



UNIVERZITET U NOVOM SADU  
MEDICINSKI FAKULTET  
AKADEMSKE DOKTORSKE STUDIJE-  
KLINIČKA MEDICINA

**UTICAJ FTALATA IZ SPOLJAŠNJE SREDINE  
NA NEKE METABOLIČKE POREMEĆAJE**

DOKTORSKA DISERTACIJA

Mentor: Prof.dr Milica Medić-Stojanoska

Kandidat: dr Dragana Bosić-  
Živanović

Novi Sad, 2015.godine

**UNIVERZITET U NOVOM SADU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA**

Redni broj: RBR	
Identifikacioni broj: IBR	
Tip dokumentacije: TD	Monografska dokumentacija
Tip zapisa: TZ	Tekstualni štampani materijal
Vrsta rada (dipl., mag., dokt.): VR	Doktorska disertacija
Ime i prezime autora: AU	Dragana Bosić-Živanović
Mentor (titula, ime, prezime, zvanje): MN	Prof. dr Milica Medić-Stojanoska, endokrinolog Redovni profesor katedre za internu medicine Medicinskog fakulteta Univerziteta u Novom Sadu
Naslov rada: NR	Uticaj ftalata iz spoljašnje sredine na neke metaboličke poremećaje
Jezik publikacije: JP	Srpski (latinica)
Jezik izvoda: JI	srpski / engleski
Zemlja publikovanja: ZP	Srbija
Uže geografsko područje: UGP	Vojvodina
Godina: GO	2015.
Izdavač: IZ	autorski reprint
Mesto i adresa: MA	Medicinski fakultet Hajduk Veljkova 3 Novi Sad, Srbija

Fizički opis rada: FO	(10 poglavlja / 206 stranica / 2 slike / 108 tabela/ 9 grafikona / 172 reference)
Naučna oblast: NO	Medicina
Naučna disciplina: ND	Endokrinologija
Predmetna odrednica, ključne reči: PO	Ftalne kiseline; Endokrini disruptori; Gojaznost; Dietilheksil ftalat; Dijabetes melitus tip 2; Zagađivači okoline
UDK	616-008.9:547.584
Čuva se: ČU	Biblioteka Medicinskog fakulteta Hajduk Veljkova 3, 21000 Novi Sad, Srbija
Važna napomena: VN	
Izvod: IZ	<p>Uvod. Ftalati su endokrini disruptori, široko se koriste kao plastifikatori, rastvarači i aditivi u mnogim potrošačkim proizvodima. Eksperimentalni podaci i humane studije sugerišu na povezanost ftalata sa gojaznošću i dijabetesom.</p> <p>Cilj. Utvrditi da li su i koji urinarni metaboliti ftalata prisutni i da li postoje razlike u njihovim nivoima između bolesnika s tipom 2 šećerne bolesti, gojaznih i kontrolne grupe zdravih osoba; da li postoji povezanost između metabolita ftalata i gojaznosti, lipida i lipoproteina seruma, glikemije, insulinemije i insulinske rezistencije.</p> <p>Metode. Istraživanje je obuhvatilo 305 ispitanika, podeljenih u 3 grupe: gojazni (n=104), dijabetesni bolesnici tip 2 (n=101) i zdrave osobe (n=100), oba pola. U svih ispitanika su izvršena antropometrijska merenja (BMI i obim struka), određivanje serumskih lipida (ukupni holesterol, trigliceidi, HDL i LDL holesterol), te glikemija, insulinemija i izračunat indeks insulinske rezistencije (HOMA IRI). U jutarnjem uzorku urina meren je nivo 10 ftalatnih metabolita: mono-metil ftalat (MMP), mono-etil ftalat (MEP), mono-n-butil ftalat (MnBP), mono-benzil ftalat (MBzP), mono-cikloheksil ftalat (MCHP), mono-n-propil ftalat (MPP), mono-n-amil ftalat (MnAP), mono-izo-amil ftalat (MiAP), mono-n-oktil ftalat (MOP), mono-2-etilheksil ftalat (MEHP). U odnosu na prisustvo ftalata u urinu svaka grupa je podeljena u podgrupe na one sa prisutnim ftalatima i one bez ftalata u urinu, odnosno na podgrupe MEP pozitivne, MEP negativne, MEHP pozitivne i MEHP negativne.</p>

	<p>Rezultati. Kod polovine ispitanika registrovali smo prisustvo u urinu pojedinih metabolita ftalata. Najčešći su bili MEHP i MEP. Najveća sličnost u nivou MEP-a i MEHP-a je bila između gojaznih i dijabetičkih ispitanika. U odnosu na antropometrijske parametre uočena je pozitivna korelacija MEP-a sa BMI i obimom struka, a negativna korelacija MEHP-a sa BMI i obimom struka, ali su bile nesignifikantne. Samo kod MEHP pozitivnih kontrolne grupe uočena je statistički značajna pozitivna korelacija MEHP-a i obima struka. Utvrđena je statistički značajna negativna korelaciju MEP-a i HDL holesterola, a pozitivna korelacija MEP-a i triglicerida samo kod gojaznih. Samo u kontrolnoj grupi MEHP pozitivnih postojala je statistički značajna negativna korelacija sa HDL holesterolom. Postojala je pozitivna korelacija MEP-a i HOMA-IRI, a pozitivna korelacija MEHP-a sa glikemijom samo kod MEHP pozitivnih DM tip 2.</p> <p>Zaključak. Potvrđeno je da je kontaminacija ftalatima prisutna u našoj populaciji, a najčešće su prisutni MEHP i MEP, ukazujući na ekspoziciju DEHP i DEP. Indirektno smo stekli uvid da povećana izloženost DEP i DEHP može doprineti nastanku izvesnih poremećaja lipida i lipoproteina, insulinskoj rezistenciji kao i razvoju gojaznosti.</p>
Datum prihvatanja teme od strane NN veća: DP	13.07.2012.
Datum odbrane: DO	
Članovi komisije: (ime i prezime / titula / zvanje / naziv organizacije / status) KO	predsednik: član: član: član: član:

University of Novi Sad  
ACIMSI  
Key word documentation

Accession number: ANO	
Identification number: INO	
Document type: DT	Monograph documentation
Type of record: TR	Textual printed material
Contents code: CC	PhD thesis
Author: AU	Dragana Bosić-Živanović
Mentor: MN	Prof. dr Milica Medić-Stojanoska
Title: TI	The influence of phthalates at environmental levels on certain metabolic disorders
Language of text: LT	Serbian (latin)
Language of abstract: LA	english / serbian
Country of publication: CP	Serbia
Locality of publication: LP	Vojvodina
Publication year: PY	2015.
Publisher: PU	Author's reprint
Publication place: PP	Medical faculty, Hajduk Veljkova 3, Novi Sad, Serbia

Physical description: PD	10 chapters; 206 pages; 2 pictures; 108 tables; 9 figure; 172 references;
Scientific field SF	Medicine
Scientific discipline SD	Endocrinology
Subject, Key words SKW	Phthalic Acids; Endocrine Disruptors; Obesity; Diethylhexyl Phthalate; Diabetes Mellitus Type 2; Environmental Pollutants
UC	616-008.9:547.584
Holding data: HD	Library of Medical Faculty Novi Sad Hajduk Veljkova 3, 21000 Novi Sad, Serbia
Note: N	
Abstract: AB	<p>Introduction. Phthalates are endocrine disruptors, widely used as plasticizers, solvents and additives in a wide range of consumer products. Experimental data and human studies suggest that phthalate exposure is linked with obesity and diabetes. Aim. To determine whether urinary phthalate metabolites are present, which ones are present, whether there are differences between their levels among the patients with type 2 diabetes, obesity patients and a control group of healthy individuals; whether there is a link between phthalate metabolites and obesity, lipids, serum lipoproteins, glycemia, insulinemia and insulin resistance. Methods. The research included 305 participants divided into three groups: obesity patients (n=104), type 2 diabetes patients (n=101) and healthy individuals (n=100) in both sexes. Anthropometric measurements were taken from all participants (BMI and waist circumference), as well as measurement of serum lipids (total cholesterol, triglycerides, HDL and LDL cholesterol), glycemia, insulinemia and a calculation of insulin resistance index (HOMA IRI). The levels of ten phthalate metabolites were measured in a morning sample of urine:</p>

Mono-methyl phthalate (MMP), Mono-ethyl phthalate (MEP), Mono-n-butyl phthalate (MnBP), Mono-benzyl phthalate (MBzP), Mono-cyclohexyl phthalate (MCHP), Mono-n-propyl phthalate (MPP), Mono-n-amyl phthalate (MnAP), Mono-iso-amyl phthalate (MiAP), Mono-n-octyl phthalate (MOP), Mono-2-ethylhexyl phthalate (MEHP). Regarding the presence of phthalates in urine, each group was divided into subgroups, containing phthalates and or not containing phthalates, i.e. subgroups MEP positive and MEP negative, MEHP positive and MEHP negative. Results. In a half of participants, we have registered the presence of certain phthalate metabolites in urine, most often MEHP and MEP. The highest similarity in the levels of MEHP and MEP was between obesity and diabetes participants. Regarding anthropometric measurements, positive correlation has been registered between MEP and BMI and waist circumference, while negative correlation has been registered between MEHP and BMI and waist circumference, but it was insignificant. Only in MEHP positive control group, statistically significant positive correlation between MEHP and waist circumference has been registered. Statistically significant negative correlation between MEP and HDL cholesterol has been registered, while positive correlation between MEP and triglycerides has been registered only in obesity patients group. Only in MEHP positive control group statistically significant negative correlation with HDL cholesterol has been registered. There has been a positive correlation between MEP and HOMA-IRI, while positive correlation between MEHP and glycemia has been registered only in MEHP positive DM type 2.

	<p>Conclusion. It has been confirmed that our population is contaminated with phthalates, most commonly MEHP and MEP, indicating exposure to DEHP and DEP. Indirectly, we have realized that an increased exposure to DEHP and DEP can contribute to the development of certain lipid and lipoprotein disorders, insulin resistance, as well as the development of obesity.</p>
<p>Accepted on Scientific Board on: AS</p>	<p>13<sup>th</sup> July 2012.</p>
<p>Defended: DE</p>	
<p>Thesis Defend Board: DB</p>	<p>president: member: member: member: member:</p>



## PREDGOVOR

*Na izradi doktorke disertacije pomogao mi je veliki broj ljudi. Pre svega, zahvalnost dugujem svom mentoru, Prof. dr Milici Medić-Stojanoski na korisnim savetima i sugestijama, od početne ideje do tehničke realizacije. Takođe zahvalnost dugujem kolegama i medicinskim tehničarima Klinike za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma Novi Sad, Doma Zdravlja Novi Sad, osoblju laboratorije Zavoda za zdravstvenu zaštitu radnika Novi Sad i Centru za laboratorijsku medicinu Kliničkog centra Vojvodine.*

*Želim da zahvalim i Milanu Dolgi koji mi je pomogao na statističkoj obradi rezultata, kao i njihovom adekvatnom tumačenju.*

*Ovo istraživanje je deo Pokrajinskog projekta pod nazivom: "Ftalati kao hemijske supstance koje remete rad endokrinog sistema". Nosilac projekta je Medicinski fakultet Novi Sad, a rukovodilac projekta Prof.dr Milica Medić-Stojanoska. Ovom prilikom se zahvaljujem Pokrajinskom sekretarijatu za nauku i tehnološki razvoj na pomoći oko realizacije istraživanja.*

*Najveću zahvalnost dugujem svakako svojoj porodici ćerki Isidori i suprugu Darku koji su me nesebično podržavali i bodrili. Hvala roditeljima i sestri koji su uvek ulagali i verovali u mene.*

## SADRŽAJ

1. Uvod.....	1
1.1. Ftalati.....	3
1.1.1. Opšte karakteristike ftalata.....	3
1.1.2. Fizičko-hemijske osobine ftalata.....	4
1.1.3. Ftalati u svakodnevnom životu.....	5
1.1.3.1. Ftalati u kozmetičkim i farmaceutskim formulacijama.....	6
1.1.3.2. Ftalati u kozmetičkim preparatima.....	7
1.1.3.3. Ftalati u farmaceutskim formulacijama.....	7
1.1.3.4. Ftalati u medicinskoj opremi.....	8
1.1.4. Migracija ftalata.....	8
1.1.5. Izloženost ftalatima i biodegradacija.....	10
1.1.5.1. Oralni put izloženosti ftalatima.....	11
1.1.5.2. Inhalatorna izloženost ftalatima.....	12
1.1.5.3. Intravenozna izloženost ftalatima.....	12
1.1.5.4. Dermalna izloženost ftalatima.....	14
1.1.6. Najčešće vrste ftalata koji utiču na metaboličke poremećaje (diestri i njihovi monoestarski metaboliti).....	14

