,95 ± 0,13
Homozigoti za ređi alel	3,59 ± 0,20	3,69 ± 0,24	3,16 ± 0,23
<i>p</i> (genotip)	0,10	0,07	0,59
Arahidonska kiselina, 20:4n-6 (%)			
Homozigoti za češći alel	12,04 ± 0,35	11,96 ± 0,31	11,73 ± 0,43
Heterozigoti	10,40 ± 0,25 ¹	10,29 ± 0,27 ¹	11,04 ± 0,29
Homozigoti za ređi alel	8,48 ± 0,52 ^{1,2}	8,79 ± 0,82 ^{1,2}	9,52 ± 0,47 ^{1,2}
<i>p</i> (genotip)	0,00002	0,0002	0,01
Adrenska kiselina, 22:4n-6 (%)			
Homozigoti za češći alel	0,47 ± 0,03	0,46 ± 0,02	0,44 ± 0,05
Heterozigoti	0,43 ± 0,02	0,43 ± 0,03	0,45 ± 0,02
Homozigoti za ređi alel	0,36 ± 0,05	0,45 ± 0,04	0,41 ± 0,04
<i>p</i> (genotip)	0,32	0,41	0,52
Eikozapentaenska kiselina, 20:5n-3 (%)			
Homozigoti za češći alel	0,35 ± 0,05	0,35 ± 0,04	0,41 ± 0,08
Heterozigoti	0,38 ± 0,03	0,39 ± 0,03	0,35 ± 0,03
Homozigoti za ređi alel	0,37 ± 0,08	0,37 ± 0,09	0,40 ± 0,05
<i>p</i> (genotip)	0,53	0,64	0,35
Dokozapentaenska kiselina, 22:5n-3 (%)			
Homozigoti za češći alel	0,56 ± 0,03	0,57 ± 0,03	0,62 ± 0,04
Heterozigoti	0,59 ± 0,03	0,58 ± 0,03	0,58 ± 0,03
Homozigoti za ređi alel	0,49 ± 0,06	0,52 ± 0,08	0,50 ± 0,04
<i>p</i> (genotip)	0,52	0,95	0,16
Dokozahexaenska kiselina, 22:6n-3 (%)			
Homozigoti za češći alel	2,88 ± 0,14	2,87 ± 0,15	2,94 ± 0,21
Heterozigoti	2,90 ± 0,15	2,89 ± 0,15	2,83 ± 0,13
Homozigoti za ređi alel	2,47 ± 0,27	2,50 ± 0,31	2,82 ± 0,24
<i>p</i> (genotip)	0,44	0,53	0,91

Vrednosti su predstavljene kao srednja vrednost ± standardna greška srednje vrednosti. Razlike između grupa su procenjene Kruskal-Wallis testom: ¹*p* < 0,05 različito od homozigota za češći alel; ²*p* < 0,05 različito od heterozigota.

Tabela 18. Procenjena aktivnost desaturaza na početku studije u odnosu na varijante rs174576, rs174593 i rs174616 gena *FADS2*.

Varijanta gena <i>FADS2</i>	rs174576	rs174593	rs174616
Aktivnost delta-5 desaturaze			
Homozigoti za češći alel	4,66 ± 0,30	4,60 ± 0,28	4,61 ± 0,40
Heterozigoti	3,90 ± 0,21	3,87 ± 0,22	4,14 ± 0,23
Homozigoti za ređi alel	2,41 ± 0,17 ¹	2,41 ± 0,19 ¹	3,27 ± 0,30 ¹
<i>p</i> (genotip)	0,0001	0,0004	0,03
Aktivnost delta-6 desaturaze			
Homozigoti za češći alel	0,13 ± 0,01	0,13 ± 0,01	0,13 ± 0,01
Heterozigoti	0,12 ± 0,01	0,12 ± 0,01	0,13 ± 0,01
Homozigoti za ređi alel	0,14 ± 0,01	0,16 ± 0,01	0,13 ± 0,01
<i>p</i> (genotip)	0,31	0,19	0,93

Vrednosti su predstavljene kao srednja vrednost ± standardna greška srednje vrednosti. Razlike između grupa su procenjene Kruskal-Wallis testom: ¹*p* < 0,05 različito od homozigota za češći alel.

4.3.5.2. Distribucija genotipova i zastupljenost masnih kiselina u odnosu na genotip kod ispitanika svake grupe

Raspodela učestalosti genotipova varijanti rs174576, rs174593 i rs174616 gena *FADS2* je bila u Hardy-Weinberg ravnoteži u svakoj od tri grupe (*p* > 0, 05) (Tabela 19).

Tabela 19. Distribucija genotipova odabranih varijanti gena *FADS2* u svakoj grupi ispitanika.

Varijanta gena <i>FADS2</i>	rs174576			rs174593			rs174616		
	Placebo	Sok od aronije	Razblaženi sok od aronije	Placebo	Sok od aronije	Razblaženi sok od aronije	Placebo	Sok od aronije	Razblaženi sok od aronije
Homozigoti za češći alel	9 (34)	11 (41)	10 (37)	9 (35)	13 (48)	11 (41)	4 (15)	7 (26)	4 (15)
Heterozigoti	13 (50)	14 (51)	15 (56)	13 (50)	13 (48)	14 (52)	16 (62)	13 (48)	19 (70)
Homozigoti za ređi alel	4 (15)	2 (7)	2 (7)	4 (15)	1 (4)	2 (7)	6 (23)	7 (26)	4 (15)
<i>n</i> (%)									
χ^2 test	0,40	0,85	0,81	0,49	0,78	0,68	0,54	0,92	0,68

Distribucija genotipova je određena metodom prebrojavanja. Slaganje distribucije genotipova ispitanika sa očekivanim vrednostima po Hardy-Weinberg ravnoteži je ispitano primenom χ^2 testa.

Na kraju studije je postojala razlika između genotipova u procentualnoj zastupljenosti arahidonske kiseline za varijante rs174576 (u placebo grupi i grupi koja je pila sok od aronije) i rs174593 (u grupi koja je pila sok od aronije) (Tabela 20). Nije bilo razlike između genotipova za zastupljenost n-3 masnih kiselina (Tabela 21). Procenjena aktivnost delta-5 desaturaze je bila različita u odnosu na genotip varijanti rs174576 i rs174593 u grupama koje su pile sok od aronije i placebo (Tabela 22), kao i aktivnost delta-6 desaturaze za varijantu rs174593 u placebo grupi. Nije bilo statističke značajnosti za interakciju genotip i tretman (Tabela 20 – 22).

Tabela 20. Zastupljenost individualnih n-6 polinezasićenih masnih kiselina u fosfolipidima plazme na kraju studije u odnosu na genotip u okviru svake grupe ispitanika.

Varijanta gena <i>FADS2</i>	rs174576			rs174593			rs174616		
	Placebo	Sok od aronije	Razblaženi sok od aronije	Placebo	Sok od aronije	Razblaženi sok od aronije	Placebo	Sok od aronije	Razblaženi sok od aronije
Linolna kiselina, 18:2n-6 (%)									
Homozigoti za češći alel	22,60 ± 1,00	21,74 ± 0,67	23,03 ± 0,68	23,11 ± 0,89	21,73 ± 0,70	22,81 ± 0,67	23,36 ± 1,44	22,38 ± 1,16	21,75 ± 1,03
Heterozigoti	23,38 ± 0,61	22,73 ± 0,75	23,10 ± 0,53	23,43 ± 0,57	23,15 ± 0,73	23,29 ± 0,52	23,20 ± 0,67	21,97 ± 0,60	23,15 ± 0,43
Homozigoti za ređi alel	24,93 ± 0,63	26,95 ± 0,80	21,90 ± 0,72	23,41 ± 2,07	-	21,90 ± 0,72	23,61 ± 0,94	24,13 ± 1,24	23,44 ± 1,29
<i>p</i> (genotip)	0,18	0,05	0,64	0,63	0,10	0,59	0,93	0,26	0,51
<i>p</i> (genotip x tretman)		0,28			0,21			0,35	
Dihomo- γ -linolenska kiselina, 20:3n-6 (%)									
Homozigoti za češći alel	2,40 ± 0,29	2,41 ± 0,19	2,34 ± 0,24	2,43 ± 0,24	2,50 ± 0,21	2,61 ± 0,27	2,48 ± 0,30	2,50 ± 0,33	2,54 ± 0,44
Heterozigoti	2,68 ± 0,18	2,89 ± 0,24	2,86 ± 0,23	2,54 ± 0,17	2,93 ± 0,23	2,68 ± 0,22	2,54 ± 0,21	2,73 ± 0,20	2,62 ± 0,20
Homozigoti za ređi alel	3,88 ± 0,52	2,60 ± 1,01	3,01 ± 0,45	4,21 ± 0,46	-	3,01 ± 0,45	3,53 ± 0,40	2,74 ± 0,40	3,11 ± 0,30
<i>p</i> (genotip)	0,06	0,35	0,28	0,02	0,09	0,81	0,12	0,61	0,47
<i>p</i> (genotip x tretman)		0,70			0,17			0,66	
Arahidonska kiselina, 20:4n-6 (%)									
Homozigoti za češći alel	11,39 ± 0,71	11,52 ± 0,45	10,53 ± 0,69	11,05 ± 0,74	11,36 ± 0,44	10,45 ± 0,63	9,91 ± 1,02	11,42 ± 0,71	12,31 ± 0,78
Heterozigoti	10,39 ± 0,68	9,93 ± 0,57	9,85 ± 0,40	10,37 ± 0,67	9,64 ± 0,60	9,86 ± 0,42	10,86 ± 0,60	10,47 ± 0,58	9,73 ± 0,37
Homozigoti za ređi alel	7,90 ± 0,53	7,06 ± 0,16	10,01 ± 2,10	9,00 ± 1,45	-	10,01 ± 2,10	9,48 ± 1,10	9,13 ± 0,80	9,70 ± 0,92
<i>p</i> (genotip)	0,04	0,02	0,78	0,27	0,03	0,79	0,43	0,22	0,05
<i>p</i> (genotip x tretman)		0,31			0,26			0,49	
Adrenska kiselina, 22:4n-6 (%)									
Homozigoti za češći alel	0,35 ± 0,04	0,41 ± 0,03	0,35 ± 0,02	0,34 ± 0,03	0,41 ± 0,03	0,35 ± 0,03	0,32 ± 0,06	0,40 ± 0,03	0,39 ± 0,06
Heterozigoti	0,32 ± 0,03	0,36 ± 0,04	0,35 ± 0,04	0,30 ± 0,03	0,34 ± 0,04	0,34 ± 0,04	0,32 ± 0,03	0,37 ± 0,04	0,40 ± 0,04
Homozigoti za ređi alel	0,50 ± 0,13	0,24 ± 0,04	0,69 ± 0,27	0,58 ± 0,10	-	0,69 ± 0,27	0,49 ± 0,09	0,33 ± 0,07	0,25 ± 0,03
<i>p</i> (genotip)	0,30	0,25	0,17	0,02	0,32	0,17	0,13	0,55	0,12
<i>p</i> (genotip x tretman)		0,06			0,22			0,24	

Vrednosti su prikazane kao srednja vrednost ± standardna greška srednje vrednosti. *p* (genotip) označava *p* vrednost poređenja homozigota za češći alel, heterozigota i homozigota za ređi alel u okviru svake kolone upotrebom Kruskal-Wallis testa, *p* (genotip x tretman) označava *p* vrednost povezanosti genotipa sa efektima tretmana na procentualnu zastupljenost masnih kiselina, na osnovu generalnog mešovitog modela sa ponovljenim merenjima.

Tabela 21. Zastupljenost individualnih n-3 polinezasićenih masnih kiselina u fosfolipidima plazme na kraju studije u odnosu na genotip u okviru svake grupe ispitanika.

Varijanta gena <i>FADS2</i>	rs174576			rs174593			rs174616		
	Placebo	Sok od aronije	Razblaženi sok od aronije	Placebo	Sok od aronije	Razblaženi sok od aronije	Placebo	Sok od aronije	Razblaženi sok od aronije
Eikozapentaenska kiselina, 20:5n-3 (%)									
Homozigoti za češći alel	0,52 ± 0,09	0,37 ± 0,06	0,43 ± 0,06	0,50 ± 0,10	0,50 ± 0,14	0,47 ± 0,07	0,55 ± 0,20	0,45 ± 0,06	0,66 ± 0,09
Heterozigoti	0,50 ± 0,05	0,62 ± 0,13	0,45 ± 0,05	0,51 ± 0,05	0,51 ± 0,07	0,42 ± 0,05	0,48 ± 0,05	0,46 ± 0,07	0,40 ± 0,04
Homozigoti za ređi alel	0,47 ± 0,11	0,24 ± 0,03	0,43 ± 0,18	0,49 ± 0,11	-	0,43 ± 0,18	0,52 ± 0,08	0,60 ± 0,26	0,40 ± 0,12
<i>p</i> (genotip)	0,95	0,08	0,92	0,76	0,24	0,92	0,74	0,93	0,07
<i>p</i> (genotip x tretman)		0,38			0,71			0,76	
Dokozapentaenska kiselina, 22:5n-3 (%)									
Homozigoti za češći alel	3,29 ± 0,26	0,48 ± 0,05	0,51 ± 0,06	0,50 ± 0,07	0,48 ± 0,04	0,49 ± 0,06	0,50 ± 0,14	0,54 ± 0,09	0,61 ± 0,11
Heterozigoti	0,59 ± 0,09	0,55 ± 0,05	0,62 ± 0,17	0,54 ± 0,08	0,54 ± 0,05	0,64 ± 0,18	0,53 ± 0,07	0,53 ± 0,05	0,60 ± 0,14
Homozigoti za ređi alel	0,69 ± 0,24	0,24 ± 0,04	0,50 ± 0,15	0,73 ± 0,22	-	0,50 ± 0,15	0,69 ± 0,15	0,39 ± 0,05	0,35 ± 0,02
<i>p</i> (genotip)	0,38	0,05	0,84	0,78	0,19	0,98	0,48	0,23	0,06
<i>p</i> (genotip x tretman)		0,95			0,90			0,64	
Dokozaheksaenska kiselina, 22:6n-3 (%)									
Homozigoti za češći alel	0,46 ± 0,06	2,49 ± 0,25	2,68 ± 0,35	3,04 ± 0,33	2,81 ± 0,27	2,96 ± 0,36	2,92 ± 0,39	2,64 ± 0,22	3,58 ± 0,64
Heterozigoti	3,23 ± 0,31	3,15 ± 0,27	2,90 ± 0,22	3,37 ± 0,26	2,89 ± 0,27	2,70 ± 0,19	3,39 ± 0,25	2,91 ± 0,31	2,64 ± 0,17
Homozigoti za ređi alel	2,27 ± 0,48	2,21 ± 0,44	2,66 ± 0,76	2,39 ± 0,50	-	2,66 ± 0,76	2,48 ± 0,38	2,79 ± 0,39	2,82 ± 0,59
<i>p</i> (genotip)	0,22	0,07	0,59	0,34	0,32	0,96	0,14	0,94	0,35
<i>p</i> (genotip x tretman)		0,47			0,62			0,26	

Vrednosti su prikazane kao srednja vrednost ± standardna greška srednje vrednosti. *p* (genotip) označava *p* vrednost poređenja homozigota za češći alel, heterozigota i homozigota za ređi alel u okviru svake kolone upotrebom Kruskal-Wallis testa, *p* (genotip x tretman) označava *p* vrednost povezanosti genotipa sa efektima tretmana na procentualnu zastupljenost masnih kiselina, na osnovu generalnog mešovitog modela sa ponovljenim merenjima.

Tabela 22. Procenjena aktivnost desaturaza na kraju studije u odnosu na genotip u okviru svake grupe ispitanika.

Varijanta gena <i>FADS2</i>	rs174576			rs174593			rs174616		
	Placebo	Sok od aronije	Razblaženi sok od aronije	Placebo	Sok od aronije	Razblaženi sok od aronije	Placebo	Sok od aronije	Razblaženi sok od aronije
Aktivnost delta-5 desaturaze									
Homozigot za češći alel	5,41 ± 0,80	5,04 ± 0,39	4,90 ± 0,52	5,04 ± 0,75	4,84 ± 0,37	4,52 ± 0,54	4,09 ± 0,41	4,89 ± 0,55	5,34 ± 0,98
Heterozigoti	4,02 ± 0,26	3,58 ± 0,20	3,82 ± 0,42	4,37 ± 0,48	3,43 ± 0,22	4,03 ± 0,43	4,81 ± 0,55	4,03 ± 0,32	4,16 ± 0,38
Homozigoti za ređi alel	2,11 ± 0,24	3,17 ± 1,17	3,50 ± 1,22	2,15 ± 0,29	-	3,50 ± 1,22	2,90 ± 0,52	3,62 ± 0,40	3,20 ± 0,38
<i>p</i> (genotip)	0,01	0,02	0,17	0,02	0,02	0,71	0,15	0,26	0,20
<i>p</i> (genotip x tretman)		0,93			0,74			0,70	
Aktivnost delta-6 desaturaze									
Homozigoti za češći alel	0,11 ± 0,02	0,11 ± 0,01	0,10 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,12 ± 0,01	0,12 ± 0,01	0,11 ± 0,02	0,12 ± 0,02	0,12 ± 0,02
Heterozigoti	0,12 ± 0,01	0,13 ± 0,02	0,13 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,13 ± 0,01	0,12 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,13 ± 0,01	0,12 ± 0,01
Homozigoti za ređi alel	0,16 ± 0,02	0,10 ± 0,04	0,14 ± 0,02	0,19 ± 0,03	-	0,14 ± 0,02	0,15 ± 0,01	0,12 ± 0,02	0,13 ± 0,02
<i>p</i> (genotip)	0,10	0,69	0,34	0,04	0,19	0,75	0,08	0,49	0,63
<i>p</i> (genotip x tretman)		0,65			0,18			0,70	

Vrednosti su prikazane kao srednja vrednost ± standardna greška srednje vrednosti. *p* (genotip) označava *p* vrednost poređenja homozigota za češći alel, heterozigota i homozigota za ređi alel u okviru svake kolone upotrebom Kruskal-Wallis testa, *p* (genotip x tretman) označava *p* vrednost povezanosti genotipa sa efektima tretmana na procentualnu zastupljenost masnih kiselina, na osnovu generalnog mešovitog modela sa ponovljenim merenjima.