1.1.7. Metabolizam ftalata.....	19
1.1.8. Dejstvo ftalata.....	22
1.1.8.1.Uticaj ftalata na endokrini sistem.....	26
1.1.8.2.Uticaj ftalata na pojavu gojaznosti.....	30
1.1.8.3.Uticaj ftalata na poremećaj glikoregulacije .....	35
<b>2. Cilj rada .....</b>	<b>37</b>
<b>3. Hipoteze rezultata.....</b>	<b>38</b>
<b>4. Naučna i društvena opravdanost istraživanja.....</b>	<b>39</b>
<b>5. Materijal i metode.....</b>	<b>40</b>
5.1. Kriterijumi za uključivanje, neuključivanje i isključivanje .....	40
5.2. Podela u gupe.....	41
5.3. Metode rada.....	42
5.4. Matematičko-statistička obrada i prezentacija podataka.....	50
<b>6. Rezultati.....</b>	<b>52</b>
6.1. Opšte karakteristike ispitanika.....	52
6.1.1. Osnovni antropometrijski parametri ispitivanih grupa.....	57
6.1.2. Analiza glikoregulacije ispitanika .....	61
6.1.3. Analiza lipida i lipoproteina u ispitivanim grupama.....	64
6.1.4. Analiza biohemijskih parametara u ispitivanim grupama.....	68
6.2. Analiza ftalatnih metabolita u urinu u ispitivanim grupama.....	72
6.2.1. Zastupljenost urinarnih metabolita ftalata u ispitivanim grupama.....	72
6.2.2. Analiza razlika među ispitivanim grupama u odnosu na ftalatne metabolite u urinu.....	74
6.3. Povezanost između MEP-a i MEHP-a sa antropometrijskim parametrima.....	78

6.3.1. Antropometrijski parametri i MEP .....	78
6.3.1.1.Povezanost MEP-a sa antropometrijskim parametrima.....	78
6.3.1.2.Analiza razlika u odnosu na antropometrijske parametre između podgrupa MEP pozitivnih i MEP negativnih gojaznih ispitanika.....	80
6.3.1.3.Analiza razlika u odnosu na antropometrijske parametre između podgrupa MEP pozitivnih i MEP negativnih ispitanika sa DM tip 2.....	81
6.3.1.4.Analiza razlika u odnosu na antropometrijske parametre između podgrupa MEP pozitivnih i MEP negativnih ispitanika kontrolne grupe.....	83
6.3.2. Antropometrijski parametri i MEHP .....	84
6.3.2.1.Povezanost MEHP-a sa antropometrijskim parametrima.....	84
6.3.2.2.Analiza razlika u odnosu na antropometrijske parametre između podgrupa MEHP pozitivnih i MEHP negativnih gojaznih ispitanika.....	87
6.3.2.3.Analiza razlika u odnosu na antropometrijske parametre između podgrupa MEHP pozitivnih i MEHP negativnih ispitanika s DM tip 2.....	88
6.3.2.4.Analiza razlika u odnosu na antropometrijske parametre između podgrupa MEHP pozitivnih i MEHP negativnih ispitanika kontrolne grupe.....	90
6.4. Povezanost između MEP-a i MEHP-a sa lipidima i lipoproteinima seruma.....	95
6.4.1. Lipidi i lipoproteini seruma i MEP.....	95

6.4.1.2. Analiza razlika u odnosu na lipide i lipoproteine seruma između podgrupa MEP pozitivnih i MEP negativnih gojaznih ispitanika.....	99
6.4.1.3. Analiza razlika u odnosu na lipide i lipoproteine seruma između podgrupa MEP pozitivnih i MEP negativnih ispitanika s DM tip 2.....	103
6.4.1.4. Analiza razlika u odnosu na lipide i lipoproteine seruma između podgrupa MEP pozitivnih i MEP negativnih ispitanika kontrolne grupe.....	105
6.4.2. Lipidi i lipoproteini seruma i MEHP.....	107
6.4.2.1. Povezanost MEHP-a sa lipidima i lipoproteinima seruma .....	107
6.4.2.2. Analiza razlika lipida i lipoproteina seruma između podgrupa MEHP pozitivnih i MEHP negativnih gojaznih ispitanika.....	110
6.4.2.3. Analiza razlika u lipidima i lipoproteinima između podgrupa MEHP pozitivnih i MEHP negativnih ispitanika s DM tip 2.....	112
6.4.2.4. Analiza razlika u lipidima i lipoproteinima između podgrupa MEHP pozitivnih i MEHP negativnih ispitanika kontrolne grupe.....	114
6.5. Povezanost između MEP i MEHP i parametara glikoregulacije.....	118
6.5.1. Glikoregulacija i MEP .....	118
6.5.1.1. Povezanost MEP-a sa glikemijom, insulinemijom i insulinskom rezistencijom.....	118

6.5.1.2. Analiza razlika u glikemiji, insulinemiji i insulinskoj rezistenciji između podgrupa MEP pozitivnih i MEP negativnih gojaznih ispitanika.....	121
6.5.1.3. Analiza razlika u glikemiji, insulinemiji i insulinskoj rezistenciji između podgrupa MEP pozitivnih i MEP negativnih ispitanika s DM tip 2.....	123
6.5.1.4. Analiza razlika u glikemiji, insulinemiji i insulinskoj rezistenciji između podgrupa MEP pozitivnih i MEP negativnih ispitanika kontrolne grupe.....	127
6.5.2. Glikoregulacija i MEHP .....	128
6.5.2.1. Povezanost MEHP-a sa glikemijom, insulinemijom i insulinskom rezistencijom.....	128
6.5.2.2. Analiza razlika u odnosu na glikemiju, insulinemiju i insulinsku rezistenciju između podgrupa MEHP pozitivnih i MEHP negativnih gojaznih ispitanika .....	131
6.5.2.3. Analiza razlika u odnosu na glikemiju, insulinemiju i insulinsku rezistenciju između podgrupa MEHP pozitivnih i MEHP negativnih ispitanika s DM tip 2 .....	132
6.5.2.4. Analiza razlika u odnosu na glikemiju, insulinemiju i insulinsku rezistenciju između podgrupa MEHP pozitivnih i MEHP negativnih ispitanika kontrolne grupe.....	136
<b>7. Diskusija.....</b>	<b>138</b>
7.1. Opšte karakteristike ispitanika.....	139
7.2. Analiza antropometrijskih i biohemijskih parametara .....	141
7.3. Prisustvo ftalatnih metabolita u urinu.....	144
7.4. Povezanost MEP-a i MEHP-a sa antropometrijskim parametrima.....	150
7.4.1. Povezanost MEP-a sa antropometrijskim parametrima.....	150
7.4.1.1. Analiza razlika po antropometrijskim parametrima između podgrupa gojazni MEP pozitivnih i MEP negativnih.....	152

7.4.1.2. Analiza razlika po antropometrijskim parametrima između podgrupa DM tip 2 MEP pozitivnih i MEP negativnih.....	153
7.4.1.3. Analiza razlika po antropometrijskim parametrima između podgrupa kontrola MEP pozitivnih i MEP negativnih.....	153
7.4.2. Povezanost MEHP-a sa antropometrijskim parametrima.....	153
7.4.2.1. Analiza razlika po antropometrijskim parametrima između podgrupa gojazni MEHP pozitivnih i MEHP negativnih.....	158
7.4.2.2. Analiza razlika po antropometrijskim parametrima između podgrupa DM tip 2 MEHP pozitivnih i MEHP negativnih.....	159
7.4.2.3. Analiza razlika po antropometrijskim parametrima između podgrupa kontrola MEHP pozitivnih i MEHP negativnih .....	159
7.5. Povezanost između MEP-a i MEHP-a sa lipidima i lipoproteinima seruma.....	161
7.5.1. Lipidi i lipoproteini seruma i MEP.....	161
7.5.1.1. Povezanost MEP-a sa lipidima i lipoproteinima seruma.....	161
7.5.1.2. Analiza razlika u lipidima i lipoproteinima između podgrupa gojazni MEP pozitivnih i MEP negativnih.....	163
7.5.1.3. Analiza razlika u lipidima i lipoproteinima između podgrupa DM tip2 MEP pozitivnih i MEP negativnih.....	164
7.5.1.4. Analiza razlika u lipidima i lipoproteinima između podgrupa kontrola MEP pozitivnih i MEP negativnih.....	165
7.5.2. Povezanost MEHP-a sa lipidima i lipoproteinima seruma.....	165
7.5.2.1. Analiza razlika u lipidima i lipoproteinima između podgrupa gojazni MEHP pozitivnih i MEHP negativnih.....	167

7.5.2.2. Analiza razlika u lipidima i lipoproteinima između podgrupa DM tip 2 MEHP pozitivnih i MEHP negativnih.....	168
7.5.2.3. Analiza razlika u lipidima i lipoproteinima između podgrupa kontrola MEHP pozitivnih i MEHP negativnih.....	169
7.6. Povezanost između MEP-a i MEHP-a i parametara glikoregulacije.....	171
7.6.1. Povezanost MEP-a sa glikemijom, insulinemijom i insulinskom rezistencijom.....	171
7.6.1.1. Analiza razlika po glikemiji, insulinemiji i insulinskoj rezistenciji između podgrupa gojazni MEP pozitivnih i MEP negativnih.....	173
7.6.1.2. Analiza razlika po glikemiji, insulinemiji i insulinskoj rezistenciji između podgrupa DM tip 2 MEP pozitivnih i MEP negativnih.....	174
7.6.1.3. Analiza razlika po glikemiji, insulinemiji i insulinskoj rezistenciji između podgrupa kontrola MEP pozitivnih i MEP negativnih.....	174
7.6.2. Povezanost MEHP-a sa glikemijom, insulinemijom i insulinskom rezistencijom.....	175
7.6.2.1. Analiza razlika po glikemiji, insulinemiji i insulinskoj rezistenciji između podgrupa gojaznih MEHP pozitivnih i MEHP negativnih.....	181
7.6.2.2. Analiza razlika po glikemiji, insulinemiji i insulinskoj rezistenciji između podgrupa DM tip 2 MEHP pozitivnih i MEHP negativnih.....	181
7.6.2.3. Analiza razlika po glikemiji, insulinemiji i insulinskoj rezistenciji između podgrupa kontrola MEHP pozitivnih i MEHP negativnih.....	182
<b>8. Zaključci.....</b>	<b>183</b>
<b>9. Spisak skraćenica.....</b>	<b>186</b>
<b>10. Literatura.....</b>	<b>189</b>



## 1. UVOD

Poslednjih godina raste interes za hemijske materije koje remete rad endokrinog sistema- endocrine disrupting chemicals (EDCs). EDCs mogu uticati na sintezu, lučenje, mehanizam delovanja, metabolizam i eliminaciju hormona kod ljudi i životinja, sa štetnim posledicama po zdravlje, uključujući pojavu gojaznosti i dijabetes mellitusa [1]. Baillie-Hamilton je 2002. godine objavila rad o ulozi hemijskih supstanci u etiologiji gojaznosti, pokazujući da se epidemija gojaznosti poklapa sa porastom industrijskih hemikalija tokom poslednjih 40 godina [2].

Ftalati, diestri 1,2 benzendikarboksilne kiseline potiču iz plastike. Pojavili su se 1920-tih godina i ubrzo zamenili kamfor, a njihova proizvodnja je doživela ekspanziju tridesetih godina prošlog veka. Koriste se kao plastifikatori, supstance koje se dodaju plastici da se poveća fleksibilnost, transparentnost i trajnost plastike. Danas se savremena proizvodnja polivinil-hlorida (PVC) ne može zamisliti bez ftalata, koji imaju ulogu prevođenja rigidne strukture PVC-a u fleksibilniju formu.

Ljudi su često izloženi ftalatima. Veliki broj izveštaja pokazuje da je izloženost ftalatima u opštoj populaciji širom sveta rasprostranjena [3,4,5]. Prema podacima Evropske unije godišnja proizvodnja ftalata u 2009. i 2010. godini je bila oko 230 000 tona godišnje, od čega 210 000 tona di-2-etil-heksil-ftalat (DEHP) [6]. Ftalati u organizam čoveka mogu dospeti preko kože, udisanjem ili unošenjem putem hrane.

Masna hrana je prvenstveno kontaminirana ftalatima zbog lipofilnog karaktera. Kada uđu u telo ftalati se brzo metabolišu i izlučuju urinom i fecesom [7,8]. Poluživot im je kratak. Više od 60% se izluči za 24h, a ostatak za manje 48h.

Poslednjih dvadeset godina se stavlja akcenat na istraživanja u oblasti zdravstvene bezbednosti ftalata. Prema dosadašnjim saznanjima pojedini ftalati imaju štetan uticaj na ljudsko zdravlje, uključujući: poremećaje metabolizma, oboljenja štitaste žlezde, poremećaj fertiliteta i druge [9,10]. Period kada je vulnerabilnost čoveka najveća je period intrauterinog života, postnatalno i period puberteta. Zbog toga je upotreba nekih ftalata u proizvodnji dečijih igračaka i proizvodima namenjenih deci ograničena u zemljama Evropske unije.

Ograničena je upotreba DEHP (di-2-etil-heksil-ftalat), BBzP (butil-benzil-ftalat) i DBP (di-butil-ftalat) u proizvodnji dečijih igračaka i predmetima namenjenim za negu dece, dok se ograničenje upotrebe DINP (di-izo-nonil-ftalat), DIDP (di-izo-decil-ftalat) i DNOP (di(n-oktil)-ftalat) odnosi samo na proizvodnju igračaka i predmeta namenjenih za negu dece koje deca mogu stavljati u usta [11]. U Službenom glasniku Republike Srbije ("Sl. Glasnik RS" br.89/2010, br. 71/2011, br.90/2011) [12] nalazi se pravilnik o ograničenjima, zabranama proizvodnje, stavljanja u promet i korišćenje hemikalija koje predstavljaju neprihvatljiv rizik po zdravlje ljudi i životnu sredinu kojim se zabranjuje i ograničava takođe upotreba gore navedenih ftalata. DEHP nije dozvoljen za upotrebu u kozmetici u Evropskoj uniji. DEHP kao i DBP i BBzP su zabranjeni za upotrebu u kozmetici zbog reproduktivne toksičnosti [13]. U Danskoj je predloženo i ograničenje upotrebe za DEHP, BBzP, DBP i DiBP u proizvodima koji se koriste u zatvorenom prostoru, ili dolaze u kontakt sa kožom i sluzokožom u koncentraciji koja ne treba da pređe 0,1% [6].

Prema podacima Svetske zdravstvene organizacije i Međunarodne federacije za dijabetes (IDF) u 2010.godini u svetu je od dijabetesa bolovalo 285 miliona ljudi, a predviđanja su da će se broj obolelih od dijabetesa do 2030. godine povećati na 439 miliona [14]. Iako je najveća incidenca u razvijenim zemljama, najveći porast broja obolelih se ipak očekuje u zemljama u razvoju gde spada i naša zemlja [14]. Broj osoba sa tipom 2 dijabetesa je približno devet puta veći nego broj obolelih od tipa 1 dijabetesa. Prema podacima Registra za dijabetes u Srbiji 2010. godine od dijabetesa boluje približno 600 000 osoba, ili 8,2% populacije [15].

Slična je incidenca i prevalenca i kada govorimo o gojaznosti. Prema podacima Ministarstva zdravlja Republike Srbije iz 2006 god. čak svaka druga osoba ima prekomernu telesnu masu (54,5%), odnosno 36,2% odrasle populacije je prekomerno uhranjeno, a 18,3% je gojazno, a prosečni BMI je 26,7kg/m<sup>2</sup> [16].

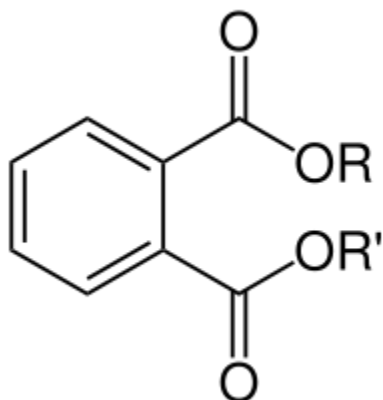
Do sada kod nas nije određivana humana kontaminacija ftalatnim estrima niti njihov uticaj na nastanak metaboličkih poremećaja.

## 1.1. FTALATI

### 1.1.1. OPŠTE KARAKTERISTIKE FTALATA

Ftalati su grupa široko korišćenih sintetskih organskih jedinjenja. Nalaze se u velikom broju proizvoda: građevinski materijali, sredstva za ličnu higijenu, medicinska sredstva, deterdženti, plastična ambalaža, rukavice za jednokratnu upotrebu, igračke od plastike, štamparske boje, lakovi, tekstil, lekovi (u sastavu neaktivne supstance) i dr. [6,17]. Pošto nisu čvrsto vezani za PVC lako se mogu naći u životnoj sredini: zemljištu, vodi, atmosferi, hrani i kućnoj prašini [18].

U hemijskom pogledu predstavljaju klasu jedinjenja sa zajedničkom strukturom dialkil ili alkil/aril estara 1,2-benzendikarboksilne (ftalne) kiseline (slika 1).



**Slika 1. Opšta hemijska struktura ftalata**

U čistom obliku su tečnosti, neke slatkastog mirisa i žute boje. Uglavnom se koriste kao plastifikatori (supstance koje se dodaju plastici da povećavaju elastičnost, fleksibilnost, transparentnost i trajnost). Polimer polivinil hlorida (PVC) bez dodatka omekšivača bi bio veoma težak i praktično beskoristan za tehničke primene, zbog toga mu se dodaju plastifikatori. Postoji veliki broj ftalata, a mogu se klasifikovati u dve grupe prema molekularnoj težini u zavisnosti od broja ugljenikovih atoma u bočnom lancu: grupa niske molekulske težine (low-molecular weight phthalates –DMP, DEP, DnPeP, BBzP, DiBP, DnBP) i velike molekulske težine (high-molecular weight phthalates- DEHP, DnOP, DINP, DIDP).

Ftalati niske molekulske težine mogu se i dermalno apsorbovati. Takođe je značajno i inhalatorno izlaganje ftalatima, kao i unošenja putem hrane. Masna hrana je prvenstveno kontaminirana ftalatima zbog lipofilnog karaktera. Ftalati niske molekulske težine nalaze se u kozmetičkim preparatima i sredstvima za ličnu higijenu, a ftalati velike molekulske težine u plastičnim cevima, plastičnoj ambalaži, dečijim igračkama, građevinskom materijalu.

### **1.1.2. FIZIČKO-HEMIJSKE OSOBINE FTALATA**

Ftalati predstavljaju slabo obojene tečnosti, uglavnom bez mirisa. Nerastvorljivi su u vodi, a rastvorljivi u najvećem broju organskih rastvarača. Tačka ključanja je od 284°C (DMP) i 463°C za DIDP, a ftalati veće molekulske težine imaju veću tačku ključanja. Ftalatni mono-estar ima višu tačku ključanja od svog matičnog jedinjenja zbog premošćavanja polarnih grupa. Rastvorljivost u vodi pada sa povećanjem molekulske težine i dužinom alkil lanca.

DEHP i DBP su dva najrasprostranjenija ftalata u uzorcima iz različitih sredina, a najčešće se određuju različitim metodama identifikacije. Na sobnoj temperaturi DEHP i DBP su neisparljive tečnosti sa visokom tačkom ključanja. Prilikom određivanja koncentracija DEHP i DBP u vazduhu može doći do izvesnih poteškoća usled njihove promenljive koncentracije i to naročito tokom nestabilnih vremenskih prilika. Vazduh kao smeša gasova (uglavnom kiseonika i azota) sa prosečnom molekulskom težinom od 28,8g/mol ima manju gustinu od gustine atmosferskog DEHP i DBP. U idealnim atmosferskim uslovima koncentracija DEHP pri 1000m nadmorske visine je samo 23% u odnosu na koncentraciju pri nultoj nadmorskoj visini (37%), dok je koncentracija azot-kiseonik smeše još uvek 90% pri nultoj nadmorskoj visini. Vetar snižava koncentracije ovih materija u atmosferskom vazduhu.

Pri mirnim vremenskim uslovima, procesom akumulacije se povećeva koncentracija DEHP i DBP, pa može doći do značajnih greški prilikom merenja njihovih koncentracija u uzorku vazduha [19].

### 1.1.3. FTALATI U SVAKODNEVNOM ŽIVOTU

Ftalati se još od 1930-te godine koriste u različite svrhe, uključujući sredstva za ličnu higijenu (parfeme, losione, sapune, šampone), boje, plastiku, medicinsku opremu i farmaceutske preparate. Fizička svojstva ftalata definišu njihovo polje primene, a zavise od dužine i grananja dialkil ili alkil/aril strane lanaca (alkoholnog dela estra). Neki ftalati se obično dodaju pojedinim komercijalnim proizvodima zbog zadržavanja boje, arome, sjaja. Svakako najznačajnija primena ftalata je kao plastifikatora. Potrošnja ftalatnih plastifikatora iznosi oko 80-90%. U okviru PVC-a se koriste za proizvodnju dečijih igračaka, građevinskog materijala, podova, kozmetičkih preparata (fiksatori parfema, sapuna, šampona, deterdženata, losiona posle brijanja, laka za kosu), hrane i kozmetičkih preparata za bebe (formule za odojčad, mleko, varalice, cucle, bočice, pelene), mastila, boja, premaza, gume, u poljoprivredi za proizvodnju pesticida.

Teško se razgrađuju u životnoj sredini i zbog toga predstavljaju veliki ekološki problem. Poseban značaj ima di-(2-etil-heksil) ftalat (DEHP), koji se najviše koristi kao plastifikator. Osim njega upotrebljavaju se i ostali ftalati: DMP (dimetil ftalat), DEP (dietil ftalat), DBP (di-n-butil ftalat), DiBP (di-izo-butil ftalat), DAP (dialil ftalat), DPP (di-n-propil ftalat), DNPP (di-n-pentil ftalat), BCP (butil cikloheksil ftalat), DCHP (dicikloheksil ftalat), BBzP (butilbenzil ftalat), DNHP (di-n-heksil ftalat), DIHxP (di-izo-heksil ftalat), DIHpP (di-izo-heptil ftalat), DINP (di-izo-nonil ftalat), DPHP (di-2-propil heptil ftalat), DIDP (di-izo-decil ftalat), DUP (diundecil ftalat), DIUP (di-izo-undecil ftalat), DTDP (ditridecil ftalat) [20].

U tabeli 1a [21] prikazani su izvori izloženosti ftalatima.

Tabela 1a. Izvori humane izloženosti ftalatima [21]

Vrsta ftalata	Izvor ftalata
DMP	Plastika, repelenti
DEP	Šamponi, parfemi, losioni, sapuni, industrijski rastvarači, lekovi-neaktivna supstanca
DBP	Lepila, kozmetika, industrijski rastvarači, lekovi
DIBP	Lepila, kozmetika, industrijski rastvarači
BBzP	Vinil podovi, lepila, industrijski rastvarači
DCHP	Stabilizator u gumama, polimer
DEHP	Meka plastika, uključujući cevi, igračke, posude za čuvanje hrane
DOP	Meka plastika
DINP	Meka plastika

#### 1.1.3.1. Ftalati u kozmetičkim i farmaceutskim formulacijama

Kozmetička i farmaceutska industrija koriste različite ftalate zbog njihovih brojnih pozitivnih svojstava. Oni mogu imati ulogu: plastifikatora u čvrstim farmaceutskim oblicima; humektansa (sredstva za vlaženje kože); emolijensa (sredstva za fino prekrivanje i omekšavanje kože); sredstva koja olakšavaju prodor aktivnih principa kroz kožu.

Koriste se kao sredstvo za sprečavanje lomljivosti i pucanje laka za nokte, u dentologiji (masa za zatvaranje šupljina); antipeneće sredstvo u aerosolima; rastvarač za različite formulacije.

### **1.1.3.2. Ftalati u kozmetičkim preparatima**

Veliki broj kozmetičkih preparata sadrže ftalate, koji se dodaju kao stabilizatori mirisa, humektanti, emolijensi. U studiji koja je pratila kozmetičke preparate (parfemi, dezodoransi, lakovi za nokte i lakovi za kosu) ustanovljen je da DBP i DEP je najviši u kozmetici, sadrži ih 72% svih testiranih kozmetičkih preparata [22]. Prema rezultatima istraživanja sprovedenih na trudnicama utvrđeno je da osobe koje su koristile lak za nokte imale su viši nivo MBP, a MBzP je bio veći kod žena koje su bile našminkane [23].

Proizvođači bi trebalo da javno i dobrovoljno uklone ftalate iz svojih proizvoda, prvenstveno onih namenjenih za decu i žene u reproduktivnom periodu, jer je tada izloženost ftalatima najštetnija. Takođe bi proizvođač trebao da obeleži sve proizvode koje sadrže ftalate (posebno za parfeme, gde komponente često nisu poznate potrošačima, tj. nisu javne). Kad god je moguće ftalate treba zameniti drugim, zdravstveno bezbednijim supstancama. *The Food and Drug Administration (FDA)* bi trebala zabraniti reklamiranje svih proizvoda koji sadrže ftalate namenjenih ženama u reproduktivnom periodu. FDA prati i sakuplja podatke o prisustvu ftalata u hrani, lekovima, medicinskoj opremi, kozmetici i predmetima opšte upotrebe i procenjuje izloženost ljudi ftalatima. FDA je upozorila farmaceutske kompanije o štetnosti upotrebe dva ftalata, DEHP i DBP kao ekscipijenasa u farmaceutskim preparatima produženog delovanja i biološkim produktima. U Evropi je 2009. godine zabranjena upotreba ova dva ftalata u kozmetičkim preparatima, jer je otkriveno toksično dejstvo na reproduktivni sistem.

### **1.1.3.3. Ftalati u farmaceutskim formulacijama**

Čvrsti farmaceutski oblici (kapsule i tablete) se najčešće oblažu polimerima koji određuju mesto i vreme otpuštanja aktivnog principa (AP) iz lekovitog oblika u željeni deo digestivnog trakta. Eudragit je jedan od najčešće korišćenih kopolimera koji dovodi do oslobađanja AP pri visokim pH vrednostima (creva).

DBP i DEP se kao plastifikatori dodaju eudragitu da bi lekoviti oblik ostao neoštećen dok ne dođe do ciljanog mesta delovanja. DBP i DEP se najviše koriste u proizvodnji antibiotika, antihistaminika i laksativa (zbog modifikovanog oslobađanja AP). Biljni preparati i dijetetski suplementi uključujući i one koji se koriste za vreme trudnoće, takođe mogu da sadrže ftalate [24].