5. DISKUSIJA

Humane interventne studije su pokazale da sokovi od voća i povrća, koji sadrže polifenole, minerale i vitamine, mogu da utiču na krvni pritisak i lipidni profil (Zheng i sar., 2017b). Nije poznato koliko tome doprinose polifenoli, čije dejstvo zavisi od različitih faktora, među kojima su uneta količina polifenola (Giglio i sar., 2018), ali i pol i genetička osnova ispitanika (Milenković i sar., 2017). U ovoj doktorskoj disertaciji su ispitivani efekti dve količine polifenola soka od aronije na faktore rizika za KVB i masnokiselinski profil plazme pacova i čoveka. Dodatno, u animalnoj studiji je analiziran status masnih kiselina jetre, a u humanoj studiji povezanost efekata aronije sa polom i varijantama gena *FADS2* (rs174576, rs174593, rs174616).

5.1. Efekti polifenola soka od aronije na krvni pritisak u humanoj studiji

Sa nastankom KVB su pozitivno asocirane vrednosti normalnog i visokog normalnog krvnog pritiska (120/80 – 129/89 mm Hg) (Han i sar., 2019). Zato Evropsko kardiološko društvo preporučuje promene u načinu života, kao što su navike u ishrani (Piepoli i sar., 2016).

Na početku naše studije je prosečna vrednost SBP-a učesnika bila veća od optimalnih ($123,27 \pm 14,80$ mm Hg). Nakon četiri nedelje zabeleženo je smanjenje SBP i DBP u sve tri grupe (placebo, razblaženi sok i sok od aronije), poređenjem sa početnim vrednostima. Literaturni podaci ukazuju da je došlo do smanjenja krvnog pritiska kod gojaznih ispitanica koje su svakodnevno pile 100 mL soka od aronije tokom četiri nedelje (Kardum i sar., 2014a), kao i kod muškaraca koji su unosili 250 mL soka dnevno tokom šest nedelja (Skoczyńska i sar., 2007). U brojnim studijama ispitivan je uticaj polifenola na krvni pritisak, ali rezultati nisu usaglašeni. Zhu i saradnici (2016) su na osnovu meta-analize randomizovanih kliničkih studija zaključili da suplementacija antocijanima ne dovodi do promena SBP i DBP, ali je meta-analiza García-Conesa i saradnika (2018) pokazala da unos voća koje sadrži antocijane značajno smanjuje krvni pritisak ljudi. Štaviše, *in vitro* istraživanja su pokazala da antocijaninski ekstrakti aronije i borovnice, kao i sok od aronije, stimulišu endotel-zavisnu dilataciju koronarnih arterija (Bell i Gochenaur, 2006; J. Kim i sar., 2013). Ali, uočene promene krvnog pritiska u našoj studiji ne mogu biti pripisane polifenolima, pošto je on bio smanjen i kod ispitanika koji su pili placebo, bez statističke značajnosti između tri grupe. Placebo-kontrolisane studije su pokazale različite efekte. Dnevni ambulatorno izmeren DBP je bio smanjen u grupi ispitanika koji su pili 300 mL soka od aronije sa dodatih 3 g mlevenih sušenih aronija u odnosu na grupu koja je unosila placebo (Loo i sar., 2016). Ali, Xie i saradnici (2017) su zabeležili smanjenje DBP nakon šest nedelja samo u placebo grupi u odnosu na onu koja je unosila 500 mg ekstrakta aronije dnevno. Sok od četiri vrste voća, među kojima je bila i aronija, je smanjio SBP nakon šest nedelja, u poređenju sa placebo (Tjelle i sar., 2015).

Sokovi od aronije i placebo korišćeni u našoj studiji su sadržali kalijum (220 mg/100 mL), za koji je pokazano da ima uticaj na smanjenje krvnog pritiska (Filippini i sar., 2017; Loo i sar., 2016). Međutim, ta količina je bila manja od preporučenog dnevnog unosa za ostvarivanje navedenih efekata (3500 mg) (Filippini i sar., 2017).

Rezultati ove disertacije ukazuju na značaj placebo-kontrolisanih studija, kao i na potrebu za dodatnim ispitivanjima potencijalnog antihipertenzivnog efekta soka od aronije.

5.2. Efekti polifenola soka od aronije na telesnu masu u animalnoj i humanoj studiji

Gojaznost povećava rizik od nastanka KVB (Csige i sar., 2018). Dosadašnje studije nisu potpuno razjasnile da li dijetarni polifenoli utiču na telesnu masu ljudi (S. Wang i sar., 2014; Castro-Barquero i

sar., 2018; Farhat i sar., 2017). *In vitro* istraživanja su pokazala da je pomešani polifenolni ekstrakt aronije, maline, borovnice i brusnice smanjio akumulaciju masti u adipocitima (Kowalska i sar., 2017), kao i da je ekstrakt aronije sprečio diferencijaciju preadipocita (N. Kim i sar., 2018a).

Uprkos povećanom unosu masti, nije došlo do nastanka gojaznosti kod miševa i pacova koji su unosili ekstrakt aronije (N. Kim i sar., 2018a; N. Kim i sar., 2018b; Takahashi i sar., 2015). U našoj studiji nije bilo razlike u porastu mase između tri grupe životinja (placebo, sok od aronije, razblaženi sok od aronije).

Ispitanici humane studije su imali prekomernu telesnu masu (srednja vrednost: $28,29 \pm 4,92$ kg/m²) i abdominalnu gojaznost pre intervencije, ali nije došlo do statistički značajne promene ovih parametara pod dejstvom soka od aronije. Slično našim rezultatima nije bilo statistički značajnog smanjenja srednje vrednosti BMI-a ($26,5 \pm 3,5$ kg/m²) ispitanika koji su unosili polifenolni ekstrakt aronije tokom šest nedelja (Naruszewicz i sar., 2007), kao ni kod sportista koji su pili sok od aronije tokom četiri nedelje (Petrović i sar., 2016). Ipak, u studiji Kardum i saradnika (2014a) pokazano je statistički značajno smanjenje vrednosti BMI-a i obima struka gojaznih ispitanica nakon četiri nedelje unosa 100 mL soka od aronije sa 586 mg GAE polifenola. Taj sok se razlikuje od naših po sadržaju polifenola i dodatom biljnom vlaknu glukomananu, koji je, prema autorima, mogao da doprinese zabeleženim efektima (Kardum i sar., 2014a). Ipak, na osnovu meta-analize je zaključeno da unos glukomanana ne dovodi do statistički značajnog gubitka mase (Onakpoya i sar., 2014). Moguće je da su efekti soka od aronije na telesnu masu izraženiji kod gojaznih ljudi, pa su potrebne dalje humane interventne studije koje će uporediti uticaj ovog soka, bez dodatka vlakana, kod gojaznih u odnosu na predgojazne ljude.

5.3. Efekti polifenola soka od aronije na glikemiju i lipidni status u animalnoj i humanoj studiji

Hiperglikemija i dislipidemija su faktori rizika za nastanak KVB (Huang i sar., 2016; Piepoli i sar., 2016). Meta-analiza randomizovanih kontrolisanih studija je pokazala da unos antocijana, hranom ili suplementima, dovodi do smanjenja vrednosti LDL holesterola i triglicerida, kao i povećanja koncentracije HDL holesterola (Shah i Shah, 2018). Istovremeno, García-Conesa i saradnici (2018) su meta-analizom humanih studija zaključili da voće koje sadrži antocijane smanjuje vrednosti ukupnog holesterola.

Rezultati ove doktorske disertacije su pokazali da nije bilo statistički značajnih efekata polifenola soka od aronije na glikemiju i lipidne parametre, osim na vrednosti LDL holesterola, koja je bila najniža u grupi pacova koji su pili sok od aronije i time uneli najviše polifenola. Na osnovu toga, moguće je da je za ostvarivanje efekta na LDL kod pacova potreban unos veće količina polifenola soka od aronije svakodnevno tokom pet nedelja. Valcheva-Kuzmanova i saradnici (2007a) su takođe pokazali antihyperlipidemične efekte soka od aronije na pacovima, koji su uz unos hrane bogate holesterolom bili tretirani sokom u dozama od po 5 mL, 10 mL ili 20 mL/kg telesne mase. Autori su pretpostavili da polifenoli sprečavaju apsorpciju holesterola ili njegovu sintezu, kao i integraciju u lipoproteine (Valcheva-Kuzmanova i sar., 2007a). Na ćelijskom modelu za enterocite, Caco-2 ćelijama, je pokazano da polifenolni ekstrakt aronije smanjuje ekspresiju NPC1L1 (eng. *Niemann-Pick C1-Like 1*) transportera na nivou iRNK i proteina, potrebnog za apsorpciju holesterola iz lumena creva. Na nivou iRNK i proteina je zabeleženo i povećanje ekspresije ABCG5/G8 transportera (eng. *ATP-binding cassette transporter G5/G8*), koji učestvuje u efleksu holesterola u lumen creva, nakon čega sledi njegova ekskrecija. Ekstrakt aronije je na nivou iRNK i proteina negativno regulisao ekspresiju HMGR (eng. *3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase*) i SREBP-2 (eng. *sterol regulatory element-binding protein 2*), koji učestvuju u sintezi holesterola, a pozitivno ekspresiju receptora za LDL, kojim se ova lipoproteinska

čestica uklanja iz plazme (B. Kim i sar., 2013). Slično tome, kod Caco-2 ćelija je antocijanski ekstrakt crne ribizle povećao ekspresiju LDL receptora na nivou proteina (B. Kim i sar., 2018). Qin i saradnici (2009) su u placebo-kontrolisanoj humanoj interventnoj studiji pokazali da antocijani borovnice i crne ribizle smanjujući aktivnost holesterol estar transfer proteina (eng. *cholesterol ester transpher protein*, CETP) redukuju koncentraciju LDL holesterola u serumu. Pacovi nemaju CETP protein (Barter i sar., 2003; Trajkovska i Topuzovska, 2017), stoga se ovim mehanizmom ne mogu objasniti efekti polifenola soka od aronije na LDL holesterol u animalnoj studiji disertacije. Štaviše, u našoj humanoj studiji nije došlo do promene povišenih vrednosti LDL holesterola usled unosa soka od aronije. Takođe, u studiji koju su sprovedli Kardum i saradnici (2014b) nisu zabeleženi antihiperlipidemični efekti nakon tri meseca, tokom kojih su ispitanici pili 100 mL (oko 386 mg GAE) soka od aronije dnevno. Suprotno tome, smanjenje koncentracije LDL holesterola je pokazano u studiji sa ukupnim trajanjem od 18 nedelja, sa tim da su hiperlipidemični ispitanici pili sok od aronije tokom prvih i poslednjih šest nedelja. Dnevni unos soka od aronije u ovoj studiji je sadržao sličnu količinu polifenola kao u našoj humanoj studiji (oko 1000 mg GAE) (Skoczyńska i sar., 2007). Stoga je moguće da je za ostvarivanje antihiperlipidemičnih efekata kod ljudi potreban unos veće količine polifenola, duže od četiri nedelje.

5.4. Efekti polifenola soka od aronije na vrednosti oxLDL-a u serumu ispitanika humane studije

Povišene vrednosti oxLDL-a i odnosa oxLDL/LDL holesterol i oxLDL/ukupni holesterol su faktori rizika za nastanak ateroskleroze i biomarkeri bolesti koronarnih arterija (Huang i sar., 2012; Lara-Guzmán i sar., 2018). Koncentracija oxLDL-a je pozitivno korelisana i sa nastankom metaboličkog sindroma (Holvoet i sar., 2008), dijabetesom i hipertenzijom (Koubaa i sar., 2007; Omar i sar., 2017).

Ovi biomarkeri su statistički značajno smanjeni (od 17 do 19%) u serumu ispitanika koji su pili sok od aronije poređenjem kraja i početka humane studije ove disertacije. Međutim, te promene nisu bile statistički značajno različite od smanjenja u placebo grupi, koja su iznosila od 4 do 7%.

Polifenoli mogu da doniraju atom vodonika iz hidrosilne grupe i time neutrališu slobodni radikal (Santos-Sánchez i sar., 2019). Superoksid je predomnanti slobodni radikal u ćelijama, koji je potreban za nastanak reaktivnih vrsta, kao što su hidrosil radikal i peroksinitrit (Lü i sar., 2010). Metanolni ekstrakt aronije, u zavisnosti od količine polifenola, može da neutrališe superoksid i hidrosil radikal, kao i da smanji lipidnu peroksidaciju (Rop i sar., 2010). Takođe je pokazano *in vitro* da antocijanski ekstrakti hibiskusa (Chang i sar., 2006) i duda (L.K. Liu i sar., 2008) sprečavaju oksidaciju LDL-a.

Dosadašnji literaturni podaci o efektima polifenolnog ekstrakta aronije na oxLDL nisu konzistentni. Pokazano je da nije došlo do promene nivoa oxLDL-a kod hiperlipidemičnih ljudi nakon šest nedelja (Xie i sar., 2017), ali i da je smanjen nakon istog vremenskog perioda, kod ispitanika koji su bili na terapiji statinima posle infarkta miokarda (Naruszewicz i sar., 2007). Zabeleženo je i da sama terapija statinima u trajanju od dve nedelje smanjuje vrednosti oxLDL-a i odnosa oxLDL/LDL holesterol i oxLDL/ukupni holesterol kod pacijenata koji su imali koronarnu arterijsku bolest (Huang i sar., 2012). Ipak, Naruszewicz i saradnici (2007) su pokazali da je promena u grupi koja je unosila ekstrakt aronije statistički značajno različita od one u placebo grupi.

Zbog odsustva značajnosti u poređenju između grupa, rezultati pokazani u našoj studiji ne mogu biti pripisani polifenolima, ali ukazuju na potrebu za dodatnim ispitivanjima mogućih efekata soka od aronije sa većom količinom polifenola na oxLDL.

5.5. Efekti polifenola soka od aronije na masne kiseline fosfolipida u animalnoj i humanoj studiji

Meta-analize i studije na velikom broju ispitanika su pokazale povezanost masnokiselinskog sastava fosfolipida plazme i gojaznosti (Fekete i sar., 2015), dijabetesa tipa 2 (Imamura i sar., 2017) i koronarne bolesti srca (Del Gobbo i sar., 2016; Q. Liu i sar., 2019). Na masnokiselinski profil utiče ishrana, što je pokazano i kod pacova (Tranchida i sar., 2012; Ranković i sar., 2017) i kod ljudi (Ambring i sar., 2006; Johns i sar., 2019).

Na kraju naše animalne studije je udeo vakcenske kiseline bio statistički značajno veći u fosfolipidima plazme onih pacova koji su pili sok od aronije i razblaženi sok od aronije, u poređenju sa placebo grupom, koja nije unosila polifenole. Promena zastupljenosti ove masne kiseline bi mogla imati povoljan efekat na prevenciju nastanka KVB, jer je manja zastupljenost vakcenske kiseline u jetri i serumu pokazana kod pacova koji su podložni nastanku šloga (Tanaka i sar., 2013). Osim toga, veći udeo ove kiseline u fosfolipidima plazme je korelisan sa manjim rizikom od poremećaja rada srca kod muškaraca koji su imali koronarnu bolest srca (Djoussé i sar., 2014). Prospektivna studija je pokazala povezanost većeg udela vakcenske kiseline fosfolipida plazme sa smanjim rizikom od nastanka dijabetesa tipa 2 (Ma i sar., 2015). Ova masna kiselina je negativno regulisala ekspresiju adhezivnih molekula ICAM-1 i VCAM-1 na nivou proteina, kod humanih mikrovaskularnih endotelinih ćelija u kulturi, što ukazuje na njenu potencijalnu ulogu u smanjenju rizika od nastanka ateroskleroze (Abbasi i sar., 2015). Ipak, na osnovu Multi-etničke studije o aterosklerozi je pokazana povezanost većeg udela vakcenske kiseline u fosfolipidima plazme i smanjene procenjene stope glomerularne filtracije, što se povezuje sa rizikom od nastanka hipertenzije i dijabetesa (Block i sar., 2012).

Vakcenska kiselina se nalazi u voću i povrću, u manjim količinama (Shibahara i sar., 1987; Miyatani i sar., 2001). Međutim, sve tri grupe pacova su hranjene istim briketima. Vakcenska kiselina takođe može nastati i u procesu *de novo* lipogeneze (Marks i sar., 2013). U fosfolipidima jetre pacova naše studije, koji su pili sok od aronije i razblaženi sok, pokazano je i smanjenje udela stearinske kiseline, koja nastaje elongacijom palmitinske kiseline. Alternativno, desaturacijom palmitinske kiseline može nastati palmitoleinska, koja se elongacijom konvertuje u vakcensku kiselinu (Marks i sar., 2013). Pošto je samo u grupi koja je pila sok od aronije udeo vakcenske kiseline fosfolipida jetre bio statistički značajno veći nego u placebo grupi, pretpostavljamo da je veća količina polifenola soka od aronije stimulisala alternativni put *de novo* lipogeneze.

Efekti polifenola soka od aronije na vakcensku kiselinu nisu pokazani u humanoj studiji disertacije. Najznačajnije rezultate predstavlja povećanje procentualne zastupljenosti ukupnih zasićenih masnih kiselina, pre svega palmitinske kiseline, kao i smanjenje udela ukupnih i n-6 polinezasićenih masnih kiselina, ali i odnosa arahidonska/eikozapentaenska kiselina u dve grupe koje su pile sokove sa polifenolima (sok od aronije i razblaženi sok od aronije), u poređenju sa početkom studije. Od navedenih promena, kada se porede sa placebo grupom, različite su one koje se odnose na udeo palmitinske kiseline ($p = 0,05$) i udele ukupnih i n-6 polinezasićenih masnih kiselina ($p < 0,05$), u obe grupe koje su unosile polifenole. Količina polifenola od 294 mg GAE dnevno je bila dovoljna za ostvarivanje efekata na ove masne kiseline kod ljudi.

Slično ovim rezultatima, Vauzour i saradnici (2015) su pokazali da je unos antocijanskog ekstrakta bobica zove povećao udeo palmitinske kiseline ukupnih lipida plazme kod postmenopausalnih žena nakon 12 nedelja. Osim toga, pretretman HepG2 ćelija antocijanom delfinidin-3-glukozidom (5 μ M) je doveo do povećanja zastupljenosti palmitinske i stearinske kiseline u ćelijskoj membrani, nakon 48 h (Vauzour i sar., 2015). Takođe, zabeleženo je da je svakodnevni unos 300 mL soka od nara uticao na povećanje udela zasićenih masnih kiselina, kao i smanjenje zastupljenosti arahidonske kiseline u fosfolipidima plazme ispitanica koje su imale metabolički sindrom (Kojadinović i sar., 2017). Za razliku

od naše, dve studije su pokazale efekte soka od aronije na povećanje udela ukupnih n-3 polinezasićenih masnih kiselina, posebno dokozaheksaenske kiseline, kao i na smanjenje zastupljenosti mononezasićenih masnih kiselina u fosfolipidima membrana eritrocita žena (Kardum i sar., 2014a; Kardum i sar., 2014b).