#### **1.1.3.4. Ftalati u medicinskoj opremi**

Široka upotreba predmeta od PVC-a u medicinske svrhe predstavlja rizik po zdravlje ljudi zbog prisustva DEHP, kao plastifikatora. U medicinsku opremu koja sadrži DEHP spada: oprema za transfuziju krvi (kese i cevčice za krv, sistem za ekstrakorporalnu membransku oksigenaciju-ECMO); oprema za respiratornu terapiju (aerosoli, maske za kiseonik, nazalne kanile, kateteri, endotrahealne cevčice, cevčice za kardipulmonarni bajpas); oprema za enteralnu ishranu pacijenta (nazogastrične cevčice, kese, od naročitog značaja je davanje lipidnih emulzija u PVC kesi, jer je tada visoka migracija ftalata u emulziju); oprema za infuziju; oprema za intravenoznu terapiju (kese, cevčice, kateteri); oprema za terapiju bubrežnih bolesti (za potrebe peritonealne i hemodijalize); dijagnostički materijal (rukavice, špricevi).

#### **1.1.4. MIGRACIJA FTALATA**

Ftalati su se u dosadašnjim naučnim istraživanjima zbog migracije određivali u vodi [25], ambalažnom materijalu [26], PVC igračkama [27], bezalkoholnim pićima i mineralnoj vodi [28], te u ljudskom mleku [29], urinu [30] i serumu [31].

Rezultati istraživanja [28] pokazuju da su vrednosti migracije ftalata iz polimerne ambalaže u bezalkoholna pića višestruko veća (5-40 puta) nego migracija iz iste takve ambalaže u mineralnu vodu. Stopa migracije je pod uticajem pH određenog pića, niža pH vrednost veća migracija ftalata. DMP najviše migrira u pića kao kiseli medij i najviša stopa migracije u bezalkoholna pića ima DMP, dok DBP i DEHP pokazuje najviše stope migracije u mineralne vode [28].



EU Regulativa br.10/2011 o polimernim materijama i predmetima koji dolaze u neposredni dodir sa hranom je objavljen u Službenom listu EU. Direktiva 2002/72/EC sadrži 6 direktiva i 8 amandmana zajedno je jedinstvena lista odobrenih materija i pravila testiranja migracije. Postoji 885 stvari koje se koriste u plastičnim materijalima, a dolaze u dodir sa hranom. Novi propisi ističu da se nanomaterijali mogu koristiti jedino nakon autorizacije. U „food contact“ zakonodavstvu ustanovljena su dva tipa migracije: „specifične“ i „globalne“.

Specifična migracijska granica (SML) i globalna migracijska granica (OML). Za određenu supstancu granice migracije su fiksne. „Specifične migracije“ označavaju one migracije specifičnih supstanci koje predstavljaju opasnost po zdravlje potrošača čak i kada su prisutne u malim količinama. U tom slučaju potrebna je rigorozna kontrola. Suprotno tome „opšta migracija“ se odnosi na one supstance koje ne predstavljaju opasnost po zdravlje, ali je ipak nepoželjna. Ukupni limit migracije kontaminanata iz plastičnog materijala u namirnicu je 60 mg/kg ili 10 mg/dm<sup>3</sup> [32].

Ova vrednost ne upućuje na neku određenu materiju, već na ukupnu migraciju svih materija. Bitan je pri odabiru ambalažnog materijala jer je nužan inertan karakter materijala. Specifični limit migracije se određuje za svaki ftalat ponaosob (Tabela 2a).

Table 2a.Specifični migracioni limit (SML) i Ukupni migracioni limit (SML(T)) [32]

Plastifikator	SML mg/kg	SML (T) mg/kg	BfR-Guidance Values mg/kg
DEHP	1.5	60	1.5
DBP	0.3	60	0.3
DIBP	-	60	1/0.5*
BBP	30	60	-
DINP	9	60	-
DIDP	9	60	-

\*bebi hrana

### 1.1.5. IZLOŽENOST FTALATIMA I BIODEGRADACIJA

Ftalati se u organizam unose ingestijom, dermalnom apsorpcijom, inhalacijom ili parenteralnom primenom. Izloženost ftalatima može nastati kako za vreme razvoja ploda, tako u ranom detinjstvu ali i kasnije tokom života. Oni prolaze kroz placentu i mogu se meriti u amnionskoj tečnosti i mleku, kao i u urinu u svim uzrastima. Rezultati istraživanja pokazuju da je koncentracija ftalatih metabolita veća u urinu dece nego odraslih, što može da se objasni razlikama u izloženosti ftalatima u pojedinim uzrastima ili razlikom u metabolizmu ftalata. Ftalati su rasprostranjeni svuda oko nas, u vodi, vazduhu, zemljištu, gde podležu sporoj biodegradaciji.

Biodegradacija je proces gde se neka supstanca razloži na jednostavne komponente pomoću različitih mikroorganizama, kao što su bakterije, gljivice i modrozelenne alge. Da bi se nešto okarakterisalo kao biodegradabilno potrebno je da se razloži, odnosno degradira, da se desi hemijska degradacija, što podrazumeva razlaganje makromolekula na jednostavnije, te da takve molekule mogu dalje iskorištavati mikroorganizmi. Najpoznatiji tipovi biodegradacije su: hidro-biodegradacija - materijal se degradira u kontaktu sa vodom; foto-biodegradacija - materijal se degradira u direktnom kontaktu sa Sunčevom svetlošću; okso-biodegradacija - u neke konvencionalne vrste plastike se dodaju aditivi koji im pomažu prilikom degradacije. Osnovna hemijska struktura ftalata je benzen dikarboksilna kiselina sa dva bočna lanca, koji mogu da budu alkil, benzil, fenil, cikloalkil ili alkoholna grupa. Studije su pokazale da ftalati sa kraćim lancima DEP, DBP, DPP (di-fenil-ftalat), DPrP (di-propil-ftalat) i BBzP lako mogu da podležu biodegradaciji i mineralizaciji. Sa druge strane ftalati sa dužim lancima DCHP (di-cikloheksil-ftalat), DEHP, DHP (di-heksil-ftalat) manje su podložni bioraspadanju [33].

Razlike u biodegradaciji verovatno nastaju zbog steričnih efekata bočnih lanaca koji ometaju hidrolitičke enzime. Sa druge strane razgranati estarski lanac nije značajan za ograničenje biodegradacije ftalata. Različiti ftaladni izomeri pokazuju drugačije biodegradirajuće stope i ftaladni hidrolizni enzimi su strukturno specifični [34].

Za biodegradaciju ftalata u različitim sredinama je karakteristično: smanjuje se biodegradacija sa povećanjem dužine bočnih lanaca; anareobna degradacija je generalno znatno sporija od aerobne; primarna biodegradacija ftalata podleže kinetici prvog reda; visoka koncentracija ftalata ili njihovih metabolita sprečava njihovu biodegradaciju. Generalno ftalatni biodegradacioni putevi sastoje se iz dva procesa:

- primarna biodegradacija od ftalatnog-diestra (DPE) do mono-ftalatnog estera (MPE) a zatim ftalne kiseline (PA)
  - krajna biodegradacija od PA do CO<sub>2</sub> i/ili CH<sub>4</sub>
- Primarna biodegradacija se sastoji od različitih puteva uključujući de-esterifikacija ili de-alkilacija, beta-oksidacija i trans-esterifikacija

#### **1.1.5.1. Oralni put izloženosti ftalatima**

Ftalati se ingestijom mogu uneti u organizam preko hrane, dijetetskih formula, dijetetskih suplemenata, lekova, vode, mleka, medicinskog materijala, kod dece najčešće sisanjem igračaka i drugih predmeta. Tokom zagrevanja hrane u plastičnoj ambalaži dolazi do povećane migracije ftalata u hranu, naročito je značajno kod hrane sa povećanim nivoom masti, jer se u njoj ftalati dobro rastvaraju. Ftalati u hranu dospevaju i tokom uzgajanja i sakupljanja povrća (upotreba pesticida, čuvanje povrća u ambalaži koja sadrži ftalate).

Svetska zdravstvena organizacija je definisala maksimalno dopuštenu koncentraciju najviše upotrebljavanog ftalata DEHP-a u vodi za piće- 8µg L<sup>-1</sup> [35]. US EPA (*Environmental Protection Agency*) odredila je maksimalno dopuštenu koncentraciju DEHP-a u vodi za piće od 6µg L<sup>-1</sup> [36]. Igračke koje sadrže ftalate kao omekšivače predstavljaju izvor potencijalne oralne izloženosti kod dece. Američki kongres je ograničio primenu 6 ftalata DEHP, DBP, BBzP, DINP, DNOP, DIDP u dečijim igračkama u koncentraciji do 0,1%. EU je privremeno zabranila reklamiranje i prodaju svih igračaka i predmeta namenjenih deci koji sadrže DEHP, DBP i BBzP, dok su za decu mlađu od 3 godine zabranjene igračke koje sadrže DINP, DNOP i DIDP.

### **1.1.5.2. Inhalatorna izloženost ftalatima**

Jedan od glavnih izvora ftalatnih estera u zatvorenom prostoru je PVC materijal koji se koristi za zidne i podne obloge, tuš zavese. Visok nivo ftalata u kućnim uslovima je posledica primene kozmetičkih preparata, osveživača prostora, lepila, igraćaka i drugih proizvode. Ftalati se stalno emituju u vazduh i prašinu, jer nisu čvrsto hemijski vezani za proizvode. Kućna prašina je glavni medijum (nosač) ftalata. U studiji sprovedenoj u Bugarskoj analizirano je šest ftalata i to DMP, DEP, DnBP, BBzP, DEHP i DnOP u zatvorenom prostoru. DEHP i DnBP su pronađeni u svim uzorcima u koncentraciji 0.96mg/g prašine odnosno 7.86mg/g prašine [37]. Nivo ftalata u vazduhu raste spaljivanjem plastičnog materijala kao i isparavanjem. Koncentracija ftalata u vazduhu iznosi oko 0,1 microg/m<sup>3</sup>, dok u blizini fabrika plastike može da pređe 1,0 microg/m<sup>3</sup>. U zatvorenom prostoru koncentracija ftalata u vazduhu može značajno varirati u intervalu od 1-10 microg/m<sup>3</sup>.

### **1.1.5.3. Intravenozna izloženost ftalatima**

Upotreba različite PVC medicinske opreme koja sadrži DEHP, kao što su kese, cevčice za intravensku nadoknadu tečnosti, ishranu, transfuziju krvi i dijalizu rezultuje značajnoj izloženosti pacijenata uticaju ftalata. U tabeli 3a [38] je data procena intravenske ekspozicije ftalatima u toku različitih medicinskih procedura.

Tabela 3a. Intravenska izloženost DEHP-u u toku različitih medicinskih procedura [38]

	Odrasli	Novorođenčad
Doza DEHP (mg/kg/dnevno)		
Kristaloidni IV rastvori	<b>0,005</b>	<b>0,003</b>
<b>Totalna parenteralna ishrana</b>		
Bez dodatka lipida	<b>0,003</b>	<b>0,003</b>
Sa dodatkom lipida	<b>0,13</b>	<b>2,5</b>
<b>Transfuzija krvi</b>		
Traumatizovani pacijenti	<b>8,5</b>	
Transfuzija/ECMO	<b>3,0</b>	
Spora izmena krvi		<b>22,6</b>
Brza izmena krvi		<b>0,3</b>
<b>Koronarno-arterijski bajpas</b>	<b>1</b>	
<b>ECMO</b>		<b>14</b>

Individualne studije pokazuju varijacije u nivou ekspozicije, zavisno od specifičnih uslova i izbora opreme. Izloženost DEHP-u kod ECMO koja je u tabeli prikazana kao visoka, može biti znatno smanjena upotrebom hepariniziranih PVC/DEHP cevčica. Kod transfuzije krvi se izloženost ftalatima može smanjiti upotrebom što svežije krvi, koja se čuva u pogodnim kontejnerima na što nižoj mogućoj temperaturi ili korišćenjem hepariniziranih ECMO cevčica.

Kod visoko rizičnih grupa (muška novorođenčad, trudnice koje nose muški fetus, dečaci u prepubertetnom periodu) se preporučuje alternativa PVC medicinskoj opremi i pojedinim medicinskim zahvatima. Nekada je rizik neizvođenja pojedinih zahvata veći od rizika izloženosti DEHP-u [38].

#### 1.1.5.4. Dermalna izloženost ftalatima

Koža dolazi u direktan kontakt sa odećom, kozmetičkim preparatima (značaj repelenata, sredstava za zaštitu od sunca, sredstava za ličnu higijenu), sredstvima za čišćenje, igračkama, materijalom u dentologiji koji sadrže ftalate. Generalno transdermalna apsorpcija zavisi od koncentracije supstance, njene hemijske strukture, rastvorljivosti u vodi, padeonog koeficijenta oktanol:voda, osobina same formulacije i svojstava kože.

U eksperimentima na pacovima F-344, koji su sproveli Elsis i sar. [39] ustanovljeno je da su stope dermalne apsorpcije određenih ftalata (DEHP, DEP, DBP i BBP) bile različite, odnosno najveća apsorpcija je bila za DEP, a povećanjem dužine alkil lanca smanjuje se stepen dermalne apsorpcije.

#### 1.1.6. NAJČEŠĆE VRSTE FTALATA KOJI UTIČU NA METABOLIČKE POREMEĆAJE ( DIESTRI I NJIHOVI MONOESTARSKI METABOLITI )

***Di-methyl- phthalate/di-metil ftalat (DMP)***-  $C_{10}H_{10}O_4$ - (CAS No.131-11-3) on je metil estar ftalne kiseline, nalazi se u raketnom gorivu, plastici i repelentima. Molarna masa je 194.184 g/mol, tačka topljenja  $2^{\circ}C$ , 275K, tačka ključanja  $283-284^{\circ}C$ , slabo rastvorljiv u vodi, a rastvorljiv u organskim rasvaračima. Nema informacija o kancerogenim efektima kod ljudi i životinja.

DMP nije svrstan ni u jednu grupu ni po EPA klasifikaciji ni po IARC-u (Internacionalna agencija za istraživanje kancera -*International Agency for Research on Cancer*) usled nedostatka literaturnih podataka. Akutna izloženost kod ljudi i životinja izaziva iritaciju očiju, nosa i grla. Nema dostupnih informacija o hroničnim efektima DMP na metabolizam kod ljudi. Istraživanja na životinjama su izvestila na male efekte na rast i na bubrege.

***Mono-methyl phthalate/mono-metil-ftalat (MMP)***,  $C_9H_8O_4$ , molarna masa 180.2 g/mol, CAS-No 4376-18-5, je metabolit di-metil ftalata.

***Di-ethyl-phthalate/di-etil-ftalat (DEP)***-  $C_{12}H_{14}O_4$ , molarna masa 222,24 g/mol, CAS No.84-66-2, je dietil estar ftalne kiseline, tačka ključanja 295°C, 568 K. Nalazi se u plastičnim masama, a često se dodaje kozmetičkim preparatima i parfemima kao stabilizator.

Dermalno i inhalatorno izlaganje ftalatima smatra se najčešćim putem unosa DEP-a koji pronađen u higijenskim proizvodima kao što su sapuni, šamponi i kozmetika, ali je moguće i oralno izlaganje konzumacijom ilegalnih (neregistrovanih) alkoholnih pića, u kojima se koristi kao sredstvo za denaturaciju alkohola [40]. Kod odraslih pacova dovodi do povećanja težine jetre. In vitro studije pokazuju da DEP smanjuje glukoronil transveraznu aktivnost. DEP podstiče enzimsku aktivnost katalaze, što dovodi do peroksidomne proliferacije i verovatno izaziva hiperplaziju jetre. DEP ima nisku akutnu toksičnost, a po EPA klasifikaciji nalazi se u grupi D (ne može se klasifikovati po kancerogenosti usled nedostatka podataka u raspoloživoj literaturi), dok ga IARC nije klasifikovala uopšte.

***Mono-ethyl-phthalate/mono-etil-ftalat (MEP)***-  $C_{10}H_{10}O_4$ , molarna masa 194.2 g/mol, CAS-No. 2306-33-4, tačka ključanja 329°C. On je metabolit DEP.

***Di-n-butyl-phthalate/di-n-butil-ftalat - (DBP)***-  $C_{16}H_{22}O_4$ , molarna masa 278.34 g/mol, CAS-No.84-74-2, tačka ključanja 340°C, se često koristi kao plastifikator. Upotrebljava se kao aditiv za lepkove i štamparske boje. Upotreba ove supstance u kozmetici, uljučujući i lakove za nokte je zabranjena u Evropskoj uniji. Upotreba DBP je ograničena u Evropskoj uniji za upotrebu u dečijim igračkama [11], kao i u našoj zemlji [12].

DBP-je toksičan po reprodukciju, i nalazi se u kategorija 1B [12]. DBP je EPA svrstala u grupu D (ne može se klasifikovati po kancerogenosti usled nedostatka podataka u raspoloživoj literaturi), dok ga IARC nije klasifikovala uopšte.

***Mono-butyl-phthalate/mono-butil-ftalat (MBP)***-  $C_{12}H_{14}O_4$ , molarna masa 222.2 g/mol, CAS-No 131-70-4, je metabolit DBP.

**Butyl-benzyl- phthalate/butil-benzil-ftalat (BBzP)**-  $C_{19}H_{20}O_4$ , molarna masa 312.36 g/mol, CAS- No. 85-68-7; tačka ključanja  $370^{\circ}C$ , je estar ftalne kiseline, benzil alkohola i n-butanola. Uglavnom se koristi kao plastifikator, smatra se da je kancerogen, jer može izazvati povećanje mononuklearnih leukemijskih ćelija u ženki pacova, te je njegova upotreba naglo opala u poslednjih nekoliko decenija. U Službenom glasniku Republike Srbije [12] ("Sl.glasnik RS" br 31/2011) nalazi se lista supstanci koje izazivaju zabrinutost, BBzP je toksičan po reprodukciju, i nalazi se kategorija 1B (može smanjiti plodnost i može štetno delovati na plod). BBzP se prema EPA klasifikaciji nalazi u grupi C, kao mogući karcinogen kod čoveka.

Navedena pretpostavka je data na osnovu ispitivanja, koje je izvedeno na ženkama pacova kod kojih je došlo do povišenja nivoa mononuklearnih ćelija kod leukemije. Studija je izvršena na specijalnoj vrsti pacova F-344, koja kao takva ima afinitet ka razvoju mononuklearne leukemije (MNCL), što se ne može tvrditi i za čoveka (histološki se ne može identifikovati ni sa jednim tumorom kod čoveka), jer se dati tip leukemije osim kod F-344 pacova ne javlja više ni kod jednog sisara [41]. Internacionalna agencija za istraživanje kancera (*International Agency for Research on Cancer-IARC*) je BBzP klasifikovala u grupu koja sadrži supstance nemoguće za klasifikovanje po kancerogenosti.

**Mono-benzyl-phthalate/mono-benzil-ftalat (MBzP)**-  $C_{15}H_{12}O_4$ , CAS No. 2528-16-7, molekulska masa 256.2g/mol, je metabolit BBzP.

**Di -n-octyl- phthalate/di-n-oktil-ftalat (DnOP)** - $C_{24}H_{38}O_4$ , molekulska težina 390.54 g/mol, CAS No. 117-84-0, tačka ključanja  $380^{\circ}C$ . Podaci o upotreba DnOP u EU su veoma ograničeni i kontradiktorni u poređenju sa drugim ftalatima gotovo da nema podataka o DnOP, naročito o njegovoj upotrebi.

Međutim podaci jedne danske studije o izloženosti dece hemikalijama, identifikovali su DnOP u nekim proizvodima za pakovanje [42]. DnOP se može naći u kućnoj prašini, kao i u dečijim igračkama, može se smatrati da DnOP ima nisku akutnu toksičnost.

**Mono-n-octhyl- phthalate/mono-n-oktil-ftalate (MOP)**  $C_{16}H_{22}O_4$ , mol.težina 278.3 g/mol CAS No.7517-36-4, je metabolit DnOP.



***Di-2-ethyl-hexyl-phthalate/di-2-etil-heksil-ftalat (DEHP)***- $C_{24}H_{38}O_4$ , molekulska težina 390.56g/mol, CAS No. 117-81-7, tačka ključanja  $385^{\circ}C$ , je diestar ftalne kiseline i razgranatog lanca 2-etilheksanola. Često se naziva i Bis(2-ethylhexyl) phthalate. Zbog svojih svojstava i niske cene široko se koristi kao plastifikator u proizvodnji artikala od PVC-a. Koristi se kao hidraulična tečnost i kao rastvarač. Izlaganje ljudske populacije DEHP-u češće se proučavalo u odnosu na ostale ftalate. DEHP- toksično po reprodukciju kategorija 1B [12]. DEHP je po EPA klasifikovan u grupu B2 (verovatno kancerogen) bazirano na povećanoj incidenci tumora jetre kod odraslih pacova. IARC je DEHP svrstala u 3. grupu (ne može se klasifikovati po karcinogenosti usled nedostatka dokaza, jer mehanizam kojim DEHP izaziva tumor kod pacova i miševa nije relevantan i za ljude).

***Mono-2-ethyl-hexyl phthalate/mono-2-etil-heksil ftalat (MEHP)***-  $C_{16}H_{22}O_4$ , molekulska težina 278.4g/mol, CAS-No 4376-20-9, je metabolit DEHP. U ćelijskom modelu MEHP deluje na PPAR-gama, izazivajući adipogenezu i ima ključnu ulogu u insulinskoj rezistenciji [8]. Međutim, MEHP aktivira i PPAR-alfa i PPAR-beta u in vitro uslovima [8], a oni učestvuju u oksidaciji masnih kiselina.

***Di-ciklohexyl-phthalate/di-cikloheksil-ftalat (DCHP)***-  $C_{20}H_{26}O_4$ , molekulska težina 330.42g/mol CAS No. 84-61-7, tačka ključanja  $222-228^{\circ}C$ , je manje upotrebljavan plastifikator. Izloženost DCHP kod životinja izaziva blagu iritaciju kože i blagu iritaciju oka. Izaziva promene u telesnoj masi, jetri, bubrezima, štitastoj žlezdi, reproduktivne i razvojne poremećaje.

***Mono-ciklohexyl-phthalate/mono-cikloheksil-ftalat (MCHP)*** -  $C_{14}H_{16}O_4$ , CAS- No 7517-36-4, je metabolit DCHP .

***Di-n-propyl -phthalate/di-n-propil-ftalat (DPP)*** - $C_{14}H_{18}O_4$ , CAS-No 131-16-8 molekulska težina 250.29g/mol, tačka ključanja  $317^{\circ}C$ . On je sa potencijalnim genotoksičnim efektom.

***Mono-n-propyl- phthalate/mono-n-propil- ftalat (MPP)***-  $C_{11}H_{12}O_4$ , molekulska težina 208.21 g/mol, CAS-No 4376-19-6, je metabolit DPP.

***Di-n-amyl- phthalate/di-n-amil-ftalat (DnAP)***-  $C_{18}H_{26}O_4$ , molekulska težina 306.4 g/mol. CAS-No 131-18- 0, je bezbojna do svetlo žuta tečnost. Praktično bez mirisa. Tačka ključanja je  $342^{\circ}C$ . Ne rastvara se u vodi.

Udisanjem isparenja može izazvati glavobolju, pospanost, konvulzije. Pare izazivaju iritaciju očiju. Ima dobra fizička svojstva, otporan na toplotu, vodootporan i hemijski otporan te se koristi kao plastifikator.

**Mono-n-amyl -phthalate/mono-n-amil-ftalat (MnAP)**, CAS No. 24539-56-8, molekulska težina 236.26g/mol. On je metabolit DnAP.

**Di-iso-amyl- phthalate/di-izo-amil -ftalat (DiAP)**- C<sub>18</sub>H<sub>26</sub> O<sub>4</sub>, CAS No.605-50-5, molekulska težina 236.2637 g/mol. Upotrebljava se kao plastifikator.

**Mono-iso-amyl-phthalate/mono-izo-amil-ftalate (MiAP)**- CAS-No 17866-76-1, je metabolit DiAP.

Referentne dnevne doze ftalata su prikazane u Tabeli 4a, kao i ftalatna izloženost (izražena u mikrogramima po kilogramu telesne mase) na osnovu Četvrtog nacionalnog izveštaja Centra za kontrolu i prevenciju bolesti Američke populacije-CDC [43].