Kod ljudi koji su pili sok od aronije smo zabeležili smanjenje udela i dihomog- γ -linolenske kiseline i arahidonske (Saini i Keum, 2018), kao i adrenske kiseline, koja može nastati elongacijom arahidonske kiseline (Guijas, 2012). Ove promene su bile značajne poređenjem sa početnim vrednostima. Suprotno tome, u našoj animalnoj studiji je zabeleženo statistički značajno smanjenje udela arahidonske kiseline, ali i povećanje udela dihomog- γ -linolenske u fosfolipidima jetre, samo u grupi koja je pila sok od aronije. Na masnokiselinske profile utiče i endogeni metabolizam, koji regulišu enzimi elongaze i desaturaze (J. Zhang i sar., 2016), ali nije bilo značajnih efekata soka od aronije i razblaženog soka od aronije na procenjene aktivnosti delta-5 i delta-6 desaturaze u našoj humanoj studiji, što je u skladu sa rezultatima studije Petrović i saradnika (2016). Ipak, rezultati u animalnoj studiji ove disertacije ukazuju na moguće efekte veće količine polifenola na redukovanu konverziju dihomog- γ -linolenske kiseline u arahidonsku, smanjenjem aktivnosti delta-5 desaturaze jetre. Rezultati ove disertacije ukazuju da se na osnovu masnokiselinskog profila jetre pacova ne može pretpostaviti kakve promene će biti u zastupljenosti masnih kiselina jetre čoveka dejstvom soka od aronije.

Procena dijetarnog unosa na osnovu 24-časovnih anketa ishrane je pokazala da nije bilo razlike u dijetarnom unosu ukupnih zasićenih, mononezasićenih i polinezasićenih masnih kiselina između tri grupe ispitanika humane studije. Unos ukupnih masti i zasićenih masnih kiselina je bio viši od onog koji preporučuje Svetska Zdravstvena Organizacija (A. Liu i sar., 2017).

Ounnas i saradnici (2017) su predložili da polifenoli raži smanjuju apsorpciju linolne kiseline, što bi moglo da bude objašnjenje i za naše rezultate vezane za ukupne n-6 polinezasićene masne kiseline. Zbog povezanosti povećanog unosa n-6 polinezasićenih masnih kiselina i rizika od koronarne bolesti srca (Ramsden i sar., 2010), naši rezultati se mogu smatrati povoljnim u prevenciji KVB.

U apsorpciji masnih kiselina učestvuju transporter koji se nalaze na apikalnoj membrani enterocita, kao što je translokaza masnih kiselina ili CD36 (eng. *cluster determinant 36*) (T. Wang i sar., 2013). Ekspresija CD36 na nivou iRNK je pozitivno povezana sa količinom linolne kiseline, a inverzno sa sadržajem palmitinske kiseline, u mišićnom tkivu (Guo i sar., 2013).

Osim toga, polifenolni ekstrakt iz soka voća *Viburnum opulus* je smanjio ekspresiju gena *CD36* Caco-2 ćelija, kao i njihov unos masnih kiselina (Zakłós-Szyda i sar., 2019). Pretpostavljamo da bi polifenoli aronije mogli da deluju na sličan način, ali su potrebna dodatna ispitivanja.

Zastupljenost palmitinske kiseline u fosfolipidima plazme je korelisana sa povećanim rizikom od hronične aritmije (Fretts i sar., 2014), a udeo ukupnih n-6 polinezasićenih kiselina sa povećanim rizikom od nastanka rigidnosti zida arterija (Reinders i sar., 2015). Na osnovu toga, naši rezultati sugerišu da dve različite količine polifenola soka od aronije ostvaruju efekte na masnokiselinski profil koji mogu imati povoljan, ali i nepovoljan uticaj na nastanak KVB, za šta su potrebna dalja ispitivanja i praćenja u prospektivnim studijama.

5.6. Povezanost pola sa efektima polifenola soka od aronije na profil masnih kiselina fosfolipida plazme

Na osnovu skorašnje meta-analize je zaključeno da nema mnogo studija koje su ispitivale da li pol ispitanika doprinosi varijabilnosti u odgovoru na namirnice koje sadrže antocijane (García-Conesa i sar., 2018). Na primer, pokazano je da dijetarni unos polifenola kvercetina ne utiče na masnokiselinski profil fosfolipida seruma i eritrocita ni muškaraca niti žena (Burak i sar., 2017). Sa druge strane, sok od aronije je uticao na zastupljenost oleinske i α -linolenske kiseline fosfolipida plazme samo kod

rukometaša, ali ne i rukometašica (Petrović i sar., 2016). Rezultati naše studije ukazuju da je, u poređenju sa placebo grupom, došlo do smanjenja procentualne zastupljenosti n-6 polinezasićenih masnih kiselina i povećanja udela palmitinske kiseline samo kod muškaraca koji su unosili polifenole. Na osnovu toga, pretpostavljamo da polifenoli soka od aronije u količinama 294 i 1177 mg GAE postižu efekat na fosfolipide plazme muškaraca, ali su potrebna dodatna ispitivanja koja će razjasniti mehanizam delovanja.

5.7. Povezanost varijanti gena *FADS2* sa efektima polifenola soka od aronije na profil polinezasićenih masnih kiselina fosfolipida plazme

Različite studije su pokazale da postoji povezanost varijanti gena *FADS* i zastupljenosti pojedinačnih polinezasićenih masnih kiselina kod ljudi (Xie i Innis, 2008, Schaeffer i sar., 2006; Minihane, 2016), što se može modifikovati ishranom (Porenta i sar., 2013; Vernekar i Amarapurkar, 2016).

U ovoj doktorskoj disertaciji je prvi put ispitivana povezanost varijanti rs174576, rs174593 i rs174616 gena *FADS2* sa efektima polifenola soka od aronije na masnokiselinski profil fosfolipida plazme. Distribucija genotipova tri ispitivane varijante gena je bila u Hardy-Weinberg ravnoteži. Naša studija je pokazala da postoji asocijacija ispitivanih varijanti gena *FADS2* i procentualne zastupljenosti arahidonske kiseline u fosfolipidima plazme. Pre intervencije su nosioci ređih alela imali manje zastupljenu arahidonsku kiselinu nego homozigoti za češće alele, a to je primećeno i na kraju studije, u grupama koje su pile sok od aronije i placebo za varijantu gena rs174576, odnosno u grupi koja je pila sok od aronije za varijantu rs174593. Nije zabeležena statistički značajna povezanost ispitivanih varijanti gena *FADS2* sa efektima polifenola soka od aronije.

U drugim studijama koje su ispitivale uticaj ishrane na povezanost genotipa sa udelom polinezasićenih masnih kiselina u cirkulaciji i tkivima, dijetarnom intervencijom se menjao unos masnih kiselina. Tako je, na primer, unos lanenog ulja, koje sadrži velike količine α -linolenske kiseline, doveo do povećanja udela eikozapentaenske kiseline u plazmi, što je bilo manje kod homozigota za ređe alele gena *FADS1* (Gillingham i sar., 2013). Unos ulja suncokreta, izvora linolne kiseline, je u zavisnosti od *FADS* genotipa uticao na zastupljenost arahidonske kiseline fosfolipida plazme (Lankinen i sar., 2019). Porenta i saradnici (2013) su pokazali da je mediteranski način ishrane doveo do smanjenja arahidonske kiseline u mukozi kolona homozigota za češće alele gena *FADS* u poređenju sa "zdravim načinom ishrane" koji je podrazumevao manji unos voća i povrća, bez n-3 polinezasićenih masnih kiselina. Pretpostavljamo da se odsustvo statistički značajnih rezultata naše studije može objasniti time što sok od aronije ne sadrži masne kiseline.

Ograničenje studije je mali broj ispitanika za ovaj tip analize.

6. ZAKLJUČCI

1. U grupi pacova *Wistar* soja koja je unosila sok od aronije je koncentracija LDL holesterola bila statistički značajno niža od vrednosti u grupama koje su pili placebo i sok od aronije razblažen placebo ($p < 0,05$ za obe). Međutim, nije bilo razlike za vrednosti ostalih ispitivanih parametara (telesne mase, koncentracije glukoze, triglicerida, HDL i ukupnog holesterola) poređenjem grupa na kraju studije. Stoga, dijetarni unos polifenola aronije bi mogao da utiče na razvoj KVB kod pacova preko efekata na LDL holesterol, za šta je bio potreban dnevni unos od 557 mg, a nije bio dovoljan onaj od 120 mg, tokom pet nedelja.
2. Udeo vakkenske kiseline je bio veći i u plazmi i u jetri pacova *Wistar* soja koji su pili sok od aronije, u poređenju sa placebo. Zastupljenost ove kiseline je bila veća i u plazmi pacova koji su pili sok od aronije razblažen placebo, ali ne i u njihovoj jetri. Na osnovu toga, pretpostavljamo da je potrebna veća količina polifenola aronije za efekte na sadržaj vakkenske kiseline u fosfolipidima jetre pacova, u odnosu na njihovu plazmu. Uočen je i trend porasta udela dihomog- γ -linolenske kiseline, kao i smanjenja zastupljenosti arahidonske kiseline u grupi koja je pila sok od aronije, u odnosu na placebo. Dobijeni rezultati ukazuju da bi veća količina polifenola aronije mogla imati uticaja i na metabolizam n-6 masnih kiselina u jetri pacova.
3. U sve tri grupe ispitanika humane studije su vrednosti krvnog pritiska bile niže nakon četiri nedelje dijetarne intervencije u odnosu na početne vrednosti. Nije bilo statistički značajnih razlika u promenama SBP i DBP između grupa, pa se to ne može pripisati polifenolima, ali su potrebna dalja ispitivanja antihipertenzivnih efekata soka od aronije. Nije bilo statistički značajnih efekata polifenola aronije na vrednosti BMI-a, obima struka, kao ni koncentracije glukoze, holesterola i triglicerida u serumu odraslih ispitanika koji su imali bar jedan od faktora rizika za nastanak KVB. Stoga, sok od aronije bi mogao da utiče na prevenciju KVB kod ljudi preko efekata na krvni pritisak, ali su potrebna dalja ispitivanja.
4. Koncentracija oxLDL-a je statistički značajno smanjenja samo u grupi koja je pila sok od aronije poređenjem sa početkom studije. Ipak, ova promena nije bila statistički značajno različita od one u placebo grupi. Zato ovi efekti ne mogu biti pripisani polifenolima, ali ukazuju na potrebu za dodatnim ispitivanjima.
5. Došlo je do povećanja procentualne zastupljenosti palmitinske kiseline i smanjenja udela ukupnih n-6 polinezasićenih masnih kiselina u fosfolipidima plazme ljudi koji su pili sok od aronije i razblaženi sok od aronije, u poređenju sa početkom studije i placebo. Zbog toga se ove promene mogu pripisati polifenolima, i ukazuju da je za njihovo ostvarivanje dovoljna i količina od 294 mg GAE dnevno. Potrebno je pratiti da li će ovakve promene u masnokiselinskom sastavu imati uticaj na nastanak KVB. Takođe, naši rezultati ukazuju da su navedeni efekti bili izraženiji kod muškaraca. Mehanizam delovanja treba da bude razjašnjen u budućim istraživanjima. Pokazana je povezanost ispitivanih varijanti gena *FADS2* (rs174576, rs174593 i rs174616) sa procentualnom zastupljenosti arahidonske kiseline u fosfolipidima plazme, ali ne i sa efektima polifenola soka od aronije.

6. Efekti polifenola soka od aronije zabeleženi na animalnom modelu nisu pokazani kod ljudi u ovoj disertaciji. Stoga, na osnovu promena u masnokiselinskom profilu jetre pacova ne možemo pretpostaviti kakve se promene očekuju u jetri čoveka usled unosa soka od aronije.

LITERATURA

- Aarsland, A., Chinkes, D., & Wolfe, R. R. (1997). Hepatic and whole-body fat synthesis in humans during carbohydrate overfeeding. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 65(6), 1774–1782. <https://doi.org/10.1093/ajcn/65.6.1774>
- Abbasi, A., Mostafaie, A., Bahrami, G., Mansouri, K., & Sisakhtnejad, S. (2015). The effect of cis and trans vaccenic acids on expression of ICAM-1 and VCAM-1 in human microvascular endothelial cells (HMEC). *Journal of Reports in Pharmaceutical Sciences*, 4(1), 65–74.
- Agbor, G., Vinson, J. A., & Donnelly, P. E. (2014). Folin-Ciocalteu reagent for polyphenolic assay. *International Journal of Food Science, Nutrition and Dietetics*, 3(8), 147–156. <https://doi.org/10.19070/2326-3350-1400028>
- Alberti, K. G. M. M., Zimmet, P., & Shaw, J. (2006). Metabolic syndrome - A new world-wide definition. A consensus statement from the International Diabetes Federation. *Diabetic Medicine*, 23(5), 469–480. <https://doi.org/10.1111/j.1464-5491.2006.01858.x>
- Albuquerque, T. G., Silva, M. A., Oliveira, M. B. P., & Costa, H. S. (2018). Analysis, identification, and quantification of anthocyanins in fruit juices. In *Fruit juices* (pp. 693–737). Academic Press.
- Alissa, E. M., & Ferns, G. A. (2017). Dietary fruits and vegetables and cardiovascular diseases risk. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(9), 1950–1962. <https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1040487>
- Ambring, A., Johansson, M., Axelsen, M., Gan, L., Strandvik, B., & Friberg, P. (2006). Mediterranean-inspired diet lowers the ratio of serum phospholipid n-6 to n-3 fatty acids, the number of leukocytes and platelets, and vascular endothelial growth factor in healthy subjects. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 83(3), 575–581. <https://doi.org/10.1093/ajcn.83.3.575>
- American Diabetes Association (2019). Classification and diagnosis of diabetes: *Standards of medical care in diabetes-2019*. *Diabetes Care*, 42(1), S13–S28. <https://doi.org/10.2337/dc19-S002>
- Andersson, C., & Vasan, R. S. (2018). Epidemiology of cardiovascular disease in young individuals. *Nature Reviews. Cardiology*, 15(4), 230–240. <https://doi.org/10.1038/nrcardio.2017.154>
- Arab L. (2003). Biomarkers of fat and fatty acid intake. *The Journal of Nutrition*, 3(3), 925S–932S. <https://doi.org/10.1093/jn/133.3.925S>
- Arrebola-Moreno, A. L., Laclaustra, M., & Kaski, J. C. (2012). Noninvasive assessment of endothelial function in clinical practice. *Revista Española de Cardiología (English Edition)*, 65(1), 80–90. <https://doi.org/10.1016/j.rec.2011.10.004>
- Aune, D., Giovannucci, E., Boffetta, P., Fadnes, L. T., Keum, N. N., Norat, T., Greenwood, D. C., Riboli, E., Vatten, L. J., & Tonstad, S. (2017). Fruit and vegetable intake and the risk of cardiovascular disease, total cancer and all-cause mortality-A systematic review and dose-response meta-analysis of prospective studies. *International Journal of Epidemiology*, 46(3), 1029–1056. <https://doi.org/10.1093/ije/dyw319>
- Aune, D., Keum, N., Giovannucci, E., Fadnes, L. T., Boffetta, P., Greenwood, D. C., Tonstad, S., Vatten, L. J., Riboli, E., & Norat, T. (2018). Dietary intake and blood concentrations of antioxidants and the risk of cardiovascular disease, total cancer, and all-cause mortality: a systematic review and dose-response meta-analysis of prospective studies. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 108(5), 1069–1091. <https://doi.org/10.1093/ajcn/nqy097>
- Aune, D., Sen, A., Norat, T., Janszky, I., Romundstad, P., Tonstad, S., & Vatten, L. J. (2016). Body mass

- index, abdominal fatness, and heart failure incidence and mortality: A systematic review and dose-response meta-analysis of prospective studies. *Circulation*, 133(7), 639–649. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.115.016801>
- Badimon, J. J., Badimon, L., & Fuster, V. (1990). Regression of atherosclerotic lesions by high density lipoprotein plasma fraction in the cholesterol-fed rabbit. *Journal of Clinical Investigation*, 85(4), 1234–1241. <https://doi.org/10.1172/JCI114558>
- Baglioni, S., Cantini, G., Poli, G., Francalanci, M., Squecco, R., Franco, A., Borgogni, E., Frontera, S., Nesi, G., Liotta, F., Lucchese, M., Perigli, G., Francini, F., Forti, G., Serio, M., & Luconi, M. (2012). Functional differences in visceral and subcutaneous fat pads originate from differences in the adipose stem cell. *PLoS ONE*, 7(5). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0036569>
- Barać, M., Kresojević, M., Špirović-Trifunović, B., Pešić, M., Vučić, T., Kostić, A., & Despotović, S. (2018). Fatty acid profiles and mineral content of Serbian traditional white brined cheeses. *Mljekarstvo/Dairy*, 68(1) 37–45. <https://core.ac.uk/download/pdf/193803564.pdf>
- Barceló-Coblijn, G., & Murphy, E. J. (2009). Alpha-linolenic acid and its conversion to longer chain n-3 fatty acids: Benefits for human health and a role in maintaining tissue n-3 fatty acid levels. *Progress in Lipid Research*, 48(6), 355–374. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2009.07.002>
- Barter, P. J., Brewer, H. B., Chapman, M. J., Hennekens, C. H., Rader, D. J., & Tall, A. R. (2003). Cholesteryl ester transfer protein: A novel target for raising HDL and inhibiting atherosclerosis. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 23(2), 160–167. <https://doi.org/10.1161/01.ATV.0000054658.91146.64>
- Bayrak, A., Kiralan, M., Ipek, A., Arslan, N., Cosge, B., & Khawar, K. M. (2010). Fatty acid compositions of linseed (*Linum Usitatissimum* L.) genotypes of different origin cultivated in Turkey. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 24(2), 1836–1842. <https://doi.org/10.2478/V10133-010-0034-2>
- Bell, D. R., & Gochenaur, K. (2006). Direct vasoactive and vasoprotective properties of anthocyanin-rich extracts. *Journal of Applied Physiology*, 100(4), 1164–1170. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00626.2005>
- Bentzon, J. F., Otsuka, F., Virmani, R., & Falk, E. (2014). Mechanisms of plaque formation and rupture. *Circulation Research*, 114(12), 1852–1866. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.114.302721>
- Bergen, W. G., & Mersmann, H. J. (2005). Comparative aspects of lipid metabolism: Impact on contemporary research and use of animal models. *Journal of Nutrition*, 135(11), 2499–2502. <https://doi.org/10.1093/jn/135.11.2499>
- Block, R., Kakinami, L., Liebman, S., Shearer, G. C., Kramer, H., & Tsai, M. (2012). Cis-vaccenic acid and the Framingham risk score predict chronic kidney disease: the multi-ethnic study of atherosclerosis (MESA). *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 86(4-5), 175–182. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0952327812000154>
- Bodicoat, D. H., Gray, L. J., Henson, J., Webb, D., Guru, A., Misra, A., Gupta, R., Vikram, N., Sattar, N., Davies, M. J., & Khunti, K. (2014). Body mass index and waist circumference cut-points in multi-ethnic populations from the UK and India: The ADDITION-Leicester, Jaipur Heart Watch and New Delhi cross-sectional studies. *PLoS ONE*, 9(3), 1–6. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0090813>
- Bokor, S., Dumont, J., Spinneker, A., Gonzalez-Gross, M., Nova, E., Widhalm, K., Moschonis, G., Stehle, P., Amouyel, P., De Henauw, S., Molnár, D., Moreno, L. A., Meirhaeghe, A., & Dallongeville, J.