Tabela 4a. Referentne dnevne doze najčešćih ftalata [43]

Geometric Mean Exposures <sup>c</sup>								
Phthalate	Metabolite	Total Population	by Age Group			by Gender		Reference Dose (RfD) <sup>d</sup>
			6-11	12-19	20+	Male	Female	
DMP	MMP	*	0.038	*	*	*	*	>3500
DEP	MEP	6.009	1.844	5.577	65.4	5.88	6.304	800
DBP	MnBP	0.72	0.768	0.727	0.665	0.656	0.811	100
BBP	MBzP	0.431	0.658	0.554	0.367	0.442	0.433	200
DEHP	MEHP	1.048	0.786	0.986	1.019	1.101	1.029	20
	MEHHP	2.326	2.446	2.418	2.144	2.479	2.248	20
	MEOHP	2.417	2.6	2.595	2.204	2.514	2.384	20
	MECPP	4.446	4.613	4.555	4.105	4.674	4.357	20
DINP	MINP	*	*	*	*	*	*	120
DnOP	MOP	*	*	*	*	*	*	3500

### 1.1.7. METABOLIZAM FTALATA

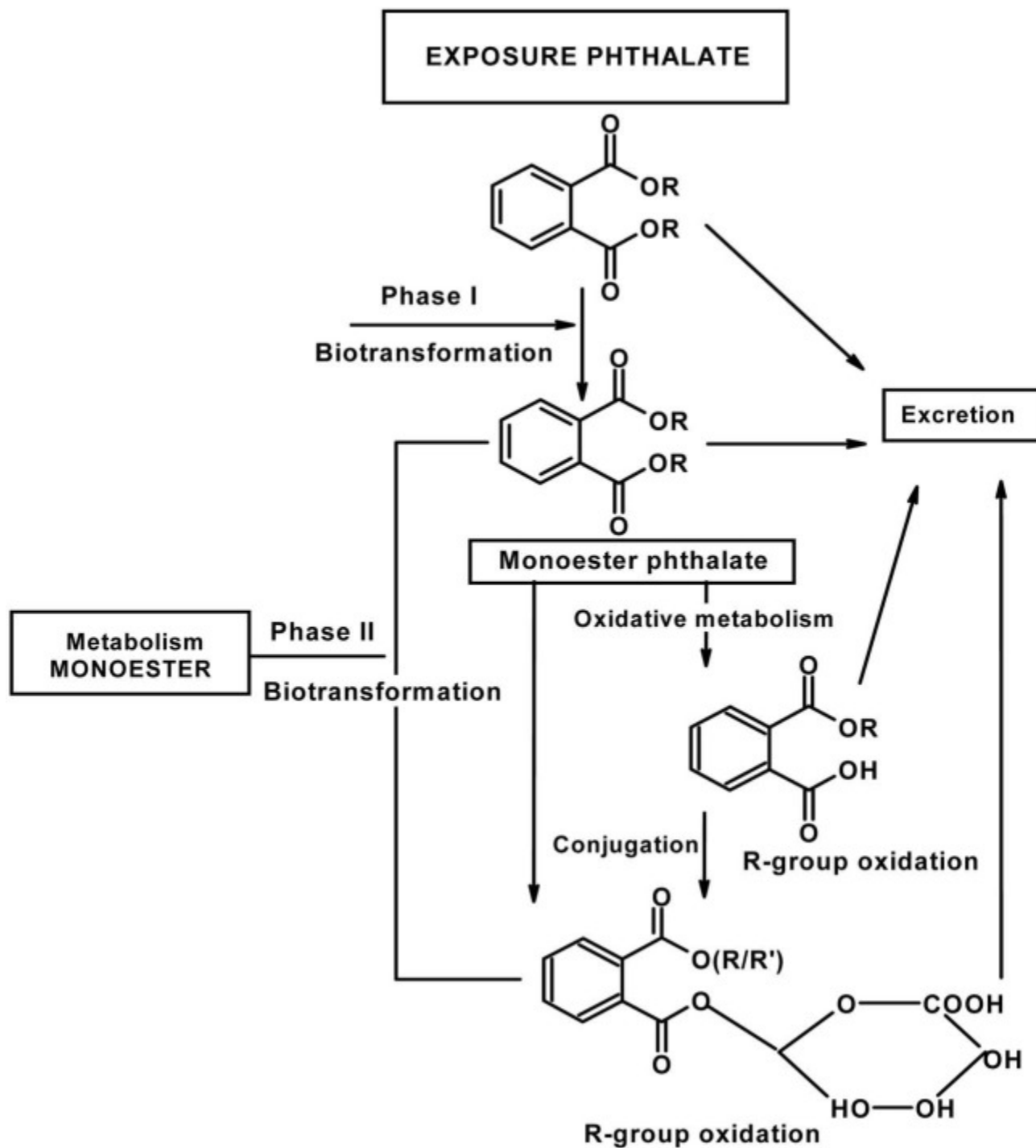
Kada uđu u telo ftalati se brzo metabolišu i izlučuju urinom i fecesom [44]. Ftalati se stoga najpreciznije određuju iz urina, prvenstveno zbog visokih koncentracija, takođe ftalati se mogu određivati i u mleku, salivi, serumu, amnionskoj tečnosti, mekonijumu pa čak i u placenti. Više od 60% se izluči za 24h, a ostatak za manje 48h. Kada se unesu u telo metabolišu se u odgovarajuće hidrolitičke monoestre, koji dalje mogu da se oksidišu u sekundarne metabolite. Monoestri i njihovi oksidisani produkti dalje mogu podleći glukuronizaciji, da bi na kraju svi i glukuronisani i neglukuronisani metaboliti bili izlučeni putem urina i fecesa. Usled brzog metabolizma, nema opasnosti od njihove akumulacije u organizmu.

Monoestri se mogu detektovati kao metaboliti ftalata male molekulske težine (DEP i DBP). Ftalatni monoestri sa pet i više ugljenikovih atoma u bočnom lancu estera transformišu se dalje u oksidisanе metabolite. Ftalati male molekulske težine metabolišu se u hidrolitičke monoestre tokom faze biotransformacije. Monoester i oksidisani metabolit mogu da se izluče nepromenjeno ili da prođu fazu II biotransformacije glukuronidacije (Slika 2) [45]. Dakle, ftalati niske molekulske težine (DEP, DBP) uglavnom se metabolišu u svoje hidrolitičke monoestre, nasuprot molekulima velike težine (DEHP, DINP) metaboliše se u hidrolitičke monoestre, koji se intenzivno transformišu u oksidisanе proizvode. DEP hidrolizira do monoetil ftalata i etanola, nakon oralne primene u lumenu gastrointestinalnog trakta i crevnoj sluzokoži. Posle sistemske apsorpcije hidroliza se vrši u bubregu i jetri, a metaboliti se izlučuju putem urina.

U istraživanju ftalatnih estera u majčinom mleku utvrđeno je da je dominantni estar bio DEHP (222 ng/g), zatim DBP (0.8ng/g), dok je DEP (0.31ng/g) registrovan u malom broju uzoraka [46]. U poređenju sa urinom, humano mleko sadrži relativno više hidrofobnih ftalata, kao što su DnBP, DEHP i DINP i njihove monoestreske metabolite. Urin sadrži više sekundarnih metabolita DEHP i DINP, kao i monestarske ftalate sa manje razgranatim lancima [47].

U humanim studijama je pronađeno da se posle oralne primene DEHP, DINP i DPHP (di(2-Propilheptil) ftalat) se najmanje 74, 44 i 34% izlučuju putem urina [48].

Slika 2. Metabolizam ftalata [45]



Dugi niz godina DEHP predstavlja najvažniji PVC plastifikator. Di-2-etil-heksil-ftalat (DEHP), pod dejstvom lipaze metabolišu se u primarni metabolit mono-2-etil-heksil ftalat (MEHP) koji se absorbuje [48]. On može da se metaboliše u sekundarne metabolite: mono-(2-etil 5 hidroksiheksil) ftalat- 5OHMEHP, mono-(2-etil 5 oksoheksil) ftalat-5oxoMEHP, mono-2-karboksi-heksil) ftalat-2ch MMHP i mono-(2-etil-5 karboksipentil ftalat) -5chMEHP.

U cilju ispitivanja metabolizma ftalata kod ljudi rađene su studije gde su ispitanici dobijali oralne doze tri različita izotopa DEHP i to u intervalu od 5, 29 do 650 µg/kg telesne mase. U 24 časovnom urinu stopa ekskrecije svih pet metabolita, MEHP, 5-hidroksi-MEHP, 5-okso-MEHP, mono(2-etil-5-karboksipentil) ftalat-5ch-MEHP i mono-2-karboksi-heksil ftalat-2ch-MMHP je bila između 65% i 70% za sve tri doze. Posle 2 dana, preko 65% od najviše doze je izlučeno u obliku četiri oksidisana metabolita, a samo 7,3% je izlučeno u obliku MEHP. Pronađeno je da urinarna ekskrecija DEHP prati multifazni model eliminacije. U drugoj fazi eliminacije MEHP je pokazao najkraće poluvreme života od 5 sati. 2ch-MMHP ima poluvreme života od 24 sata. Zanimljivo je da se maksimalne koncentracije 2ch-MMHP pojavljuju čak 2 puta (posle 9 i posle 24 sata), što je mnogo kasnije u odnosu na pojavu maksimalnih koncentracija drugih metabolita (posle 2-4 sata). Nakon paralelnog određivanja svih pet metabolita u urinu i u serumu, zaključeno je da MEHP predstavlja dominantni metabolit u serumu. Poluvreme života za sve metabolite je bilo oko 2 sata, osim za 2ch-MMHP koji je imao poluvreme života od 5 sati [49,50].

U Evropi su poslednjih godina DINP i DIDP (zajedno sa različitim izononil i izodecil grananjima) kao plastifikatori počeli da zamenjuju DEHP. Pretpostavljeno je da se DINP metaboliše na isti način kao i DEHP, putem hidrolize i  $\omega$  i  $\omega$ -1 oksidacije. DINP se metaboliše u monoestar (mono-izo-nonil-ftalat MiNP), i oksidisane metabolite: mono-hidroksi-izo-nonil-ftalat (OH-MiNP), mono-okso-izo-nonil-ftalat (oxo-MiNP) i mono-karboksi-izo-oktil-ftalat (cx-MiNP) koji se formiraju i nakon toga izlučuju urinom. U toku 49 sati je uspostavljena količina od 43,6% od primenjene doze DINP u urinu ispitanika. Najveći udeo su imala hidroksi jedinjenja od 20,2% od doze, zatim okso i karboksi jedinjenja sa oko 11%, dok je na monoestre otpalo samo 2,2%.

DINP, takođe kao i DEHP ima multifaznu eliminaciju sa drugom fazom eliminacije koja počinje 24 sata nakon davanja doze.

U datoj fazi je procenjeno da je poluvreme života između 5 sati za MiNP i 18 sati za karboksi jedinjenja. Maksimalna koncentracija MiNP u urinu je izmerena nakon 2 sata, a za cx-MiNP 8 sati nakon aplikacije [51].

### 1.1.8. DEJSTVO FTALATA

Epidemiološke studije pokazuju vezu između sve većeg izlaganja hemikalijama i razvoj nekih od glavnih bolesti industrijalizovanog sveta, npr. poremećaj reprodukcije, maligniteta, bolesti metabolizma, kao što su gojaznost i dijabetes melitus tip 2 [52]. Studije uticaja ftalata na zdravlje ljudi su dosta ograničene i prvenstveno se oslanjaju na rezultate studija na životinjama, u okviru kojih se ispitivani aspekti detaljno elaboriraju.

Iako se ne može povući paralela između humanih i studija na životinjama, rezultati istraživanja na životinjama predstavljaju izvor značajnih informacija o pogledu uticaja ftalata na biološke sisteme.

Istraživanja o uticaju ftalata na životinjama su potvrdila karcinogene efekte, toksičnost za testise i jajnike, hepatotoksičnost. Oni imaju antiandrogene efekte, sprečava delovanje tireoidnih hormona, kao i aktivacijom PPAR [53,54]. Uticaj ftalata na zdravlje ljudi je višestruk. Pretpostavlja se da remete rad endokrinog, imunog, centralnog nervnog, respiratornog sistema, jetre i bubrega, pojavu gojaznosti.

Uticaj ftalata na imuni sistem praćen je ispitivanjem efekta tri ftalata i to DBP, DiBP i DEHP na antigen indukovanu degranulaciju RBL-2H3 mastocita. Izloženost datim ftalatima potencira antigen indukovano otpuštanje  $\beta$ -heksozaminidaze. Bez antigene stimulacije ftalati ne mogu dovesti do povećanja degranulacije. Dalje je ispitivan  $Ca^{2+}$  odgovor RBL-2H3 ćelija posle izlaganja izabranim ftalatima. Koncentracija  $Ca^{2+}$  jona u citosolu ćelija raste kada se ćelija stimuliše određenom količinom (50-500 microM) DBP i DiBP, a sporije raste nakon stimulacije

DEHP-om. Iz navedenog se zaključuje da dati alkilni ftalati povećavaju antigen indukovanu degranulaciju u RBL-2H3 mastocitima zavisno od povećanja koncentracije  $Ca^{2+}$  [55].

Analizirana je povećana osetljivost novorođenčadi prema MEHP, on inhibiše apoptozu neutrofila, pri čemu su ćelije novorođenčeta osetljivije od ćelija odraslih osoba. Samo kod novorođenčadi inhibiše hemotaksu, oksidativni metabolizam i ushodno regulisanu ekspresiju NADPH oksidaze-1. I kod odraslih i kod novorođenčadi MEHP stimuliše IL-1 $\beta$  i VEGF produkciju, gde je IL-8 stimulisana samo u ćelijama odraslih. MEHP inhibiše produkciju MIP-1 $\beta$  [56].

DINP je pokazao aditivni efekat na produkciju imunoglobulina (Ig) kod miševa. U studiji na miševima ispitivan je uticaj DINP na pojavu atopiskog dermatitisa (AD). Uočeno je da DINP dovodi do pogoršanja kožnih lezija kod AD, pri čemu dolazi i do eozinofilne inflamacije, degranulacije mastocita i otoka limfnih žlezda [57]. Visok nivo ftalata u PVC proizvodima može modifikovati imuni odgovor na alergene. Jedna studija koja je rađena na odraslim ljudima ispitivala je povezanost ftalatne ekspozicije sa 4 respiratorna parametra (NHANES III) i uočena je inverzna povezanost MBP sa tri merena respiratorna parametra (FVC, FEV1, PEF). Visok nivo MEP je povezan sa sniženim vrednostima FVC i FEV1 kod muškaraca, dok kod žena ta povezanost nije bila uočena. MEHP nije bio povezan sa smanjenjem plućne funkcije [58].

Nije veliki broj studija koje ispituju uticaj PVC predmeta koji su prisutni u kući i kućnoj prašini na nastanak astme i alergije kod dece. Studija poprečnog preseka sprovedena u japanskim stanovima, a uključila je i decu i odrasle, pronađena je povezanost između DINP i astme kod dece, DMP i alergijskog rinitisa kod dece, a takođe je kod njih postojala povezanost, koja nije bila statistički značajna kod DINP i alergijskog rinitisa, konjuktivitisa i DEHP, dermatitisa i DiBP i BBzP. Kod odraslih je postojala povezanost DEHP i alergijskog dermatitisa [59].