- (2010). Single nucleotide polymorphisms in the *FADS* gene cluster are associated with delta-5 and delta-6 desaturase activities estimated by serum fatty acid ratios. *Journal of Lipid Research*, 51(8), 2325–2333. <https://doi.org/10.1194/jlr.M006205>
- Bolad, I., & Delafontaine, P. (2005). Endothelial dysfunction: its role in hypertensive coronary disease. *Current Opinion in Cardiology*, 20(4), 270–274. <https://doi.org/10.1097/01.hco.0000167719.37700.1d>
- Borowska, S., & Brzóska, M. M. (2016). Chokeberries (*Aronia melanocarpa*) and their products as a possible means for the prevention and treatment of noncommunicable diseases and unfavorable health effects due to exposure to xenobiotics. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(6), 982–1017. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12221>
- Boyle, A. P., Hong, E. L., Hariharan, M., Cheng, Y., Schaub, M. A., Kasowski, M., Karczewski, K. J., Park, J., Hitz, B. C., Weng, S., Cherry, J. M., & Snyder, M. (2012). Annotation of functional variation in personal genomes using RegulomeDB. *Genome Research*, 22(9), 1790–1797. <https://doi.org/10.1101/gr.137323.112>
- Brites, F., Martin, M., Guillas, I., & Kontush, A. (2017). Antioxidative activity of high-density lipoprotein (HDL): Mechanistic insights into potential clinical benefit. *BBA Clinical*, 8, 66–77. <https://doi.org/10.1016/j.bbacli.2017.07.002>
- Brown, M. S., & Goldstein, J. L. (1976). Analysis of a mutant strain of human fibroblasts with a defect in the internalization of receptor-bound low density lipoprotein. *Cell*, 9(4 PT 2), 663–674. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(76\)90130-6](https://doi.org/10.1016/0092-8674(76)90130-6)
- Buckley, M. T., Racimo, F., Allentoft, M. E., Jensen, M. K., Jonsson, A., Huang, H., Hormozdiari, F., Sikora, M., Marnetto, D., Eskin, E., Jørgensen, M. E., Grarup, N., Pedersen, O., Hansen, T., Kraft, P., Willerslev, E., & Nielsen, R. (2017). Selection in Europeans on fatty acid desaturases associated with dietary changes. *Molecular Biology and Evolution*, 34(6), 1307–1318. <https://doi.org/10.1093/molbev/msx103>
- Burak, C., Wolfram, S., Zur, B., Langguth, P., Fimmers, R., Alteheld, B., Stehle, P., & Egert, S. (2017). Effects of the flavonol quercetin and α -linolenic acid on n-3 PUFA status in metabolically healthy men and women: a randomised, double-blinded, placebo-controlled, crossover trial. *The British Journal of Nutrition*, 117(5), 698–711. <https://doi.org/10.1017/S0007114517000241>
- Burdge G. C. (2006). Metabolism of alpha-linolenic acid in humans. *Prostaglandins, Leukotrienes, and Essential Fatty Acids*, 75(3), 161–168. <https://doi.org/10.1016/j.plefa.2006.05.013>
- Burr, G. O., & Burr, M. M. (1930). On the nature and role of the fatty acids essential in nutrition. *Journal of Biological Chemistry*, 86(2), 587–621. <https://www.jbc.org/content/86/2/587.short>
- Calder, P. C. (2010). Omega-3 fatty acids and inflammatory processes. *Nutrients*, 2(3), 355–374. <https://doi.org/10.3390/nu2030355>
- Camaré, C., Pucelle, M., Nègre-Salvayre, A., & Salvayre, R. (2017). Angiogenesis in the atherosclerotic plaque. *Redox Biology*, 12, 18–34. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2017.01.007>
- Carrillo, W., Carpio, C., Morales, D., Vilcacundo, E., Álvarez, M., & Silva, M. (2017). Content of fatty acids in corn (*Zea mays* L.) oil from Ecuador. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 10(8), 150–153. <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2017.v10i8.18786>
- Cassidy, A., Mukamal, K. J., Liu, L., Franz, M., Eliassen, A. H., & Rimm, E. B. (2013). High anthocyanin intake is associated with a reduced risk of myocardial infarction in young and middle-aged women. *Circulation*, 127(2), 188–196. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.112.122408>

- Castro-Barquero, S., Lamuela-Raventós, R. M., Doménech, M., & Estruch, R. (2018). Relationship between Mediterranean dietary polyphenol intake and obesity. *Nutrients*, *10*(10), 1–13. <https://doi.org/10.3390/nu10101523>
- Catapano, A. L., Graham, I., De Backer, G., Wiklund, O., Chapman, M. J., Drexel, H., Hoes, A. W., Jennings, C. S., Landmesser, U., Pedersen, T. R., Reiner, Ž., Riccardi, G., Taskinen, M. R., Tokgozoglu, L., Verschuren, W., Vlachopoulos, C., Wood, D. A., Zamorano, J. L., Cooney, M. T., & ESC scientific document group (2016). 2016 ESC/EAS guidelines for the management of dyslipidaemias. *European Heart Journal*, *37*(39), 2999–3058. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehw272>
- Cesari, M., Pahor, M., & Incalzi, R. A. (2010). Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1): a key factor linking fibrinolysis and age-related subclinical and clinical conditions. *Cardiovascular Therapeutics*, *28*(5), e72–e91. <https://doi.org/10.1111/j.1755-5922.2010.00171.x>
- Chang, Y. C., Huang, K. X., Huang, A. C., Ho, Y. C., & Wang, C. J. (2006). Hibiscus anthocyanins-rich extract inhibited LDL oxidation and oxLDL-mediated macrophages apoptosis. *Food and Chemical Toxicology: an International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association*, *44*(7), 1015–1023. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2005.12.006>
- Channon, K. M., & Guzik, T. J. (2002). Mechanisms of superoxide production in human blood vessels: relationship to endothelial dysfunction, clinical and genetic risk factors. *Journal of Physiology and Pharmacology: an Official Journal of the Polish Physiological Society*, *53*(4 Pt 1), 515–524.
- Chiang, J. (2014). Liver physiology: metabolism and detoxification. In *Pathobiology of human disease: A dynamic encyclopedia of disease mechanisms*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386456-7.04202-7>
- Chilton, F. H., Murphy, R. C., Wilson, B. A., Sergeant, S., Ainsworth, H., Seeds, M. C., & Mathias, R. A. (2014). Diet-gene interactions and PUFA metabolism: A potential contributor to health disparities and human diseases. *Nutrients*, *6*(5), 1993–2022. <https://doi.org/10.3390/nu6051993>
- Chusyd, D. E., Wang, D., Huffman, D. M., & Nagy, T. R. (2016). Relationships between rodent white adipose fat pads and human white adipose fat depots. *Frontiers in Nutrition*, *3*, 10. <https://doi.org/10.3389/fnut.2016.00010>
- Cole, A. S., & Eastoe, J. E. (2014). *Biochemistry and oral biology*. Butterworth-Heinemann.
- Cooper, G. M. (2000). *The cell: a molecular approach* (2nd ed.). Sinauer Associates.
- Cox, R. A., & García-Palmieri, M. R. (1990). Cholesterol, triglycerides, and associated lipoproteins. *Clinical Methods: the History, Physical, and Laboratory Examinations*, *3*, 153–160.
- Crocker, E. L. (1998). Cholesterol function in plasma membranes from ectotherms: Membrane-specific roles in adaptation to temperature. *American Zoologist*, *38*(2), 291–304. <https://doi.org/10.1093/icb/38.2.291>
- Csige, I., Ujvárosy, D., Szabó, Z., Lőrincz, I., Paragh, G., Harangi, M., & Somodi, S. (2018). The impact of obesity on the cardiovascular system. *Journal of Diabetes Research*, *2018*, 3407306. <https://doi.org/10.1155/2018/3407306>
- Das, U. (2006). Essential fatty acids - a review. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, *7*(6), 467–482. <https://doi.org/10.2174/138920106779116856>
- dela Paz, N. G., & D'Amore, P. A. (2009). Arterial versus venous endothelial cells. *Cell and Tissue Research*, *335*(1), 5–16. <https://doi.org/10.1007/s00441-008-0706-5>

- D'Elia, L., Barba, G., Cappuccio, F. P., & Strazzullo, P. (2011). Potassium intake, stroke, and cardiovascular disease a meta-analysis of prospective studies. *Journal of the American College of Cardiology*, *57*(10), 1210–1219. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2010.09.070>
- Del Gobbo, L. C., Imamura, F., Aslibekyan, S., Marklund, M., Virtanen, J. K., Wennberg, M., ... & Fretts, A. M. (2016). Ω -3 polyunsaturated fatty acid biomarkers and coronary heart disease: pooling project of 19 cohort studies. *JAMA Internal Medicine*, *176*(8), 1155–1166. <https://jamanetwork.com/journals/jamainternalmedicine/article-abstract/2530286>
- de Oliveira Otto, M. C., Wu, J. H. Y., Baylin, A., Vaidya, D., Rich, S. S., Tsai, M. Y., Jacobs, D. R., & Mozaffarian, D. (2013). Circulating and dietary omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids and incidence of CVD in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Journal of the American Heart Association*, *2*(6), e000506. <https://doi.org/10.1161/JAHA.113.000506>
- Didenko, V. V. (2001). Dna probes using fluorescence resonance energy transfer (fret): Designs and applications. *BioTechniques*, *31*(5), 1106–1121. <https://doi.org/10.2144/01315rv02>
- Dietschy J. M. (1984). Regulation of cholesterol metabolism in man and in other species. *Klinische Wochenschrift*, *62*(8), 338–345. <https://doi.org/10.1007/BF01716251>
- Di Giosia, P., Giorgini, P., Stamerra, C. A., Petrarca, M., Ferri, C., & Sahebkar, A. (2018). Gender differences in epidemiology, pathophysiology, and treatment of hypertension. *Current Atherosclerosis Reports*, *20*(3), 13. <https://doi.org/10.1007/s11883-018-0716-z>
- Ding, Y., Vaziri, N. D., Coulson, R., Kamanna, V. S., & Roh, D. D. (2000). Effects of stimulated hyperglycemia, insulin, and glucagon on endothelial nitric oxide synthase expression. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*, *279*(1), 11–17. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.2000.279.1.e11>
- Dorđević, V., Gvozdencov, Maja., Pruner, I., Tomić, B., Kovač, M., Antonijević, N., Radojković, D.(2013). Učestalost PAI-1 4g/5g genske varijante u srpskoj populaciji. *Medicinski Glasnik/Medical Gazette*, *18*(49), 28–41. <http://scindeks.ceon.rs/article.aspx?artid=1452-09231349028D>
- Djoussé, L., Matsumoto, C., Hanson, N. Q., Weir, N. L., Tsai, M. Y., & Gaziano, J. M. (2014). Plasma cis-vaccenic acid and risk of heart failure with antecedent coronary heart disease in male physicians. *Clinical Nutrition (Edinburgh, Scotland)*, *33*(3), 478–482. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2013.07.001>
- Djoussé, L., Weir, N. L., Hanson, N. Q., Tsai, M. Y., & Gaziano, J. M. (2012). Plasma phospholipid concentration of cis-palmitoleic acid and risk of heart failure. *Circulation Heart Failure*, *5*(6), 703–709. <https://doi.org/10.1161/CIRCHEARTFAILURE.112.967802>
- Dos Santos, R. L., Da Silva, F. B., Ribeiro, R. F., & Stefanon, I. (2014). Sex hormones in the cardiovascular system. *Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation*, *18*(2), 89–103. <https://doi.org/10.1515/hmbci-2013-0048>
- Du, X. L., Edelstein, D., Dimmeler, S., Ju, Q., Sui, C., & Brownlee, M. (2001). Hyperglycemia inhibits endothelial nitric oxide synthase activity by posttranslational modification at the Akt site. *Journal of Clinical Investigation*, *108*(9), 1341–1348. <https://doi.org/10.1172/JCI11235>
- Eguchi, A., Mulya, A., Lazic, M., Radhakrishnan, D., Berk, M. P., Povero, D., Gornicka, A., & Feldstein, A. E. (2015). Microparticles release by adipocytes act as “find-me” signals to promote macrophage migration. *PLoS ONE*, *10*(4), 1–19. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0123110>
- Esteve, E., Castro, A., López-Bermejo, A., Vendrell, J., Ricart, W., & Fernández-Real, J. M. (2007). Serum interleukin-6 correlates with endothelial dysfunction in healthy men independently of insulin

sensitivity. *Diabetes Care*, 30(4), 939–945. <https://doi.org/10.2337/dc06-1793>

- Evans, A. J., Sawyez, C. G., Wolfe, B. M., Connelly, P. W., Maguire, G. F., & Huff, M. W. (1993). Evidence that cholesteryl ester and triglyceride accumulation in J774 macrophages induced by very low density lipoprotein subfractions occurs by different mechanisms. *Journal of lipid research*, 34(5), 703–717.
- Fairlie-Jones, L., Davison, K., Fromentin, E., & Hill, A. M. (2017). The effect of anthocyanin-rich foods or extracts on vascular function in adults: a systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *Nutrients*, 9(8), 908. <https://doi.org/10.3390/nu9080908>
- Farhat, G., Drummond, S., & Al-Dujaili, E. A. S. (2017). Polyphenols and their role in obesity management: a systematic review of randomized clinical trials. *Phytotherapy Research*, 31(7), 1005–1018. <https://doi.org/10.1002/ptr.5830>
- Fekete, K., Györei, E., Lohner, S., Verduci, E., Agostoni, C., & Decsi, T. (2015). Long-chain polyunsaturated fatty acid status in obesity: a systematic review and meta-analysis. *Obesity Reviews: an Official Journal of the International Association for the Study of Obesity*, 16(6), 488–497. <https://doi.org/10.1111/obr.12280>
- Fenner, J., & Clark, R. A. (2016). Anatomy, physiology, histology, and immunohistochemistry of human skin. In Albanna, M. & Holmes, J. (Eds.), *Skin tissue engineering and regenerative medicine* (pp. 1–17). Academic Press.
- Ferreri, C., Masi, A., Sansone, A., Giacometti, G., Larocca, A., Menounou, G., Scanferlato, R., Tortorella, S., Rota, D., Conti, M., Deplano, S., Louka, M., Maranini, A., Salati, A., Sunda, V., & Chatgililoglu, C. (2016). Fatty acids in membranes as homeostatic, metabolic and nutritional biomarkers: recent advancements in analytics and diagnostics. *Diagnostics*, 7(1), 1. <https://doi.org/10.3390/diagnostics7010001>
- Filippini, T., Violi, F., D'Amico, R., & Vinceti, M. (2017). The effect of potassium supplementation on blood pressure in hypertensive subjects: A systematic review and meta-analysis. *International Journal of Cardiology*, 230, 127–135. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2016.12.048>
- Folch, J., Lees, M., & Sloane Stanley, G. H. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *The Journal of Biological Chemistry*, 226(1), 497–509.
- Fraga, C. G., Croft, K. D., Kennedy, D. O., & Tomás-Barberán, F. A. (2019). The effects of polyphenols and other bioactives on human health. *Food and Function*, 10(2), 514–528. <https://doi.org/10.1039/c8fo01997e>
- Francik, R., Krośniak, M., Sanocka, I., Bartoń, H., Hebda, T., & Francik, S. (2014). Aronia melanocarpa treatment and antioxidant status in selected tissues in Wistar rats. *BioMed Research International*, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/457085>
- Fretts, A. M., Mozaffarian, D., Siscovick, D. S., Djousse, L., Heckbert, S. R., King, I. B., McKnight, B., Sitlani, C., Sacks, F. M., Song, X., Sotoodehnia, N., Spiegelman, D., Wallace, E. R., & Lemaitre, R. N. (2014). Plasma phospholipid saturated fatty acids and incident atrial fibrillation: The Cardiovascular health study. *Journal of the American Heart Association*, 3(3), 1–10. <https://doi.org/10.1161/JAHA.114.000889>
- Gao, S., Zhao, D., Wang, M., Zhao, F., Han, X., Qi, Y., & Liu, J. (2017). Association between circulating oxidized LDL and atherosclerotic cardiovascular disease: a meta-analysis of observational studies. *The Canadian Journal of Cardiology*, 33(12), 1624–1632. <https://doi.org/10.1016/j.cjca.2017.07.015>

- Garavaglia, J., Markoski, M. M., Oliveira, A., & Marcadenti, A. (2016). Grape seed oil compounds: Biological and chemical actions for health. *Nutrition and Metabolic Insights*, 9, 59–64. <https://doi.org/10.4137/NMIS32910>
- García-Conesa, M. T., Chambers, K., Combet, E., Pinto, P., Garcia-Aloy, M., Andrés-Lacueva, C., de Pascual-Teresa, S., Mena, P., Konic Ristic, A., Hollands, W. J., Kroon, P. A., Rodríguez-Mateos, A., Istas, G., Kontogiorgis, C. A., Rai, D. K., Gibney, E. R., Morand, C., Espín, J. C., & González-Sarrías, A. (2018). Meta-analysis of the effects of foods and derived products containing ellagitannins and anthocyanins on cardiometabolic biomarkers: analysis of factors influencing variability of the individual responses. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(3), 694. <https://doi.org/10.3390/ijms19030694>
- Garfinkle M. A. (2017). Salt and essential hypertension: pathophysiology and implications for treatment. *Journal of the American Society of Hypertension: JASH*, 11(6), 385–391. <https://doi.org/10.1016/j.jash.2017.04.006>
- Gianturco, S. H., Bradley, W. A., Gotto, A. M., Jr, Morrisett, J. D., & Peavy, D. L. (1982). Hypertriglyceridemic very low density lipoproteins induce triglyceride synthesis and accumulation in mouse peritoneal macrophages. *The Journal of clinical investigation*, 70(1), 168–178. <https://doi.org/10.1172/jci110590>
- Giglio, R. V., Patti, A. M., Cicero, A., Lippi, G., Rizzo, M., Toth, P. P., & Banach, M. (2018). Polyphenols: potential use in the prevention and treatment of cardiovascular diseases. *Current Pharmaceutical Design*, 24(2), 239–258. <https://doi.org/10.2174/1381612824666180130112652>
- Gillingham, L. G., Harding, S. V., Rideout, T. C., Yurkova, N., Cunnane, S. C., Eck, P. K., & Jones, P. J. (2013). Dietary oils and FADS1-FADS2 genetic variants modulate [¹³C]α-linolenic acid metabolism and plasma fatty acid composition. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 97(1), 195–207. <https://doi.org/10.3945/ajcn.112.043117>
- Ginsberg H. N. (1994). Lipoprotein metabolism and its relationship to atherosclerosis. *The Medical clinics of North America*, 78(1), 1–20. [https://doi.org/10.1016/s0025-7125\(16\)30174-2](https://doi.org/10.1016/s0025-7125(16)30174-2)
- Glaser, C., Lattka, E., Rzehak, P., Steer, C., & Koletzko, B. (2011). Genetic variation in polyunsaturated fatty acid metabolism and its potential relevance for human development and health. *Maternal and Child Nutrition*, 7(SUPPL. 2), 27–40. <https://doi.org/10.1111/j.1740-8709.2011.00319.x>
- Godos, J., Vitale, M., Micek, A., Ray, S., Martini, D., Del Rio, D., Riccardi, G., Galvano, F., & Grosso, G. (2019). Dietary polyphenol intake, blood pressure, and hypertension: A systematic review and meta-analysis of observational studies. *Antioxidants*, 8(6), 1–21. <https://doi.org/10.3390/antiox8060152>
- Goldstein, J. L., & Brown, M. S. (2009). The LDL receptor. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 29(4), 431–438. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.108.179564>
- Gomes, R. N., Souza, F. da C., & Colquhoun, A. (2018). Eicosanoids and cancer. *Clinics*, 73(17), 1–10. <https://doi.org/10.6061/clinics/2018/e530s>
- Goñi, F. M. (2014). The basic structure and dynamics of cell membranes: An update of the Singer-Nicolson model. *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes*, 1838(6), 1467–1476. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2014.01.006>
- Grabež, M., Škrbić, R., Stojiljković, M. P., Rudić-Grujić, V., Paunović, M., Arsić, A., ... & Menković, N. (2020). Beneficial effects of pomegranate peel extract on plasma lipid profile, fatty acids levels and blood pressure in patients with diabetes mellitus type-2: A randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Journal of Functional Foods*, 64, 103692.

<https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.103692>

- Groves, J. T., & Kuriyan, J. (2010). Molecular mechanisms in signal transduction at the membrane. *Nature Structural and Molecular Biology*, 17(6), 659–665. <https://doi.org/10.1038/nsmb.1844>
- Guijas, C., Astudillo, A. M., Gil-De-Gómez, L., Rubio, J. M., Balboa, M. A., & Balsinde, J. (2012). Phospholipid sources for adrenergic acid mobilization in RAW 264.7 macrophages. Comparison with arachidonic acid. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1821(11), 1386–1393. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2012.07.010>
- Guo, J., Shu, G., Zhou, L., Zhu, X., Liao, W., Wang, S., ... & Zhang, Y. (2013). Selective transport of long-chain fatty acids by FAT/CD36 in skeletal muscle of broilers. *Animal*, 7(3), 422–429. <https://www.cambridge.org/core/journals/animal/article/selective-transport-of-longchain-fatty-acids-by-fatcd36-in-skeletal-muscle-of-broilers/03C348C0756019ED1B18D1327CC160D3>
- Gurinović, M., Milešević, J., Kadvan, A., Nikolić, M., Zeković, M., Djekić-Ivanković, M., Dupouy, E., Finglas, P., & Glibetić, M. (2018). Development, features and application of DIET ASSESS & PLAN (DAP) software in supporting public health nutrition research in Central Eastern European Countries (CEEC). *Food Chemistry*, 238, 186–194. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.114>
- Gurinović, M., Milešević, J., Kadvan, A., Djekić-Ivanković, M., Debeljak-Martačić, J., Takić, M., Nikolić, M., Ranković, S., Finglas, P., & Glibetić, M. (2016). Establishment and advances in the online Serbian food and recipe data base harmonized with EuroFIR™ standards. *Food Chemistry*, 193, 30–38. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.01.107>
- Guyton, A. (1963). *Medicinska fiziologija (Medical Physiology)*. Zagreb—Beograd, Medicinska knjiga.
- Haczeyni, F., Bell-Anderson, K. S., & Farrell, G. C. (2018). Causes and mechanisms of adipocyte enlargement and adipose expansion. *Obesity Reviews*, 19(3), 406–420. <https://doi.org/10.1111/obr.12646>
- Hadley, K. B., Ryan, A. S., Forsyth, S., Gautier, S., & Salem, N. (2016). The essentiality of arachidonic acid in infant development. *Nutrients*, 8(4). <https://doi.org/10.3390/nu8040216>
- Han, M., Li, Q., Liu, L., Zhang, D., Ren, Y., Zhao, Y., Liu, D., Liu, F., Chen, X., Cheng, C., Guo, C., Zhou, Q., Tian, G., Qie, R., Huang, S., Wu, X., Liu, Y., Li, H., Sun, X., Zhang, M., ... Hu, D. (2019). Prehypertension and risk of cardiovascular diseases: a meta-analysis of 47 cohort studies. *Journal of Hypertension*, 37(12), 2325–2332. <https://doi.org/10.1097/HJH.0000000000002191>
- Hastert, T. A., De Oliveira Otto, M. C., Lê-Scherban, F., Steffen, B. T., Steffen, L. M., Tsai, M. Y., Jacobs, D. R., & Baylin, A. (2018). Association of plasma phospholipid polyunsaturated and trans fatty acids with body mass index: Results from the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *International Journal of Obesity*, 42(3), 433–440. <https://doi.org/10.1038/ijo.2017.282>
- He, Z., Zhang, R., Jiang, F., Zhang, H., Zhao, A., Xu, B., Jin, L., Wang, T., Jia, W., Jia, W., & Hu, C. (2018). *FADS1-FADS2* genetic polymorphisms are associated with fatty acid metabolism through changes in DNA methylation and gene expression. *Clinical Epigenetics*, 10(1), 113. <https://doi.org/10.1186/s13148-018-0545-5>
- Hill, J. O., Wyatt, H. R., & Peters, J. C. (2012). Energy balance and obesity. *Circulation*, 126(1), 126–132. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.111.087213>
- Holick, M. F., Frommer, J. E., McNeill, S. C., Richtand, N. M., Henley, J. W., & Potts, J. T., Jr (1977). Photometabolism of 7-dehydrocholesterol to previtamin D3 in skin. *Biochemical and biophysical research communications*, 76(1), 107–114. [https://doi.org/10.1016/0006-291x\(77\)91674-6](https://doi.org/10.1016/0006-291x(77)91674-6)

- Holman, R. T., Johnson, S. B., & Hatch, T. F. (1982). A case of human linolenic acid deficiency involving neurological abnormalities. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 35(3), 617–623. <https://doi.org/10.1093/ajcn/35.3.617>
- Holman R. T. (1998). The slow discovery of the importance of omega 3 essential fatty acids in human health. *The Journal of Nutrition*, 128(2 Suppl), 427S–433S. <https://doi.org/10.1093/jn/128.2.427S>
- Holt, A. W., & Tulis, D. A. (2015). Vascular smooth muscle as a therapeutic target in disease pathology. *Muscle Cell and Tissue*, 3–26.
- Holvoet, P., Lee, D. H., Steffes, M., Gross, M., & Jacobs, D. R., Jr (2008). Association between circulating oxidized low-density lipoprotein and incidence of the metabolic syndrome. *Journal of the American Medical Association*, 299(19), 2287–2293. <https://doi.org/10.1001/jama.299.19.2287>
- Houston, M. C., & Harper, K. J. (2008). Potassium, magnesium, and calcium: their role in both the cause and treatment of hypertension. *Journal of Clinical Hypertension (Greenwich, Conn.)*, 10(7 Suppl 2), 3–11. <https://doi.org/10.1111/j.1751-7176.2008.08575.x>
- Huang, H., Ma, R., Liu, D., Liu, C., Ma, Y., Mai, W., & Dong, Y. (2012). Oxidized low-density lipoprotein cholesterol and the ratio in the diagnosis and evaluation of therapeutic effect in patients with coronary artery disease. *Disease Markers*, 33(6), 295–302. <https://www.hindawi.com/journals/dm/2012/167143/abs/>.
- Huang, Y., Wang, S., Cai, X., Mai, W., Hu, Y., Tang, H., & Xu, D. (2013). Prehypertension and incidence of cardiovascular disease: A meta-analysis. *BMC Medicine*, 11(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/1741-7015-11-177>
- Huang, Y., Cai, X., Mai, W., Li, M., & Hu, Y. (2016). Association between prediabetes and risk of cardiovascular disease and all cause mortality: systematic review and meta-analysis. *British Medical Journal (Clinical research ed.)*, 355, i5953. <https://doi.org/10.1136/bmj.i5953>
- Huff, M. W., Evans, A. J., Sawyez, C. G., Wolfe, B. M., & Nestel, P. J. (1991). Cholesterol accumulation in J774 macrophages induced by triglyceride-rich lipoproteins. Comparison of very low density lipoprotein from subjects with type III, IV, and V hyperlipoproteinemias. *Arteriosclerosis and thrombosis : a journal of vascular biology*, 11(2), 221–233. <https://doi.org/10.1161/01.atv.11.2.221>
- Hu, W., Fitzgerald, M., Topp, B., Alam, M., & O'Hare, T. J. (2019). A review of biological functions, health benefits, and possible de novo biosynthetic pathway of palmitoleic acid in macadamia nuts. *Journal of Functional Foods*, 62, 103520. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S175646461930444X>
- Ighodaro, O. M., & Akinloye, O. A. (2018). First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine*, 54(4), 287–293. <https://doi.org/10.1016/j.ajme.2017.09.001>
- Imamura, F., Sharp, S. J., Koulman, A., Schulze, M. B., Kröger, J., Griffin, J. L., ... & Ardanaz, E. (2017). A combination of plasma phospholipid fatty acids and its association with incidence of type 2 diabetes: The EPIC-InterAct case-cohort study. *PLoS Medicine*, 14(10), e1002409. <https://journals.plos.org/plosmedicine/article?id=10.1371/journal.pmed.1002409>.
- Itabe, H., Obama, T., & Kato, R. (2011). The dynamics of oxidized LDL during atherogenesis. *Journal of Lipids*, 2011, 1–9. <https://doi.org/10.1155/2011/418313>
- Johns, I., Frost, G., & Dornhorst, A. (2019). Increasing the proportion of plasma MUFA, as a result of dietary intervention, is associated with a modest improvement in insulin sensitivity. *Journal of*

- Jurikova, T., Mlcek, J., Skrovankova, S., Sumczynski, D., Sochor, J., Hlavacova, I., Snopek, L., & Orsavova, J. (2017). Fruits of black chokeberry *Aronia melanocarpa* in the prevention of chronic diseases. *Molecules*, 22(6), 1–23. <https://doi.org/10.3390/molecules22060944>
- Kamboj, A., Gupta, R., Rana, A., & Kaur, R. (2015). Application and analysis of the Folin Ciocalteu method for the determination of the total phenolic content from extracts of *Terminalia bellerica*. *European Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*, 2(3), 201–215.
- Kardum, N., Petrović-Oggiano, G., Takic, M., Glibetić, N., Zec, M., Debeljak-Martacic, J., & Konić-Ristić, A. (2014a). Effects of glucomannan-enriched, aronia juice-based supplement on cellular antioxidant enzymes and membrane lipid status in subjects with abdominal obesity. *Scientific World Journal*, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/869250>
- Kardum, N., Takić, M., Šavikin, K., Zec, M., Zdunić, G., Spasić, S., & Konić-Ristić, A. (2014b). Effects of polyphenol-rich chokeberry juice on cellular antioxidant enzymes and membrane lipid status in healthy women. *Journal of Functional Foods*, 9(1), 89–97. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.04.019>
- Kardum, N., Milovanović, B., Šavikin, K., Zdunić, G., Mutavdžin, S., Gligorijević, T., & Spasić, S. (2015). Beneficial effects of polyphenol-rich chokeberry juice consumption on blood pressure level and lipid status in hypertensive subjects. *Journal of Medicinal Food*, 18(11), 1231–1238. <https://doi.org/10.1089/jmf.2014.0171>
- Kardum, N., Konić-Ristić, A., Zec, M., Kojadinović, M., Petrovic-Oggiano, G., Zekovic, M., Kroon, P. A., & Glibetić, M. (2017). Design, formulation and sensory evaluation of a polyphenol-rich food placebo: an example of aronia juice for food intervention studies. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 68(6), 742–749. <https://doi.org/10.1080/09637486.2017.1283682>
- Kawashima, H. (2019). Intake of arachidonic acid-containing lipids in adult humans: Dietary surveys and clinical trials. *Lipids in Health and Disease*, 18(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/s12944-019-1039-y>
- Kemeny, S. F., Figueroa, D. S., & Clyne, A. M. (2013). Hypo- and hyperglycemia impair endothelial cell actin alignment and nitric oxide synthase activation in response to shear stress. *PLoS ONE*, 8(6), e66176. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0066176>
- Khaw, K. T., Friesen, M. D., Riboli, E., Luben, R., & Wareham, N. (2012). Plasma phospholipid fatty acid concentration and incident coronary heart disease in men and women: the EPIC-Norfolk prospective study. *PLoS Medicine*, 9(7), e1001255. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1001255>
- Khoo, H. E., Azlan, A., Tang, S. T., & Lim, S. M. (2017). Anthocyanidins and anthocyanins: colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. *Food & Nutrition Research*, 61(1), 1361779. <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/16546628.2017.1361779>
- Kim, J. H., Auger, C., Kurita, I., Anselm, E., Rivoarilala, L. O., Lee, H. J., Lee, K. W., & Schini-Kerth, V. B. (2013). *Aronia melanocarpa* juice, a rich source of polyphenols, induces endothelium-dependent relaxations in porcine coronary arteries via the redox-sensitive activation of endothelial nitric oxide synthase. *Nitric Oxide : Biology and Chemistry*, 35, 54–64. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2013.08.002>
- Kim, B., Park, Y., Wegner, C. J., Bolling, B. W., & Lee, J. (2013). Polyphenol-rich black chokeberry (*Aronia melanocarpa*) extract regulates the expression of genes critical for intestinal cholesterol flux in Caco-2 cells. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 24(9), 1564–1570. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2013.01.005>

- Kim, S. H., Chung, J. H., Song, S. W., Jung, W. S., Lee, Y. A., & Kim, H. N. (2016). Relationship between deep subcutaneous abdominal adipose tissue and metabolic syndrome: A case control study. *Diabetology and Metabolic Syndrome*, 8(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/s13098-016-0127-7>
- Kim, Y., & Je, Y. (2016). Dietary fibre intake and mortality from cardiovascular disease and all cancers: A meta-analysis of prospective cohort studies. *Archives of Cardiovascular Diseases*, 109(1), 39–54. <https://doi.org/10.1016/j.acvd.2015.09.005>
- Kim, B., Bae, M., Park, Y. K., Ma, H., Yuan, T., Seeram, N. P., & Lee, J. Y. (2018). Blackcurrant anthocyanins stimulated cholesterol transport via post-transcriptional induction of LDL receptor in Caco-2 cells. *European Journal of Nutrition*, 57(1), 405–415. <https://doi.org/10.1007/s00394-017-1506-z>
- Kim, N. H., Jegal, J., Kim, Y. N., Heo, J. D., Rho, J. R., Yang, M. H., & Jeong, E. J. (2018a). Chokeberry extract and its active polyphenols suppress adipogenesis in 3T3-L1 adipocytes and modulates fat accumulation and insulin resistance in diet-induced obese mice. *Nutrients*, 10(11), 1–14. <https://doi.org/10.3390/nu10111734>
- Kim, N. H., Jegal, J., Kim, Y. N., Chung, D. M., Heo, J. D., Rho, J. R., Yang, M. H., & Jeong, E. J. (2018b). Antiobesity effect of fermented chokeberry extract in high-fat diet-induced obese mice. *Journal of Medicinal Food*, 21(11), 1113–1119. <https://doi.org/10.1089/jmf.2017.4124>
- Kim, M. K., Han, K., Joung, H. N., Baek, K. H., Song, K. H., & Kwon, H. S. (2019). Cholesterol levels and development of cardiovascular disease in Koreans with type 2 diabetes mellitus and without pre-existing cardiovascular disease. *Cardiovascular diabetology*, 18(1), 139. <https://doi.org/10.1186/s12933-019-0943-9>
- Kitson, A. P., Marks, K. A., Shaw, B., Mutch, D. M., & Stark, K. D. (2013). Treatment of ovariectomized rats with 17 β -estradiol increases hepatic delta-6 desaturase enzyme expression and docosahexaenoic acid levels in hepatic and plasma phospholipids. *Prostaglandins, Leukotrienes, and Essential Fatty Acids*, 89(2-3), 81–88. <https://doi.org/10.1016/j.plefa.2013.05.003>
- Klein-Wieringa, I. R., Andersen, S. N., Kwekkeboom, J. C., Giera, M., de Lange-Brokaar, B. J. E., van Osch, G. J. V. M., Zuurmond, A.-M., Stojanovic-Susulic, V., Nelissen, R. G. H. H., Pijl, H., Huizinga, T. W. J., Kloppenburg, M., Toes, R. E. M., & Ioan-Facsinay, A. (2013). Adipocytes modulate the phenotype of human macrophages through secreted lipids. *The Journal of Immunology*, 191(3), 1356–1363. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1203074>
- Kojadinović, M. I., Arsić, A. C., Debeljak-Martačić, J. D., Konić-Ristić, A. I., Kardum, N. D., Popović, T. B., & Glibetić, M. D. (2017). Consumption of pomegranate juice decreases blood lipid peroxidation and levels of arachidonic acid in women with metabolic syndrome. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(6), 1798–1804. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7977>
- Kokubo, Y., & Matsumoto, C. (2017). Hypertension Is a Risk Factor for Several Types of Heart Disease: Review of Prospective Studies. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 956, 419–426. https://doi.org/10.1007/5584_2016_99
- Koletzko, B., Lattka, E., Zeilinger, S., Illig, T., & Steer, C. (2011). Genetic variants of the fatty acid desaturase gene cluster predict amounts of red blood cell docosahexaenoic and other polyunsaturated fatty acids in pregnant women: findings from the Avon Longitudinal Study of Parents and Children. *The American journal of clinical nutrition*, 93(1), 211–219. <https://doi.org/10.3945/ajcn.110.006189>
- Koletzko, B., Reischl, E., Tanjung, C., Gonzalez-Casanova, I., Ramakrishnan, U., Meldrum, S., Simmer, K., Heinrich, J., & Demmelmair, H. (2019). FADS1 and FADS2 polymorphisms modulate fatty