Takođe i švedska studija je dokazala značajnu izloženost visokoj koncentraciji BBzP u kućnoj prašini i povezanost sa simptomima alergije (rinitis i ekcem), a DEHP je bio povezan sa astmom kod dece. Koncentracija BBzP je bila veća u prašini domova dece sa alergijom (0.15mg/g prašine) u odnosu na decu bez alergija (0.12mg/g prašine) [60]. Često izlaganje ftalatima povezano je sa promenjenom funkcijom pluća.

Kod pluća novorođenih pacova izloženih DEHP-u primećeno je da pokazuju histološka obeležja slična onima uočenim u plućima dece obolele od bronhopulmonalne displazije [61].

Statistička povezanost između dužine endotrahealne intubacije i učestalosti bronhopulmonalne displazije ljudskog nedonoščeta, potvrđuje hipotezu o patogenetskoj ulozi izlaganja DEHP-u koji se u ovom slučaju ispušta iz plastičnih tubusa [62]. Dati poremećaji mogu biti prevenirani upotrebom vinil acetat respiratorne opreme.

Rezultati istraživanja američkih naučnika sa Univerziteta u Rochesteru pokazali su da ftalati menjaju način funkcionisanja mozga kod dečaka. Metaboliti DBP (MnBP i MiBP) i DEHP (MEOHP, MEHHP, kao i njihov zbir plus MEHP) su bili povezani sa promenom ponašanja u igri kod dečaka [63]. Na neuronima mozga specijalne vrste šarana ispitivan je direktni efekat DEHP. Putem elektroforeze (Single cell gel electrophoresis- SCGE) je detektovano direktno oštećenje DNA u nervnim ćelijama mozga šarana. Zaključeno je da porastom koncentracije DEHP se povećava i oštećenje DNA, što je primer doza-efekat korelacije [64]. DEHP vrši supresiju aromataza enzimske aktivnosti (važna u konverziji testosterona u estradiol i u seksualnoj diferencijaciji mozga). Istraživanja su vršena na mladuncima (oba pola) Wistar pacova. Aromatazna aktivnost je detektovana u hipotalamičkoj preoptičkoj regiji mozga (HPOA) mladunčadi (postnatalno od 1. do 22. dana). Rezultati istraživanja su pokazali da je inhibicija aromatazne aktivnosti više izražena kod ženki nego kod mužjaka, pri čemu kriva doza-odgovor ima „J“ oblik [65]. U daljim ispitivanjima otkrivene su interakcije ftalatnih diestara i monoestara sa G-protein vezanim kanabinoidnim receptorom 1 (CB1), koji kao presinaptički kompleks reguliše sinaptičku aktivnost sisara. Diestri, BBzP, DnHP, DnBP, DEHP, DiOP i DnOP inhibišu specifično vezivanje agonista za CB1 receptore u mozgu miševa. DnHP, DnBP i BBzP potpuno blokiraju vezivanje, dok DEHP, DiOP i DnOP dovode do delimične (55-70%) inhibicije vezivanja agonista za date receptore. Naredne studije su pokazale da ftalatni estri mogu modifikovati CB1 receptor zavisne fiziološke ishode kod životinja [66].

Ftalati, kao što su DBP, DEHP i DINP se mogu dovesti u vezu sa različitim promenama bubrežne funkcije kod životinja kao što su bubrežne ciste, smanjenje renalnog klirensa i tranzicionog ćelijskog karcinoma [67].



Pored bubrega, ftalati deluju u značajnoj meri i na jetru, tako što dovode do povećanja njene težine i promene u njenoj funkciji uključujući enzimski sistem jetre kod glodara. Dati efekti su utvrđeni nakon izlaganja glodara sledećim ftalatima: DEHP, DBP, DMP, DEP, DINP i DIDP. Holestaza je još jedan od poremećaja koji je uočen kod osoba izloženih uticaju DEHP-a. Kod nekih novorođenčadi koja su podvrgnuta ekstrakorporalnoj membranskoj oksigenaciji (ECMO) dijagnostikovana je holestaza, što je povezano sa oslobađanjem DEHP-a iz PVC cevčica za intubaciju. Takođe je holestaza uočena i kod novorođenčadi koja primaju totalnu parenteralnu ishranu (rizik je povećan sa dodatkom lipida) [68]. Naučnici iz Health Canada Expert Advisory Panel-a su preporučili da rastvori za totalnu parenteralnu ishranu ne bi trebalo biti inkorporirani u kese od PVC-a. DEHP i DINP se povezuju sa karcinomima i adenomima jetre kod glodara [69,70]. Ovi tumori su povezani sa peroksizomalnom proliferacijom. Ftalati uzrokuju peroksizomalnu proliferaciju kroz interakciju sa nuklearnim steroidnim receptorima, koji upravljaju genskom ekspresijom. Istraživanja na miševima su dokazala da ftalati povećavaju nivo slobodnih radikala pre nego što peroksizomalne oksidaze bivaju indukovane.

Testiranjem oksidativnog oštećenja koje vrše četiri peroksizomalna proliferatora (PPs): DEHP, CF (klofibrat), BBzP i DBP na glodarima utvrđeno je da su sva četiri PPs značajno povećala palmitoil-CoA oksidaciju i aktivnost karnitin acetiltransveraze pored pratećeg povećanja težine jetre. Među data četiri PPs DEHP ima najveći potencijal povećanja peroksizomalne proliferacije. Aktivnosti P4501A1, 1A2 i 3A4 citohroma, UDP glukuronil transveraze i glutation S-transveraze su bile snižene, ali nije utvrđena povezanost između inhibitornog efekta PPs-a na metaboličke enzime i peroksizomalnu proliferaciju, što ukazuje na mogućnost postojanja nezavisnog uticaja PPs na enzime metabolisanja ksenobiotika i njihov uticaj na peroksizomalnu proliferaciju i oksidativni stres [71]. Peroksizomalni proliferatori iniciraju neoplastičnu transformaciju hepatičnih parenhimatoznih ćelija preko povećanja intracelularnog DNA oksidativnog oštećenja, povećanjem  $\beta$  oksidacije masnih kiselina, povećanjem nivoa  $H_2O_2$ , akumulacijom peroksidisanog lipofuscina, sniženjem katalaze i povišenjem peroksizomalne urikaza aktivnosti, koja prati peroksizomalnu proliferaciju u hepatocitima [72].

Ftalati (DEHP, DBP i BBzP) pokazuju afinitet za estrogene receptore, što je od značaja kod upotrebe tamoksifena (TAM) kod kancera dojke, gde se može razviti tolerancija na primenjeni lek. Ispitivani su efekti ftalata na TAM zavisnu apoptozu kod MCF-7 ćelija humanog kancera dojke. Rezultati su pokazali da DEHP, DBP i BBzP značajno povećavaju proliferaciju MCF-7 ćelijani i oponašaju estrogene u inhibiciji TAM indukovane apoptoze MCF-7 ćelija [73].

Genotoksični efekat na humane mukozne ćelije pokazuje MEHP, što je utvrđeno testiranjem cepanja pojedinačnih lanaca i mesta alkalnog cepanja DNA nakon inkubacije humanih nazalnih mukoznih ćelija i perifernih limfocita sa MEHP. MEHP je pokazao dozno-zavisno povećanje oštećenja DNA u mukoznim ćelijama i limfocitima [74].

#### **1.1.8.1. UTICAJ FTALATA NA ENDOKRINI SISTEM**

Endokrini disruptor- EDCs (*eng. endocrine disrupting chemicals*) po definiciji Internacionalnog Programa Hemijske Sigurnosti (IPCS) iz 2002. godine je egzogena supstanca, ili mešavina supstanci, koja remeti funkciju(e) endokrinog sistema te uzročno-posledično izaziva različite efekte na nivou organizma, na njegovo potomstvo ili na (sub)populacije" (Fisher, 2004) [75].

Grupa EDCs je veoma velika i ne postoji jedinstvena klasifikacija jedinjenja koja se mogu označiti kao EDC, ili kao potencijalni EDC. Prema Keith (1998) [76] mogu se podeliti u tri grupe:

1. Farmakološki proizvodi: veliki broj lekova i kozmetičkih preparata koji se danas koriste, ili su nekada korišteni. Prvi registrovani sintetički EDC je dietilstilbestrol (DES), lek koji je davan trudnicama od 1948.-1972. radi prevencije abortusa i prevremenog porođaja. Kasnije je utvrđeno da može da izazove kancer reproduktivnih organa, čak i u drugoj generaciji.

2. Prirodni EDC: prisutni u biljkama i biljnim proizvodima, na primer u soji, jabukama, pšenici itd. Fitoestrogeni mogu da se vežu za estrogene receptore i da deluju kao agonisti tj. da prouzrokuju efekte slične 17 $\beta$ -estradiolu.

Konzumiranje biljaka bogatih fitoestrogenima može prouzrokovati poremećaj u reprodukciji kod ljudi i domaćih životinja. Najpoznatiji fitoestrogen je genistein koji pripada flavonoidima.

3. EDC iz životne okoline: ovde se ubrajaju jedinjenja koja su najvećim delom antropogenog porekla i koriste se u različite svrhe ili nastaju kao nusprodukti pri proizvodnji određenih jedinjenja. Tu spadaju i jedinjenja koja nastaju tokom sagorevanja određenih organskih jedinjenja ili na neki drugi način. To su: insekticidi, herbicidi, nematocidi, fungicidi, industrijske hemikalije (rastvarači, aditivi, jedinjenja za proizvodnju plastike i sl.), metali, PCB, supstance bez komercijalne upotrebe (nastale kao nusprodukti tehnoloških procesa, ili pri nekontrolisanom sagorevanju određenih organskih jedinjenja; tu spadaju dioksini i furani i poliaromatični ugljovodonici).

Navedene hemikalije poznate su kao ubikvitarni zagađivači životne sredine, jer je njihovo prisustvo dokazano i u tkivima životinja geografski izolovanih regiona, udaljenih od zagađenih industrijskih, agrarnih i urbanih područja.

Svi hormon-senzitivni fiziološki sistemi su osetljivi na EDCs, uključujući mozak, hipotalamus, hipofiza, štitasta žlezda, kardiovaskularni sistem, mlečne žlezde, masno tkivo, pankreas, jajnik i materica kod žena, a testisi i prostata kod muškaraca. Pojedinačne razlike u metabolizmu i telesnom sastavu će usloviti značajnu varijabilnost u odgovoru na EDCs, kao i njihovu degradaciju. Osetljivost na EDCs može biti zavisna i od genetskog polimorfizma. Pored toga poremećaji kod ljudi su češće posledica hroničnog izlaganja niskim dozama. Izlaganje odraslih osoba EDCs mogu imati različite posledice od izlaganja u razvoju fetusa ili novorođenčeta. Odnosno, u endokrinim poremećajima postoji terminologija „fetalna osnova odraslih bolesti“ da opiše zapažanja da sredina u razvoju organizama u interakciji sa genima pojedinca stvara sklonost ka razvoju bolesti ili disfunkciju kasnije u životu. Međutim, posledice ekspozicije možda neće odmah biti uočljive, ali mogu da se manifestuju u odraslom dobu.

Sve to uputilo je i na moguću pojavu trendova delovanja stvari sličnih hormonima i u ljudskoj populaciji. Ako je izloženost endokrinog sastava spoljašnjim činiocima uticala na aktivnost hormona kod životinja, moguće je i neke posledice kod ljudi objasniti istim principom.

Iako je broj slučajeva kad su ljudi bili izloženi određenim hemijskim supstancama mali, dokazi upućuju na to da se neki problemi, kao što su niska porođajna masa, smanjeni koeficijent inteligencije ili prerani porođaj, te promenjeni odnos polova, mogu pripisati hormonskoj mimikriji tih spojeva.

Supstance sa hormonskom aktivnošću mogu da ostvare svoje dejstvo na mnogobrojne načine. Dokazano je da mogu međudelovati s intracelularnim hormonskim receptorima [77,78] i stoga ili stimulišu (agonisti) tako što imitiraju efekte prirodnih hormona vezujući se za njihove specifične receptore, ili blokirati (antagonisti) supstance koje, vezujući se za receptore, blokiraju efekte prirodnih hormona, tj. indukuje se ili inhibira transkripcija pojedinih gena koji su pod kontrolom steroidnih hormona. Postoje jedinjenja koja imaju i agonističko i antagonističko dejstvo. Takođe, pojedina jedinjenja utiču na ekspresiju enzima koji učestvuju u biosintezi hormona, a takođe mogu da utiču i na aktivnost enzima. Svoje efekte EDCs mogu ostvariti i modulacijom aktivnosti ko-aktivatora nuklearnih receptora.