- acid metabolism and dietary impact on health. *Annual Review of Nutrition*, 39(1), 21–44. <https://doi.org/10.1146/annurev-nutr-082018-124250>
- Koubaa, N., Nakbi, A., Smaoui, M., Abid, N., Chaaba, R., Abid, M., & Hammami, M. (2007). Hyperhomocysteinemia and elevated ox-LDL in Tunisian type 2 diabetic patients: role of genetic and dietary factors. *Clinical Biochemistry*, 40(13-14), 1007–1014. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2007.05.017>
- Kopf, P. G., Zhang, D. X., Gauthier, K. M., Nithipatikom, K., Yi, X. Y., Falck, J. R., & Campbell, W. B. (2010). Adrenic acid metabolites as endogenous endothelium-derived and zona glomerulosa-derived hyperpolarizing factors. *Hypertension (Dallas, Tex.: 1979)*, 55(2), 547–554. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.109.144147>
- Kowalska, K., Olejnik, A., Szwajgier, D., & Olkowicz, M. (2017). Inhibitory activity of chokeberry, bilberry, raspberry and cranberry polyphenol-rich extract towards adipogenesis and oxidative stress in differentiated 3T3-L1 adipose cells. *PLoS ONE*, 12(11), 1–15. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0188583>
- Kujawska, M., Ignatowicz, E., Ewertowska, M., Oszmiański, J., & Jodynis-Liebert, J. (2011). Protective effect of chokeberry on chemical-induced oxidative stress in rat. *Human & Experimental Toxicology*, 30(3), 199–208. <https://doi.org/10.1177/0960327110371697>
- Kwon, Y. (2020). Immuno-resolving ability of resolvins, protectins, and maresins derived from omega-3 fatty acids in metabolic syndrome. *Molecular Nutrition & Food Research*, 64(4), 1900824. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/mnfr.201900824>.
- Lange, Y., Swaisgood, M. H., Ramos, B. V., & Steck, T. L. (1989). Plasma membranes contain half the phospholipid and 90% of the cholesterol and sphingomyelin in cultured human fibroblasts. *The Journal of biological chemistry*, 264(7), 3786–3793.
- Lankinen, M. A., Fauland, A., Shimizu, B. I., Ågren, J., Wheelock, C. E., Laakso, M., Schwab, U., & Pihlajamäki, J. (2019). Inflammatory response to dietary linoleic acid depends on *FADS1* genotype. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 109(1), 165–175. <https://doi.org/10.1093/ajcn/nqy287>
- Lara-Guzmán, O. J., Gil-Izquierdo, Á., Medina, S., Osorio, E., Álvarez-Quintero, R., Zuluaga, N., Oger, C., Galano, J. M., Durand, T., & Muñoz-Durango, K. (2018). Oxidized LDL triggers changes in oxidative stress and inflammatory biomarkers in human macrophages. *Redox Biology*, 15, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2017.11.017>
- Lattka, E., Rzehak, P., Szabó, É., Jakobik, V., Weck, M., Weyermann, M., Grallert, H., Rothenbacher, D., Heinrich, J., Brenner, H., Decsi, T., Illig, T., & Koletzko, B. (2011). Genetic variants in the *FADS* gene cluster are associated with arachidonic acid concentrations of human breast milk at 1.5 and 6 mo postpartum and influence the course of milk dodecanoic, tetracosenoic, and trans-9-octadecenoic acid concentrations over the duration of lactation. *The American journal of clinical nutrition*, 93(2), 382–391. <https://doi.org/10.3945/ajcn.110.004515>
- Lee, J., Durst, R. W., & Wrolstad, R. E. (2005). Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: Collaborative study. *Journal of AOAC International*, 88(5), 1269–1278. <https://doi.org/10.1093/jaoac/88.5.1269>
- Lee, M.-H., Kwon, N., Yoon, S. R., & Kim, O. Y. (2016). Serum phospholipid docosahexaenoic acid is inversely associated with arterial stiffness in metabolically healthy men. *Clinical Nutrition Research*, 5(3), 190. <https://doi.org/10.7762/cnr.2016.5.3.190>

- Leiva, E., Wehinger, S., Guzmán, L., & Orrego, R. (2015). Role of oxidized LDL in atherosclerosis. *Hypercholesterolemia*, 55–78.
- Lemaitre, R. N., Tanaka, T., Tang, W., Manichaikul, A., Foy, M., Kabagambe, E. K., Nettleton, J. A., King, I. B., Weng, L. C., Bhattacharya, S., Bandinelli, S., Bis, J. C., Rich, S. S., Jacobs, D. R., Jr, Cherubini, A., McKnight, B., Liang, S., Gu, X., Rice, K., Laurie, C. C., ... Steffen, L. M. (2011). Genetic loci associated with plasma phospholipid n-3 fatty acids: a meta-analysis of genome-wide association studies from the CHARGE Consortium. *PLoS Genetics*, 7(7), e1002193. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002193>
- Leopold, J. A., & Loscalzo, J. (2008). Oxidative mechanisms and atherothrombotic cardiovascular disease. *Drug Discovery Today. Therapeutic Strategies*, 5(1), 5–13. <https://doi.org/10.1016/j.ddstr.2008.02.00>
- Lipiński, K., Mazur, M., Antoszkiewicz, Z., & Purwin, C. (2017). Polyphenols in monogastric nutrition - A review. *Annals of Animal Science*, 17(1), 41–58. <https://doi.org/10.1515/aoas-2016-0042>
- Liu, L. K., Lee, H. J., Shih, Y. W., Chyau, C. C., & Wang, C. J. (2008). Mulberry anthocyanin extracts inhibit LDL oxidation and macrophage-derived foam cell formation induced by oxidative LDL. *Journal of Food Science*, 73(6), H113–H121. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2008.00801.x>
- Liu, A. G., Ford, N. A., Hu, F. B., Zelman, K. M., Mozaffarian, D., & Kris-Etherton, P. M. (2017). A healthy approach to dietary fats: understanding the science and taking action to reduce consumer confusion. *Nutrition Journal*, 16(1), 53. <https://doi.org/10.1186/s12937-017-0271-4>
- Liu, L. F., Craig, C. M., Tolentino, L. L., Choi, O., Morton, J., Rivas, H., Cushman, S. W., Engleman, E. G., & McLaughlin, T. (2017). Adipose tissue macrophages impair preadipocyte differentiation in humans. *PLoS ONE*, 12(2), 1–14. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170728>
- Liu, Q., Matthan, N. R., Manson, J. E., Howard, B. V., Tinker, L. F., Neuhauser, M. L., Van Horn, L. V., Rossouw, J. E., Allison, M. A., Martin, L. W., Li, W., Snetselaar, L. G., Wang, L., Lichtenstein, A. H., & Eaton, C. B. (2019). Plasma phospholipid fatty acids and coronary heart disease risk: a matched case-control study within the Women's Health Initiative observational study. *Nutrients*, 11(7), 1672. <https://doi.org/10.3390/nu11071672>
- Lohner, S., Fekete, K., Marosvölgyi, T., & Decsi, T. (2013). Gender differences in the long-chain polyunsaturated fatty acid status: Systematic review of 51 publications. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 62(2), 98–112. <https://doi.org/10.1159/000345599>
- Longo, M., Zatterale, F., Naderi, J., Parrillo, L., Formisano, P., Raciti, G. A., Beguinot, F., & Miele, C. (2019). Adipose tissue dysfunction as determinant of obesity-associated metabolic complications. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(9), 2358. <https://doi.org/10.3390/ijms20092358>
- Loo, B. M., Erlund, I., Koli, R., Puukka, P., Hellström, J., Wähälä, K., Mattila, P., & Jula, A. (2016). Consumption of chokeberry (*Aronia mitschurinii*) products modestly lowered blood pressure and reduced low-grade inflammation in patients with mildly elevated blood pressure. *Nutrition Research*, 36(11), 1222–1230. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2016.09.005>
- Lordan, R., Tsoupras, A., & Zabetakis, I. (2017). Phospholipids of animal and marine origin: Structure, function, and anti-inflammatory properties. *Molecules*, 22(11), 1–32. <https://doi.org/10.3390/molecules22111964>
- Lü, J. M., Lin, P. H., Yao, Q., & Chen, C. (2010). Chemical and molecular mechanisms of antioxidants:

- Experimental approaches and model systems. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 14(4), 840–860. <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2009.00897.x>
- Luong, Q., & Lee, K. Y. (2018). The heterogeneity of white adipose tissue. In Szablewski, E. (Ed.), *Adipose tissue* (pp. 177–190). IntechOpen.
- Luong, Q., Huang, J., & Lee, K. Y. (2019). Deciphering white adipose tissue heterogeneity. *Biology*, 8(2), 1–14. <https://doi.org/10.3390/biology8020023>
- Lusis A. J. (2000). Atherosclerosis. *Nature*, 407(6801), 233–241. <https://doi.org/10.1038/35025203>
- Lyashenko, S., González-Fernández, M. J., Gómez-Mercado, F., Yunusova, S., Denisenko, O., & Guill-Guerrero, J. L. (2019). Ribes taxa: A promising source of γ -linolenic acid-rich functional oils. *Food Chemistry*, 301, 125309. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814619314219>
- Ma, W., Wu, J. H., Wang, Q., Lemaitre, R. N., Mukamal, K. J., Djoussé, L., King, I. B., Song, X., Biggs, M. L., Delaney, J. A., Kizer, J. R., Siscovick, D. S., & Mozaffarian, D. (2015). Prospective association of fatty acids in the de novo lipogenesis pathway with risk of type 2 diabetes: the Cardiovascular Health Study. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 101(1), 153–163. <https://doi.org/10.3945/ajcn.114.092601>
- Mach, F., Baigent, C., Catapano, A. L., Koskinas, K. C., Casula, M., Badimon, L., Chapman, M. J., De Backer, G. G., Delgado, V., Ference, B. A., Graham, I. M., Halliday, A., Landmesser, U., Mihaylova, B., Pedersen, T. R., Riccardi, G., Richter, D. J., Sabatine, M. S., Taskinen, M. R., Tokgozoglul, L., ... ESC Scientific Document Group (2020). 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk. *European heart journal*, 41(1), 111–188. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehz455>
- Maiolino, G., Rossitto, G., Caielli, P., Bisogni, V., Rossi, G. P., & Calò, L. A. (2013). The role of oxidized low-density lipoproteins in atherosclerosis: The myths and the facts. *Mediators of Inflammation*, 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/714653>
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*, 79(5), 727–747. <https://doi.org/10.1093/ajcn/79.5.727>
- Mancini, A., Imperlini, E., Nigro, E., Montagnese, C., Daniele, A., Orrù, S., & Buono, P. (2015). Biological and nutritional properties of palm oil and palmitic acid: Effects on health. *Molecules*, 20(9), 17339–17361. <https://doi.org/10.3390/molecules200917339>
- Markiewicz-Keszycka, M., Czyzak-Runowska, G., Lipinska, P., & Wójtowski, J. (2013). Fatty acid profile of milk - A review. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 57(2), 135–139. <https://doi.org/10.2478/bvip-2013-0026>
- Marks, K. A., Kitson, A. P., & Stark, K. D. (2013). Hepatic and plasma sex differences in saturated and monounsaturated fatty acids are associated with differences in expression of elongase 6, but not stearoyl-CoA desaturase in Sprague-Dawley rats. *Genes and Nutrition*, 8(3), 317–327. <https://doi.org/10.1007/s12263-012-0325-3>
- Marques, A., Peralta, M., Naia, A., Loureiro, N., & De Matos, M. G. (2018). Prevalence of adult overweight and obesity in 20 European countries, 2014. *European Journal of Public Health*, 28(2), 295–300. <https://doi.org/10.1093/eurpub/ckx143>
- Marra, C. A., & de Alaniz, M. J. (1989). Influence of testosterone administration on the biosynthesis of unsaturated fatty acids in male and female rats. *Lipids*, 24(12), 1014–1019. <https://doi.org/10.1007/BF02544071>

- Matsuzawa, Y., & Lerman, A. (2014). Endothelial dysfunction and coronary artery disease: assessment, prognosis, and treatment. *Coronary Artery Disease, 25*(8), 713–724. <https://doi.org/10.1097/MCA.000000000000178>
- Matthan, N. R., Ooi, E. M., Horn, L. Van, Neuhouwer, M. L., Woodman, R., & Lichtenstein, A. H. (2014). Plasma phospholipid fatty acid biomarkers of dietary fat quality and endogenous metabolism predict coronary heart disease risk: A nested case-control study within the women's health initiative observational study. *Journal of the American Heart Association, 3*(4), 14–16. <https://doi.org/10.1161/JAHA.113.000764>
- Mauvais-Jarvis, F., Clegg, D. J., & Hevener, A. L. (2013). The role of estrogens in control of energy balance and glucose homeostasis. *Endocrine Reviews, 34*(3), 309–338. <https://doi.org/10.1210/er.2012-1055>
- Mavri, A., Alessi, M. C., Bastelica, D., Geel-Georgelin, O., Fina, F., Sentocnik, J. T., Stegnar, M., & Juhan-Vague, I. (2001). Subcutaneous abdominal, but not femoral fat expression of plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) is related to plasma PAI-1 levels and insulin resistance and decreases after weight loss. *Diabetologia, 44*(11), 2025–2031. <https://doi.org/10.1007/s001250100007>
- McCord J. M. (1983). The superoxide free radical: its biochemistry and pathophysiology. *Surgery, 94*(3), 412–414.
- McCullough, M. L., Peterson, J. J., Patel, R., Jacques, P. F., Shah, R., & Dwyer, J. T. (2012). Flavonoid intake and cardiovascular disease mortality in a prospective cohort of US adults. *The American Journal of Clinical Nutrition, 95*(2), 454–464. <https://doi.org/10.3945/ajcn.111.016634>
- McEniery, C. M., Cockcroft, J. R., Roman, M. J., Franklin, S. S., & Wilkinson, I. B. (2014). Central blood pressure: Current evidence and clinical importance. *European Heart Journal, 35*(26), 1719–1725. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehz565>
- Meldrum, D. R., Morris, M. A., & Gambone, J. C. (2017). Obesity pandemic: causes, consequences, and solutions—but do we have the will? *Fertility and Sterility, 107*(4), 833–839. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2017.02.104>
- Merino, D. M., Johnston, H., Clarke, S., Roke, K., Nielsen, D., Badawi, A., El-Sohemy, A., Ma, D. W. L., & Mutch, D. M. (2011). Polymorphisms in *FADS1* and *FADS2* alter desaturase activity in young Caucasian and Asian adults. *Molecular Genetics and Metabolism, 103*(2), 171–178. <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2011.02.012>
- Milenković, D., Morand, C., Cassidy, A., Konic-Ristic, A., Tomás-Barberán, F., Ordovas, J. M., Kroon, P., De Caterina, R., & Rodriguez-Mateos, A. (2017). Interindividual variability in biomarkers of cardiometabolic health after consumption of major plant-food bioactive compounds and the determinants involved. *Advances in Nutrition (Bethesda, Md.), 8*(4), 558–570. <https://doi.org/10.3945/an.116.013623>
- Minihane, A. M. (2016). Impact of genotype on EPA and DHA status and responsiveness to increased intakes. *Nutrients, 8*(3), 1–11. <https://doi.org/10.3390/nu8030123>
- Miyatani, S., Yamamoto, K., Nakayama, T., Kinoshita, A., & Shibahara, A. (2001). Occurrence of cis-vaccenic acid in root vegetables. *Japanese Journal of Food Chemistry, 8*, 184–188.
- Moltó-Puigmartí, C., Plat, J., Mensink, R. P., Müller, A., Jansen, E., Zeegers, M. P., & Thijs, C. (2010). *FADS1* *FADS2* gene variants modify the association between fish intake and the docosahexaenoic acid proportions in human milk. *The American journal of clinical nutrition, 91*(5), 1368–1376. <https://doi.org/10.3945/ajcn.2009.28789>

- Moncada, S., & Higgs, E. A. (2006). The discovery of nitric oxide and its role in vascular biology. *British Journal of Pharmacology*, *147*(1), 193–201. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0706458>
- Morin, S. J., Gaziano, J. M., & Djoussé, L. (2018). Relation between plasma phospholipid oleic acid and risk of heart failure. *European Journal of Nutrition*, *57*(8), 2937–2942. <https://doi.org/10.1007/s00394-017-1565-1>
- Mundi, S., Massaro, M., Scoditti, E., Carluccio, M. A., Van Hinsbergh, V. W. M., Iruela-Arispe, M. L., & De Caterina, R. (2018). Endothelial permeability, LDL deposition, and cardiovascular risk factors—A review. *Cardiovascular Research*, *114*(1), 35–52. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvx226>
- Muntner, P., Shimbo, D., Carey, R. M., Charleston, J. B., Gaillard, T., Misra, S., Myers, M. G., Ogedegbe, G., Schwartz, J. E., Townsend, R. R., Urbina, E. M., Viera, A. J., White, W. B., & Wright, J. T. (2019). Measurement of blood pressure in humans: A scientific statement from the American Heart Association. *Hypertension*, *73*(5), E35–E66. <https://doi.org/10.1161/HYP.0000000000000087>
- Naik, B., & Kumar, V. (2014). Cocoa butter and its alternatives: a review. *Journal of Bioresource Engineering and Technology*, *1*, 7–17.
- Naruszewicz, M., Łaniewska, I., Millo, B., & Dłużniewski, M. (2007). Combination therapy of statin with flavonoids rich extract from chokeberry fruits enhanced reduction in cardiovascular risk markers in patients after myocardial infarction (MI). *Atherosclerosis*, *194*(2), 179–184. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2006.12.032>
- Navale, A. M., & Paranjape, A. N. (2016). Glucose transporters: physiological and pathological roles. *Biophysical Reviews*, *8*(1), 5–9. <https://doi.org/10.1007/s12551-015-0186-2>
- Navarese, E. P., Robinson, J. G., Kowalewski, M., Kolodziejczak, M., Andreotti, F., Bliden, K., Tantry, U., Kubica, J., Raggi, P., & Gurbel, P. A. (2018). Association Between Baseline LDL-C Level and Total and Cardiovascular Mortality After LDL-C Lowering: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA*, *319*(15), 1566–1579. <https://doi.org/10.1001/jama.2018.2525>
- Nelson R. H. (2013). Hyperlipidemia as a risk factor for cardiovascular disease. *Primary Care*, *40*(1), 195–211. <https://doi.org/10.1016/j.pop.2012.11.003>
- Omar, N. N., EL Hefnawy, M. H., EL Soda, M. F., Heider, N. M., & Hamed, H. I. (2017). Assessment of oxLDL, anti-oxLDL antibodies and lipoprotein-associated phospholipase A2 as cardiovascular risk markers in obese adolescents with and without T1DM. *Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University*, *55*(2), 325–331. <https://doi.org/10.1016/j.bfopcu.2017.05.002>
- Onakpoya, I., Posadzki, P., & Ernst, E. (2014). The efficacy of glucomannan supplementation in overweight and obesity: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *Journal of the American College of Nutrition*, *33*(1), 70–78. <https://doi.org/10.1080/07315724.2014.870013>
- O'Neill, C. M., & Minihane, A. M. (2017). The impact of fatty acid desaturase genotype on fatty acid status and cardiovascular health in adults. *The Proceedings of the Nutrition Society*, *76*(1), 64–75. <https://doi.org/10.1017/S0029665116000732>
- Orsavova, J., Misurcova, L., Vavra Ambrozova, J., Vicha, R., & Mlcek, J. (2015). Fatty acids composition of vegetable oils and its contribution to dietary energy intake and dependence of cardiovascular mortality on dietary intake of fatty acids. *International Journal of Molecular Sciences*, *16*(6), 12871–12890. <https://doi.org/10.3390/ijms160612871>
- Ouchi, N., Parker, J. L., Lugus, J. J., & Walsh, K. (2011). Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nature Reviews Immunology*, *11*(2), 85–97. <https://doi.org/10.1038/nri2921>

- Ounnas, F., de Lorgeril, M., Salen, P., Laporte, F., Calani, L., Mena, P., Brighenti, F., Del Rio, D., & Demeilliers, C. (2017). Rye polyphenols and the metabolism of n-3 fatty acids in rats: a dose dependent fatty fish-like effect. *Scientific Reports*, 7, 40162. <https://doi.org/10.1038/srep40162>
- Pandey, K. B., & Rizvi, S. I. (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2(5), 270–278. <https://doi.org/10.4161/oxim.2.5.9498>
- Pang, Y., Kartsonaki, C., Du, H., Millwood, I. Y., Guo, Y., Chen, Y., Bian, Z., Yang, L., Walters, R., Bragg, F., Lv, J., Yu, C., Chen, J., Peto, R., Clarke, R., Collins, R., Bennett, D. A., Li, L., Holmes, M. V., & Chen, Z. (2019). Physical activity, sedentary leisure time, circulating metabolic markers, and risk of major vascular diseases. *Circulation: Genomic and Precision Medicine*, 12(9), 386–396. <https://doi.org/10.1161/CIRCGEN.118.002527>
- Pérez-Jiménez, J., Neveu, V., Vos, F., & Scalbert, A. (2010). Identification of the 100 richest dietary sources of polyphenols: An application of the Phenol-Explorer database. *European Journal of Clinical Nutrition*, 64, S112–S120. <https://doi.org/10.1038/ejcn.2010.221>
- Pérez-López, F. R., Larrad-Mur, L., Kallen, A., Chedraui, P., & Taylor, H. S. (2010). Gender differences in cardiovascular disease: hormonal and biochemical influences. *Reproductive Sciences (Thousand Oaks, Calif.)*, 17(6), 511–531. <https://doi.org/10.1177/1933719110367829>
- Petrović, S., Arsić, A., Glibetić, M., Cikiriz, N., Jakovljević, V., & Vučić, V. (2016). The effects of polyphenol-rich chokeberry juice on fatty acid profiles and lipid peroxidation of active handball players: Results from a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 94(10), 1058–1063. <https://doi.org/10.1139/cjpp-2015-0575>
- Phaniendra, A., Jestadi, D. B., & Periyasamy, L. (2015). Free Radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 30(1), 11–26. <https://doi.org/10.1007/s12291-014-0446-0>
- Piepoli, M. F., Hoes, A. W., Agewall, S., Albus, C., Brotons, C., Catapano, A. L., Cooney, M. T., Corrà, U., Cosyns, B., Deaton, C., Graham, I., Hall, M. S., Hobbs, F. D. R., Løchen, M. L., Löllgen, H., Marques-Vidal, P., Perk, J., Prescott, E., Redon, J., ... Gale, C. (2016). 2016 European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. *European Heart Journal*, 37(29), 2315–2381. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehw106>
- Pirillo, A., Norata, G. D., & Catapano, A. L. (2013). LOX-1, OxLDL, and atherosclerosis. *Mediators of Inflammation*, 2013, 152786. <https://doi.org/10.1155/2013/152786>
- Plomgaard, P., Keller, P., Keller, C., & Pedersen, B. K. (2005). TNF- α , but not IL-6, stimulates plasminogen activator inhibitor-1 expression in human subcutaneous adipose tissue. *Journal of Applied Physiology*, 98(6), 2019–2023. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.01220.2004>
- Popa, O. M., Bojincă, M., Bojincă, V., Ciofu, C., Bâră, C., & Popa, L. O. (2009). Introduction to SNP genotyping by Real-Time PCR. *National Museum of Natural History Grigore Antipa*, 52, 515–522. <http://travaux.ro/pdf/456-515-522.pdf>
- Porenta, S. R., Ko, Y. A., Gruber, S. B., Mukherjee, B., Baylin, A., Ren, J., & Djuric, Z. (2013). Interaction of fatty acid genotype and diet on changes in colonic fatty acids in a Mediterranean diet intervention study. *Cancer Prevention Research*, 6(11), 1212–1221. <https://doi.org/10.1158/1940-6207.CAPR-13-0131>
- Qin, Y., Xia, M., Ma, J., Hao, Y., Liu, J., Mou, H., Cao, L., & Ling, W. (2009). Anthocyanin supplementation improves serum LDL- and HDL-cholesterol concentrations associated with the inhibition of cholesteryl ester transfer protein in dyslipidemic subjects. *The American Journal of*

- Ramsden, C. E., Hibbeln, J. R., Majchrzak, S. F., & Davis, J. M. (2010). n-6 fatty acid-specific and mixed polyunsaturate dietary interventions have different effects on CHD risk: a meta-analysis of randomised controlled trials. *The British Journal of Nutrition*, 104(11), 1586–1600. <https://doi.org/10.1017/S0007114510004010>
- Ranković, S., Popović, T., Martačić, J. D., Petrović, S., Tomić, M., Ignjatović, Đ., Tovilović-Kovačević, G., & Glibetić, M. (2017). Liver phospholipids fatty acids composition in response to different types of diets in rats of both sexes. *Lipids in Health and Disease*, 16(1), 94. <https://doi.org/10.1186/s12944-017-0483-9>
- Rega, G., Kaun, C., Weiss, T. W., Demyanets, S., Zorn, G., Kastl, S. P., Steiner, S., Seidinger, D., Kopp, C. W., Frey, M., Roehle, R., Maurer, G., Huber, K., & Wojta, J. (2005). Inflammatory cytokines interleukin-6 and oncostatin M induce plasminogen activator inhibitor-1 in human adipose tissue. *Circulation*, 111(15), 1938–1945. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000161823.55935.BE>
- Reinders, I., Murphy, R. A., Song, X., Mitchell, G. F., Visser, M., Cotch, M. F., Garcia, M. E., Launer, L. J., Eiriksdottir, G., Gudnason, V., Harris, T. B., & Brouwer, I. A. (2015). Higher plasma phospholipid n-3 PUFAs, but lower n-6 PUFAs, are associated with lower pulse wave velocity among older adults. *The Journal of Nutrition*, 145(10), 2317–2324. <https://doi.org/10.3945/jn.115.212282>
- Rimm, E. B., Appel, L. J., Chiuve, S. E., Djoussé, L., Engler, M. B., Kris-Etherton, P. M., Mozaffarian, D., Siscovick, D. S., Lichtenstein, A. H., & American Heart Association Nutrition Committee of the Council on Lifestyle and Cardiometabolic Health; Council on Epidemiology and Prevention; Council on Cardiovascular Disease in the Young; Council on Cardiovascular and Stroke Nursing; and Council on Clinical Cardiology (2018). Seafood long-chain n-3 polyunsaturated fatty acids and cardiovascular disease: a science advisory from the American Heart Association. *Circulation*, 138(1), e35–e47. <https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000000574>
- Rodriguez, C. J., Miyake, Y., Grahame-Clarke, C., Di Tullio, M. R., Sciacca, R. R., Boden-Albala, B., Sacco, R. L., & Homma, S. (2005). Relation of plasma glucose and endothelial function in a population-based multiethnic sample of subjects without diabetes mellitus. *The American Journal of Cardiology*, 96(9), 1273–1277. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2005.06.070>
- Röhl, C., & Stangl, H. (2013). HDL endocytosis and resecretion. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1831(11), 1626–1633. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2013.07.014>
- Röhl, C., & Stangl, H. (2018). Cholesterol metabolism—physiological regulation and pathophysiological deregulation by the endoplasmic reticulum. *Wiener Medizinische Wochenschrift*, 168(11–12), 280–285. <https://doi.org/10.1007/s10354-018-0626-2>
- Roke, K., Ralston, J. C., Abdelmagid, S., Nielsen, D. E., Badawi, A., El-Soheily, A., Ma, D. W. L., & Mutch, D. M. (2013). Variation in the *FADS1/2* gene cluster alters plasma n-6 PUFA and is weakly associated with hsCRP levels in healthy young adults. *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 89(4), 257–263. <https://doi.org/10.1016/j.plefa.2013.06.003>
- Rop, O., Mlcek, J., Jurikova, T., Valsikova, M., Sochor, J., Reznicek, V., & Kramarova, D. (2010). Phenolic content, antioxidant capacity, radical oxygen species scavenging and lipid peroxidation inhibiting activities of extracts of five black chokeberry (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliot) cultivars. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(22), 2431–2437. <https://doi.org/10.5897/JMPR10.576>
- Sacks, F. M., & Breslow, J. L. (1987). Very low density lipoproteins stimulate cholesteryl ester formation

- in U937 macrophages. Heterogeneity and biologic variation among normal humans. *Arteriosclerosis (Dallas, Tex.)*, 7(1), 35–46. <https://doi.org/10.1161/01.atv.7.1.35>
- Saini, R. K., & Keum, Y. S. (2018). Omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids: Dietary sources, metabolism, and significance - A review. *Life Sciences*, 203, 255–267. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2018.04.049>
- Sakakura, K., Nakano, M., Otsuka, F., Ladich, E., Kolodgie, F. D., & Virmani, R. (2013). Pathophysiology of atherosclerosis plaque progression. *Heart, Lung & Circulation*, 22(6), 399–411. <https://doi.org/10.1016/j.hlc.2013.03.001>
- Sam, S., Haffner, S., Davidson, M. H., D'Agostino, R. B., Feinstein, S., Kondos, G., Perez, A., & Mazzone, T. (2009). Relation of abdominal fat depots to systemic markers of inflammation in type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 32(5), 932–937. <https://doi.org/10.2337/dc08-1856>
- Sanders, F. W. B., & Griffin, J. L. (2016). De novo lipogenesis in the liver in health and disease: More than just a shunting yard for glucose. *Biological Reviews*, 91(2), 452–468. <https://doi.org/10.1111/brv.12178>
- Sanders, L., & Lupton, J. (2011). Carbohydrates. In J.W.Erdman, I.A. Macdonald & S.H. Zeisel (Eds.), *Present knowledge in nutrition*, (pp. 83-96). John Wiley & Sons, Ltd.
- Santos-Sánchez, N. F., Salas-Coronado, R., Villanueva-Cañongo, C., & Hernández-Carlos, B. (2019). Antioxidant compounds and their antioxidant mechanism. In *Antioxidants*. IntechOpen.
- Schaeffer, L., Gohlke, H., Müller, M., Heid, I. M., Palmer, L. J., Kompauer, I., Demmelmair, H., Illig, T., Koletzko, B., & Heinrich, J. (2006). Common genetic variants of the *FADS1 FADS2* gene cluster and their reconstructed haplotypes are associated with the fatty acid composition in phospholipids. *Human Molecular Genetics*, 15(11), 1745–1756. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddl117>
- Scheffer, P. G., Teerlink, T., & Heine, R. J. (2005). Clinical significance of the physicochemical properties of LDL in type 2 diabetes. *Diabetologia*, 48(5), 808–816. <https://doi.org/10.1007/s00125-005-1736-0>
- Schneider, C. D., Bock, P. M., Becker, G. F., Moreira, J., Bello-Klein, A., & Oliveira, A. R. (2018). Comparison of the effects of two antioxidant diets on oxidative stress markers in triathletes. *Biology of sport*, 35(2), 181–189. <https://doi.org/10.5114/biolport.2018.74194>
- Schumann, J. (2012). The impact of macrophage membrane lipid composition on innate immune response mechanisms. *Inflammation, Chronic Diseases and Cancer. Cell and Molecular Biology, Immunology and Clinical Bases*, 31–52.
- Schwingshackl, L., Hoffmann, G., Lampousi, A. M., Knüppel, S., Iqbal, K., Schwedhelm, C., Bechthold, A., Schlesinger, S., & Boeing, H. (2017). Food groups and risk of type 2 diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. *European Journal of Epidemiology*, 32(5), 363–375. <https://doi.org/10.1007/s10654-017-0246-y>
- Shah, K., & Shah, P. (2018). Effect of anthocyanin supplementations on lipid profile and inflammatory markers: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Cholesterol*, 2018, 8450793. doi: 10.1155/2018/8450793 <https://dx.doi.org/10.1155/2018/8450793>.
- Shibahara, A., Yamamoto, K., Nakayama, T., & Kajimoto, G. (1987). Cis-vaccenic acid in pulp lipids of commonly available fruits. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 64(3), 397–401.
- Shimokawa, H., & Yasuda, S. (2008). Myocardial ischemia: Current concepts and future perspectives. *Journal of Cardiology*, 52(2), 67–78. <https://doi.org/10.1016/j.jjcc.2008.07.016>

- Shrestha, S., Wu, B. J., Guiney, L., Barter, P. J., & Rye, K. A. (2018). Cholesteryl ester transfer protein and its inhibitors. *Journal of Lipid Research*, *59*(5), 772–783. <https://doi.org/10.1194/jlr.R082735>
- Skoczyńska, A., Jedrychowska, I., Poreba, R., Affelska-Jercha, A., Turczyn, B., Wojakowska, A., & Andrzejak, R. (2007). Influence of chokeberry juice on arterial blood pressure and lipid parameters in men with mild hypercholesterolemia. *Pharmacological Reports*, *59*(1), 177–182.
- Soares, S., Brandão, E., Mateus, N., & de Freitas, V. (2017). Sensorial properties of red wine polyphenols: Astringency and bitterness. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *57*(5), 937–948. <https://doi.org/10.1080/10408398.2014.946468>
- Soares, S., Silva, M. S., García-Estevez, I., Großmann, P., Brás, N., Brandão, E., Mateus, N., de Freitas, V., Behrens, M., & Meyerhof, W. (2018). Human bitter taste receptors are activated by different classes of polyphenols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *66*(33), 8814–8823. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b03569>
- Song, C., Burgess, S., Eicher, J. D., O'Donnell, C. J., Johnson, A. D., Huang, J., Sabater-Lleal, M., Asselbergs, F. W., Tregouet, D., Shin, S. Y., Ding, J., Baumert, J., Oudot-Mellakh, T., Folkersen, L., Smith, N. L., Williams, S. M., Ikram, M. A., Kleber, M. E., Becker, D. M., ... Cheng, Y. C. (2017). Causal effect of plasminogen activator inhibitor type 1 on coronary heart disease. *Journal of the American Heart Association*, *6*(6). <https://doi.org/10.1161/JAHA.116.004918>
- Song, Z., Xiaoli, A. M., & Yang, F. (2018). Regulation and metabolic significance of *de novo* lipogenesis in adipose tissues. *Nutrients*, *10*(10), 1–22. <https://doi.org/10.3390/nu10101383>
- Spencer, J. P., Abd El Mohsen, M. M., Minihane, A. M., & Mathers, J. C. (2008). Biomarkers of the intake of dietary polyphenols: strengths, limitations and application in nutrition research. *The British Journal of Nutrition*, *99*(1), 12–22. <https://doi.org/10.1017/S0007114507798938>
- Staels, B., & Fonseca, V. A. (2009). Bile acids and metabolic regulation: mechanisms and clinical responses to bile acid sequestration. *Diabetes Care*, *32*(2), S237–S245. <https://doi.org/10.2337/dc09-S355>
- Summers, M. R., Lerman, A., Lennon, R. J., Rihal, C. S., & Prasad, A. (2011). Myocardial ischaemia in patients with coronary endothelial dysfunction: Insights from body surface ECG mapping and implications for invasive evaluation of chronic chest pain. *European Heart Journal*, *32*(22), 2758–2765. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehr221>
- Su, Y., Liu, X. M., Sun, Y. M., Wang, Y. Y., Luan, Y., & Wu, Y. (2008). Endothelial dysfunction in impaired fasting glycemia, impaired glucose tolerance, and type 2 diabetes mellitus. *The American Journal of Cardiology*, *102*(4), 497–498. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2008.03.087>
- Szefel, J., Kruszewski, W. J., & Sobczak, E. (2015). Factors influencing the eicosanoids synthesis in vivo. *BioMed Research International*, *2015*, 690692. <https://doi.org/10.1155/2015/690692>
- Tanaka, S., Kojiguchi, C., Yamazaki, T., Mitsumoto, A., Kobayashi, D., Kudo, N., & Kawashima, Y. (2013). Altered fatty acid profile in the liver and serum of stroke-prone spontaneously hypertensive rats: reduced proportion of cis-vaccenic acid. *Journal of Oleo Science*, *62*(11), 933–948. https://www.jstage.jst.go.jp/article/jos/62/11/62_933/article/-char/ja/
- Tang, Q. Q., & Lane, M. D. (2012). Adipogenesis: From stem cell to adipocyte. *Annual Review of Biochemistry*, *81*(1), 715–736. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-052110-115718>
- Takahashi, A., Shimizu, H., Okazaki, Y., Sakaguchi, H., Taira, T., Suzuki, T., & Chiji, H. (2015). Anthocyanin-rich phytochemicals from aronia fruits inhibit visceral fat accumulation and hyperglycemia in high-fat diet-induced dietary obese rats. *Journal of Oleo Science*, *64*(12), 1243–1250. <https://doi.org/10.5650/jos.ess15181>

- Terruzzi, I., Vacante, F., Senesi, P., Montesano, A., Codella, R., & Luzi, L. (2018). Effect of hazelnut oil on muscle cell signalling and differentiation. *Journal of Oleo Science*, 67(10), 1315–1326. <https://doi.org/10.5650/jos.ess18086>
- Tjelle, T. E., Holtung, L., Bøhn, S. K., Aaby, K., Thoresen, M., Wiik, S. Å., Paur, I., Karlsen, A. S., Retterstøl, K., Iversen, P. O., & Blomhoff, R. (2015). Polyphenol-rich juices reduce blood pressure measures in a randomised controlled trial in high normal and hypertensive volunteers. *The British Journal of Nutrition*, 114(7), 1054–1063. <https://doi.org/10.1017/S0007114515000562>
- Tolić, M. T., Jurčević, I. L., Krbavčić, I. P., Marković, K., & Vahčić, N. (2015). Phenolic content, antioxidant capacity and quality of chokeberry (*Aronia melanocarpa*) products. *Food Technology and Biotechnology*, 53(2), 171–179. <https://doi.org/10.17113/ftb.53.02.15.3833>
- Tolić, M. T., Krbavčić, I. P., Vujević, P., Milinović, B., Jurčević, I. L., & Vahčić, N. (2017). Effects of weather conditions on phenolic content and antioxidant capacity in juice of chokeberries (*Aronia melanocarpa* L.). *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 67(1), 67–74. <https://doi.org/10.1515/pjfn-2016-0009>
- Tousoulis, D., Antoniadis, C., & Stefanadis, C. (2005). Evaluating endothelial function in humans: A guide to invasive and non-invasive techniques. *Heart*, 91(4), 553–558. <https://doi.org/10.1136/hrt.2003.032847>
- Trajkovska, K. T., & Topuzovska, S. (2017). High-density lipoprotein metabolism and reverse cholesterol transport: Strategies for raising HDL cholesterol. *Anatolian Journal of Cardiology*, 18(2), 149–154. <https://doi.org/10.14744/AnatolJCardiol.2017.7608>
- Tranchida, F., Tchiakpe, L., Rakotoniaina, Z., Deyris, V., Ravion, O., & Hiol, A. (2012). Long-term high fructose and saturated fat diet affects plasma fatty acid profile in rats. *Journal of Zhejiang University: Science B*, 13(4), 307–317. <https://doi.org/10.1631/jzus.B1100090>
- Tsukamoto, I., & Sugawara, S. (2018). Low levels of linoleic acid and α -linolenic acid and high levels of arachidonic acid in plasma phospholipids are associated with hypertension. *Biomedical Reports*, 8(1), 69–76. <https://doi.org/10.3892/br.2017.1015>
- Turrens, J. F. (2003). Mitochondrial formation of reactive oxygen species. *Journal of Physiology*, 552(2), 335–344. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2003.049478>
- Tvrzicka, E., Kremmyda, L. S., Stankova, B., & Zak, A. (2011). Fatty acids as biocompounds: Their role in human metabolism, health and disease - a review. part 1: Classification, dietary sources and biological functions. *Biomedical Papers*, 155(2), 117–130. <https://doi.org/10.5507/bp.2011.038>
- Tylewicz, U., Nowacka, M., Martín-García, B., Wiktor, A., & Caravaca, A. M. G. (2018). Target sources of polyphenols in different food products and their processing by-products. In *Polyphenols: Properties, recovery, and applications* (pp. 135–175). Woodhead Publishing.
- Urban, S., Zieseniss, S., Werder, M., Hauser, H., Budzinski, R., & Engelmann, B. (2000). Scavenger receptor BI transfers major lipoprotein-associated phospholipids into the cells. *Journal of Biological Chemistry*, 275(43), 33409–33415. <https://doi.org/10.1074/jbc.M004031200>
- Valcheva-Kuzmanova, S., Marazova, K., Krasnaliev, I., Galunska, B., Borisova, P., & Belcheva, A. (2005). Effect of *Aronia melanocarpa* fruit juice on indomethacin-induced gastric mucosal damage and oxidative stress in rats. *Experimental and Toxicologic Pathology : Official Journal of the Gesellschaft für Toxikologische Pathologie*, 56(6), 385–392. <https://doi.org/10.1016/j.etp.2005.01.001>
- Valcheva-Kuzmanova, S., Kuzmanov, K., Mihova, V., Krasnaliev, I., Borisova, P., & Belcheva, A.

- (2007a). Antihyperlipidemic effect of Aronia melanocarpa fruit juice in rats fed a high-cholesterol diet. *Plant Foods for Human Nutrition*, 62(1), 19–24. <https://doi.org/10.1007/s11130-006-0036-2>
- Valcheva-Kuzmanova, S., Kuzmanov, K., Tancheva, S., & Belcheva, A. (2007b). Hypoglycemic and hypolipidemic effects of Aronia melanocarpa fruit juice in streptozotocin-induced diabetic rats. *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*, 29(2), 101–105. <https://doi.org/10.1358/mf.2007.29.2.1075349>
- van der Meer, I. M., Iglesias del Sol, A., Hak, A. E., Bots, M. L., Hofman, A., & Witteman, J. C. (2003). Risk factors for progression of atherosclerosis measured at multiple sites in the arterial tree: the Rotterdam Study. *Stroke*, 34(10), 2374–2379. <https://doi.org/10.1161/01.STR.0000088643.07108.19>
- van Valenberg, H. J. F., Hettinga, K. A., Dijkstra, J., Bovenhuis, H., & Feskens, E. J. M. (2013). Concentrations of n-3 and n-6 fatty acids in Dutch bovine milk fat and their contribution to human dietary intake. *Journal of Dairy Science*, 96(7), 4173–4181. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-6300>
- Vauzour, D., Tejera, N., O'Neill, C., Booz, V., Jude, B., Wolf, I. M. A., Rigby, N., Silvan, J. M., Curtis, P. J., Cassidy, A., de Pascual-Teresa, S., Rimbach, G., & Minihane, A. M. (2015). Anthocyanins do not influence long-chain n-3 fatty acid status: Studies in cells, rodents and humans. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 26(3), 211–218. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2014.09.005>
- Verhoye, E., Langlois, M. R., & Asklepios Investigators (2009). Circulating oxidized low-density lipoprotein: a biomarker of atherosclerosis and cardiovascular risk?. *Clinical chemistry and laboratory medicine*, 47(2), 128–137. <https://doi.org/10.1515/CCLM.2009.037>
- Vernekar, M., & Amarapurkar, D. (2016). Diet-gene interplay: an insight into the association of diet and FADS gene polymorphisms. *Journal of Nutrition & Food Sciences*, 6, 503.
- Wang, L., Folsom, A. R., & Eckfeldt, J. H. (2003). Plasma fatty acid composition and incidence of coronary heart disease in middle aged adults: The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 13(5), 256–266. [https://doi.org/10.1016/S0939-4753\(03\)80029-7](https://doi.org/10.1016/S0939-4753(03)80029-7)
- Wang, T. Y., Liu, M., Portincasa, P., & Wang, D. Q. H. (2013). New insights into the molecular mechanism of intestinal fatty acid absorption. *European Journal of Clinical Investigation*, 43(11), 1203–1223. <https://doi.org/10.1111/eci.12161>
- Wang, Y., Lammi-Keefe, C. J., Hou, L., & Hu, G. (2013). Impact of low-density lipoprotein cholesterol on cardiovascular outcomes in people with type 2 diabetes: a meta-analysis of prospective cohort studies. *Diabetes research and clinical practice*, 102(1), 65–75. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2013.07.009>
- Wang, S., Moustaid-Moussa, N., Chen, L., Mo, H., Shastri, A., Su, R., Bapat, P., Kwun, I. S., & Shen, C. L. (2014). Novel insights of dietary polyphenols and obesity. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 25(1), 1–18. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2013.09.001>
- Wang, X., Ouyang, Y. Y., Liu, J., & Zhao, G. (2014). Flavonoid intake and risk of CVD: a systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies. *The British Journal of Nutrition*, 111(1), 1–11. <https://doi.org/10.1017/S000711451300278X>
- Watson, H. (2015). Biological membranes. *Essays in Biochemistry*, 59, 43–70. <https://doi.org/10.1042/BSE0590043>
- Weber, T., Lang, I., Zweiker, R., Horn, S., Wenzel, R. R., Watschinger, B., Slany, J., Eber, B., Roithinger, F. X., & Metzler, B. (2016). Hypertension and coronary artery disease: epidemiology, physiology,

effects of treatment, and recommendations: A joint scientific statement from the Austrian Society of Cardiology and the Austrian Society of Hypertension. *Wiener Klinische Wochenschrift*, 128(13-14), 467–479. <https://doi.org/10.1007/s00508-016-0998-5>.

- Williams, B., Mancia, G., Spiering, W., Agabiti Rosei, E., Azizi, M., Burnier, M., Clement, D. L., Coca, A., de Simone, G., Dominiczak, A., Kahan, T., Mahfoud, F., Redon, J., Ruilope, L., Zanchetti, A., Kerins, M., Kjeldsen, S. E., Kreutz, R., Laurent, S., Lip, G., ... ESC Scientific Document Group (2018). 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension. *European Heart Journal*, 39(33), 3021–3104. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehy339>
- Williamson, G. (2017). The role of polyphenols in modern nutrition. *Nutrition Bulletin*, 42(3), 226–235. <https://doi.org/10.1111/nbu.12278>
- Woodward M. (2019). Cardiovascular disease and the female disadvantage. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(7), 1165. <https://doi.org/10.3390/ijerph16071165>
- World Health Organization. (2000). *Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation*. http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/42330/1/WHO_TRS_894.pdf?ua=1&ua=1
- World Health Organization. (2011). *Global atlas on cardiovascular disease prevention and control*. http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44701/1/9789241564373_eng.pdf?ua=1
- World Health Organization. (2018). *Noncommunicable diseases country profiles 2018*. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/274512>
- Xie, L., & Innis, S. M. (2008). Genetic variants of the *FADS1 FADS2* gene cluster are associated with altered (n-6) and (n-3) essential fatty acids in plasma and erythrocyte phospholipids in women during pregnancy and in breast milk during lactation. *The Journal of Nutrition*, 138(11), 2222–2228. <https://academic.oup.com/jn/article-abstract/138/11/2222/4670097>
- Xie, L., Vance, T., Kim, B., Lee, S. G., Caceres, C., Wang, Y., Hubert, P. A., Lee, J. Y., Chun, O. K., & Bolling, B. W. (2017). Aronia berry polyphenol consumption reduces plasma total and low-density lipoprotein cholesterol in former smokers without lowering biomarkers of inflammation and oxidative stress: a randomized controlled trial. *Nutrition Research*, 37, 67–77. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2016.12.007>
- Yang, N. J., & Hinner, M. J. (2015). Getting across the cell membrane: an overview for small molecules, peptides, and proteins. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 1266, 29–53. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2272-7_3
- Yang, L., Ling, W., Du, Z., Chen, Y., Li, D., Deng, S., Liu, Z., & Yang, L. (2017). Effects of anthocyanins on cardiometabolic health: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Advances in Nutrition: an International Review Journal*, 8(5), 684–693. <https://doi.org/10.3945/an.116.014852>
- Yeasmin, N., Akhter, Q. S., Mahmuda, S., Nahar, S., Rabbani, R., Hasan, M., & Salehin, M. (2017). Effect of estrogen on serum total cholesterol and triglyceride levels in postmenopausal women. *Journal of Dhaka Medical College*, 26(1), 25–31. <https://www.banglajol.info/index.php/JDMC/article/view/33992>
- Yi, X. Y., Gauthier, K. M., Cui, L., Nithipatikom, K., Falck, J. R., & Campbell, W. B. (2007). Metabolism of adrenic acid to vasodilatory 1 α ,1 β -dihomo- epoxyeicosatrienoic acids by bovine coronary arteries. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*, 292(5), 2265–2274. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00947.2006>

- Yumuk, V., Tsigos, C., Fried, M., Schindler, K., Busetto, L., Micic, D., & Toplak, H. (2015). European guidelines for obesity management in adults. *Obesity Facts*, 8(6), 402–424. <https://doi.org/10.1159/000442721>
- Yusuf, S., Joseph, P., Rangarajan, S., Islam, S., Mentz, A., Hystad, P., Brauer, M., Kuttly, V. R., Gupta, R., Wielgosz, A., AlHabib, K. F., Dans, A., Lopez-Jaramillo, P., Avezum, A., Lanus, F., Oguz, A., Kruger, I. M., Diaz, R., Yusoff, K., ... Dagenais, G. (2020). Modifiable risk factors, cardiovascular disease, and mortality in 155 722 individuals from 21 high-income, middle-income, and low-income countries (PURE): a prospective cohort study. *The Lancet*, 395(10226), 795–808. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(19\)32008-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(19)32008-2)
- Zaklos-Szyda, M., Pawlik, N., Polka, D., Nowak, A., Koziółkiewicz, M., & Podśędek, A. (2019). *Viburnum opulus* fruit phenolic compounds as cytoprotective agents able to decrease free fatty acids and glucose uptake by Caco-2 cells. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 8(8), 262. <https://doi.org/10.3390/antiox8080262>
- Zhang, H., Park, Y., Wu, J., Chen, X. P., Lee, S., Yang, J., Dellsperger, K. C., & Zhang, C. (2009). Role of TNF- α in vascular dysfunction. *Clinical Science*, 116(3), 219–230. <https://doi.org/10.1042/CS20080196>
- Zhang, J. Y., Kothapalli, K. S., & Brenna, J. T. (2016). Desaturase and elongase-limiting endogenous long-chain polyunsaturated fatty acid biosynthesis. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 19(2), 103–110. <https://doi.org/10.1097/MCO.0000000000000254>
- Zheng, J. S., Sharp, S. J., Imamura, F., Koulman, A., Schulze, M. B., Ye, Z., Griffin, J., Guevara, M., Huerta, J. M., Kröger, J., Sluijs, I., Agudo, A., Barricarte, A., Boeing, H., Colorado-Yohar, S., Dow, C., Dorronsoro, M., Dinesen, P. T., Fagherazzi, G., ... Wareham, N. J. (2017a). Association between plasma phospholipid saturated fatty acids and metabolic markers of lipid, hepatic, inflammation and glycaemic pathways in eight European countries: A cross-sectional analysis in the EPIC-InterAct study. *BMC Medicine*, 15(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/s12916-017-0968-4>
- Zheng, J., Zhou, Y., Li, S., Zhang, P., Zhou, T., Xu, D. P., & Li, H. B. (2017b). Effects and mechanisms of fruit and vegetable juices on cardiovascular diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(3), 555. <https://doi.org/10.3390/ijms18030555>
- Zhu, Y., Bo, Y., Wang, X., Lu, W., Wang, X., Han, Z., & Qiu, C. (2016). The effect of anthocyanins on blood pressure: A PRISMA-compliant meta-analysis of randomized clinical trials. *Medicine*, 95(15), e3380. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000003380>

BIOGRAFIJA

Biljana Lj. Pokimica je rođena 24.02.1989. godine u Beogradu. Školske 2008/2009. godine je upisala Osnovne akademske studije na Biološkom fakultetu Univerziteta u Beogradu, smer Molekularna biologija i fiziologija. Osnovne studije je završila u roku, u septembru 2012. Školske 2012/2013. godine je upisala Master akademske studije na Biološkom fakultetu Univerziteta u Beogradu, smer Humana molekularna biologija, koje je završila u septembru 2013. godine. Doktorske akademske studije je upisala školske 2013/2014. godine, na modulu Genetika, Biološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu.

Biljana je bila stipendista Ministarstva nauke, prosvete i tehnološkog razvoja u periodu od aprila 2014. do septembra 2016, kada je zapošljena kao istraživač pripravnik u Institutu za medicinska istraživanja Univerziteta u Beogradu. Zvanje istraživač saradnik je stekla u februaru 2018. godine.

Biljana je bila na obuci iz laboratorijskih metoda koje se primenjuju u citogenetici i farmakogenetici u laboratoriji Toma Biomedical Assays Spa u gradu Busto Arsizio u Italiji tokom 2014. i 2015. godine u trajanju od ukupno pet meseci. Biljana Pokimica je tokom 2017. godine bila na obuci iz pisanja revijskog rada na temu efekata bioaktivnih komponenti hrane na ekspresiju gena čoveka u centru CEBAS-CSIC (Mursija, Španija) u okviru COST akcije “Interindividualne varijacije u odgovoru na dijetni unos bioaktivnih sastojaka biljaka i determinante koje su uključene (FA1403)”.

Biljana Pokimica je koautor osam radova, od čega je prvi autor dva rada objavljena u vrhunskom međunarodnom časopisu.

Прилог 1.

Изјава о ауторству

Потписани-а Биљана Покимица

број индекса Б3016/2013

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

„Ефекти полифенола сока од ароније на кардиоваскуларне факторе ризика и маснокиселински профил у анималној и хуманој студији“.

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да предложена дисертација у целини ни у деловима није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио интелектуалну својину других лица.

Потпис докторанда

У Београду, 25.02.2021.

Прилог 2.

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора Биљана Покимица

Број индекса Б3016/2013

Студијски програм Биологија

Наслов рада „Ефекти полифенола сока од ароније на кардиоваскуларне факторе ризика и маснокиселински профил у анималној и хуманој студији“

Ментор др Марија Глибетић

Потписана Биљана Покимица

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла за објављивање на порталу **Дигиталног репозиторијума Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис докторанда

У Београду, 25.02.2021.

Прилог 3.

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

„Ефекти полифенола сока од ароније на кардиоваскуларне факторе ризика и маснокиселински профил у анималној и хуманој студији“.

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство

2. Ауторство - некомерцијално

3. Ауторство – некомерцијално – без прераде

4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима

5. Ауторство – без прераде

6. Ауторство – делити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци дат је на полеђини листа).

Потпис докторанда

У Београду, 25.02.2021.

1. Ауторство - Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.
2. Ауторство – некомерцијално. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.
3. Ауторство - некомерцијално – без прераде. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.
4. Ауторство - некомерцијално – делити под истим условима. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.
5. Ауторство – без прераде. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.
6. Ауторство - делити под истим условима. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.