Nuklearni receptori posle vezivanja liganda pokreću transkripciju vezujući se direktno za DNK u predelu regulatorne sekvence ciljnog gena pri čemu u procesu aktivacije učestvuju i ko-aktivatori i bazalna transkripciona mašinerija. Promene u ekspresiji receptora ili ko-aktivatora mogu dovesti i do promena u ekspresiji ciljnih gena. Neki EDCs se direktno mogu nakupljati u endokrinim ćelijama izazivajući njihovu nekrozu, a samim tim redukuje njihov broj i količinu sintetisanih hormona. Prvobitno se mislilo da EDCs ispoljavaju dejstvo prvenstveno kroz nuklearne hormonske receptore, uključujući estrogenske receptore (ER), androgene receptore (AR), progesteronske receptore (PR), receptore štitaste žlezde (TRS), retinoidne receptore. Danas, naučna istraživanja pokazuju da su mehanizmi mnogo širi nego što je prvobitno poznato. Dakle EDCs deluju preko nuklearnih receptora, non-nuklearnih steroidnih receptora (npr. membranskih ERS), nesteroidnih receptora (npr. neurotransmiterskih receptora kao što su serotoniniski receptori, dopaminski receptori, noradrenalnih receptora), aril ugljovodoničnih receptora AhR, enzimskih puteva koji učestvuju u sintezi steroida i/ili metabolizmu, i brojni drugi mehanizmi. EDCs posebno pogađa katabolizam steroidnih hormona, jer mnogi enzimi su uključeni u oba ova procesa. Na primer, P-450 CYP<sub>1A2</sub>, CYP<sub>3A4</sub>, CYP<sub>1A1</sub> i CYP<sub>1B1</sub>, svi glavni ciljni geni za AhR, odgovorni su za hidrosilaciju 17-β estradiola.

Na taj način nakon izlaganja ksenobioticima, enzimskom aktivacijom dolazi do povećanog katabolizma hormona. Nasuprot tome, nedavni eksperimenti su pokazali da CYP<sub>19</sub>B (aromataza), koji konvertuje testosteron u estradiol direktna je meta AhR gena. Dakle aktivacija AhR sa EDCs može dovesti do povećane degradacije steroidnih hormona i veće produkcije estradiola.

Ako su pojedinci izloženi EDCs vrlo je verovatno da su i drugi zagađivači životne sredine uključeni, a štetnost dejstva različitih klasa EDCs može biti aditivan ili čak sinergističan [79]. Postoji nekoliko EDCs osobina koje su izazvale kontroverze. Savremena toksikologija kaže da nije sve u dozi. Prvo, čak i nizak nivo izloženosti može izazvati endokrine ili reproduktivne abnormalnosti, posebno ako se izlaganje javi u toku kritičnog razvojnog perioda [80].

Drugo, EDCs se može izazvati netradicionalne doza-odgovor krive, poput obrnutog-U ili oblika U krive [81]. EDCs mogu da utiču ne samo na pojedinca, već i na decu u sledećim generacijama, zbog postojanja tzv. Toksikološkog prozora. Pored toga poremećaji kod ljudi su češće posledica hroničnog izlaganja niskim dozama.

Ftalati u ljudskom organizmu ispoljavaju svoju aktivnost i preko humanog estrogenog receptora  $\alpha$  (hER $\alpha$ ), humanog estrogenskog receptora  $\beta$  (hER  $\beta$ ) i humanog androgenog receptora (hAR). Ftalati uzrokuju razne malformacije na tkivu testisa i slabiju plodnost muške populacije, te je utvrđena povezanost skraćenja anogenitalne udaljenosti kod muške dece koja su bila izložena ftalatima u razdoblju majčine trudnoće [82]. Ta grupa poremećaja koju izazivaju ftalati poznati su kao „ftalatni sindrom“, koji je okarakterisan malformacijama epididimis-a, vas deferens-a, semenih kesica, prostate, spoljašnjih genitalija (hypospadija), kriptorhizma i testikularnih oštećenja zajedno sa trajnim promenama (feminizacija). U mnogim studijama koje su vršene na ženama, dokazana je povezanost ftalatne izloženosti žena sa brojnim poremećajima kao što su: prevremeni porođaji, pobačaji, komplikacije tokom trudnoće (anemija, toksemija, preeklampsija), endometriozna [83], leiomiomi, adenomi [84].

*In vitro* i *in vivo* istraživanja su dala značajan doprinos u rasvetljavanju štetnog uticaja ftalata na funkciju tireoidnih hormona. Ftalati se vezuju za TRs (receptori za tireoidne hormone) receptore, što rezultuje aktivaciji ili pak inhibiciji tireoidnih hormona. Kod studija na glodarima su primećene histopatološke promene tireoidne žlezde, koje odgovaraju hiperaktivnosti, kod pacova izloženih DEHP i DnHP [85].

Intravensko ordiniranje pacovima niskih doza DEHP (750microg/100g/TM), koje odgovaraju nivoima DEHP u vrećama za transfuziju krvi kod ljudi, došlo je do povećanja serumske koncentracije T3 i T4 [86]. U humanim studijama pokazana je inverzna povezanost između koncentracije urinarnih metabolita DEHP i T4, fT4, T3 i tireoglobulina, a pozitivna korelacija sa TSH. Kod adolescenata je primećen pozitivan odnos između DEHP metabolita i T3. Za metabolite DBP nije primećena povezanost sa tireoidnim hormonima [87].

#### **1.1.8.2. UTICAJ FTALATA NA POJAVU GOJAZNOSTI**

Prevalenca gojaznosti se dramatično povećava tokom nekoliko decenija u SAD i Evropi, kao i u zemljama u razvoju [88]. I ako nepravilna ishrana i nedovoljna fizička aktivnost imaju ulogu u etiologiji gojaznosti, postoji rastući interes za hemikalije koje mogu ometati rad endokrinog sistema. Grun i Blumberg su uveli termin „obesogen“, supstance koje regulišu metabolizam lipida i adipogenezu tako da mogu da promovišu gojaznost [89]. Gojaznost se takođe odnosi na fetalno (razvojno) poreklo bolesti odraslih. Potomci žena koje su doživele glad tokom trudnoće, imaju rizik ka pojavi metaboličkog sindroma kod odraslih.

Veza između endokrinih ometača i gojaznosti ispoljava se kroz poremećaj funkcije štitaste žlezde i hormona steroidne strukture [89,90] i aktiviraju nuklearnog receptora PPAR/gama koji ima ključnu ulogu u adipogenezi [8]. Nuklearni receptori regulišu ekspresiju gena, u zavisnosti od interakcije sa malim lipofilnim molekulima i na taj način su uključeni u regulaciju velikog broja različitih funkcija ćelija.

Oni su u hemijskom pogledu proteini koji su ligand-zavisni transkripcioni faktori, a nalaze se u citoplazmi i/ili nukleusu. Kompleks ligand-receptor se vezuje za DNA elemente, u kontrolnim regionima ciljanih gena i na taj način utiču na transkripciju određenog gena. Prirodni ligandi za nuklearne receptore su lipofilni hormoni, kao što su steroidni hormoni, tireoidni hormoni, derivati vitamina A i D. Nedavno je utvrđeno, da i intracelularni lipofilni metaboliti, kao što se prostaglandini, leukotrijeni, masne kiseline, derivati holesterola, žučne kiseline, mogu da funkcionišu kao ligandi za nuklearne receptore i tako regulišu ekspresiju odgovarajućih gena.

Generalno, ligandi za nuklearne receptore su mali, rigidni hidrofobni molekuli, sa polarnim delovima na jednom kraju, koji im omogućavaju vezivanje za receptore preko Van der Waals-ovih i hidrofobnih interakcija, kao i formiranje vodonikovih veza. Nuklearni receptori su ligand zavisni transkripcioni faktori, koji mogu da funkcionišu kao aktivatori ili represori transkripcije. Oni se specifično vezuju za određenu DNK sekvencu tzv.HRE (*engl. hormone-responsive element*). Aktivni receptor, vezan za DNA inicira transkripciju direktno ili indirektno preko protein-protein interakcije sa hromatinom i kompleksom proteina koji inicira transkripciju. Pored vezivanja sa ligandom, nuklearni receptor može biti aktiviran i angažovanjem drugih mehanizama, kao što su fosforilacija receptora nekom od kinaza, kao i vezivanjem za regulatorne proteine npr. ciklin D1. Znači, može doći do povezivanja drugih signalnih puteva sa signalom preko nuklearnih receptora.

U humanom genomu je identifikovano 48 nuklearnih receptora, uključeni su u skoro svim vitalnim funkcijama, na primer razvoj fetusa, homeostaza, reprodukcija, metabolizam.

Svi nuklearni receptori imaju visok stepen homologije na nivou sekvence aminokiselina, što sugerišu da funkcionišu koristeći slične mehanizme. Ipak još nije poznata funkcija svih nuklearnih receptora, kao i priroda liganda koji se za njih vežu. Moguće je da za neke od ovih receptora tzv.orfanski receptori ne postoji prirodni ligand i da funkcionišu u ligand-nezavisnom maniru. Tipični nuklearni receptor sadrži pet različitih domena, a svaki od njih ima karakterističnu funkciju.

To su varijabilni N-terminalni region (A/B), visoko konzervisani domen odgovoran za vezivanje sa DNA (C), linkerni domen (D) koji sadrži signale u nuklearnoj lokaciji, ligand-vezujući domen koji je odgovoran i za dimerizaciju (E) i varijabilni C-terminalni domen (F). Nuklearni receptori, posebno PPAR grupa (PPAR alfa, beta i gama) funkcionišu tako da obrazuju heterodimere sa 9-cis retinoičnom kiselinom receptorima (RXRs) [91].

Ovi heterodimeri igraju istaknutu ulogu u transkripciji gena odgovornih u metabolizmu glikoze, insulina i masnih kiselina, a ligandi za njih su razni lipofilni hormoni, dijetetske masne kiseline i njihovi metaboliti. U N-terminalnom A/B domenu nuklearnog receptora postoji ligand-zavisni transkripcioni aktivacioni domen (AF-1) koji može da reguliše fosforilaciju sa mitogen-aktivirajućom protein kinazom (MAPK). Lipidni agonisti za RXR-PPAR alfa promoviraju  $\beta$  oksidaciju masnih kiselina [92]. Prema tome ciljni ksenobiotici koji deluju preko PPAR-alfa obično deluju kao hipolipemici. Nasupro tome, aktivacija RXR-PPAR gama favorizuje biosintezu lipida i skladištenje, ključan je u diferencijaciji preadipocita u masna tkiva [93]. Varijanta PPAR- gama (Pro12Ala) povezana je sa insulinskom rezistencijom [94], a aktivni alel (Pro115Gln) može dovesti do gojaznosti [95].

PPAR $\gamma$  agonisti, kao što su tiazolidioni su moćni insulinski senzibilizirajući lekovi koji poboljšavaju kontrolu glikemije i serumskih triglicerida kod dijabetesnih bolesnika [96]. Neželjene PPAR $\gamma$  nuspojave su periferni edem praćen povećanom telesnom masom. PPARs receptori su važni regulatori adipogeneze, oksidacije masnih kiselina, insulinske senzitivnosti, regulacije lipida i drugih aspekata homeostaze metabolizma [97]. Osim regulisanja metabolizma lipida, ovi receptori u velikoj meri utiču na insulinsku osetljivost i glukoznu homeostazu. Funkcionalna oštećenja ili disregulacija ovih receptora je pokazano da dovodi do gojaznosti, masne jetre, dijabetes tip 2, ili kardiomiopatija, dok odgovarajuća aktivacija ligandima nudi metaboličke prednosti.

Relativno mali broj eksperimentalnih studija na životinjama pratio je efekat ftalata na adipocite, gojaznost, masni/nemasni sastav tkiva, mada su prijavljeni hipolipidemijski efekti. Reakcije kod glodara uključuju indukciju jetrene peroksizomne proliferacije i tumorogeneze [98].



DEHP preko PPAR $\alpha$  povećava oksidaciju masnih kiselina i atrofiju masnog tkiva tokom perioda eksperimentalnog izlaganja, što može dovesti do smanjenja masne mase i telesne mase [99]. Metabolit DEHP, MEHP takođe aktivira i PPAR $\gamma$  i pokreće pro-adipocitni odgovor. PPAR-alfa zavisna stimulacija oksidacije masnih kiselina i peroksizom proliferacija zahteva kontinuirano izlaganje, međutim PPAR gama aktivator može zahtevati samo jedan ili možda epizodne izloženosti ftalatnim metabolitima.

Jedna od najranijih eksperimentalnih studija objavljena je 1978. godine [100] gde su odrasli mušjaci pacova hranjeni hranom koja je sadržala DEHP i to 0, 1, 2 i 4% tokom, 1,2 ili 4 nedelje. Životinje hranjene sa 2 i 4% hranom zaradile su manji porast telesne mase od kontrolne grupe. Postojalo je statistički značajno smanjenje triglicerida u grupi hranjene sa 1 i 2% DEHP, ali ne i u životinjama koje su bile hranjene sa 4% DEHP dijetom. Koncentracija u krvi slobodnih masnih kiselina su značajno povećane sa 2.2 do 2.9 puta u grupi hranjenoj sa 2 i 4% DEHP. DEHP tretman na bilo kom nivou doze ili trajanja tretmana nije uticao na nivo holesterola, mada su nivoi holesterola bili mnogo niži u kontrolnoj grupi hranjenih 4 nedelje u odnosu na tretman 1 i 2 nedelje. Glikoza u krvi je smanjena do 80% od nivoa kontrolne grupe hranjenoj sa 2% i 4% DEHP.

U studiji objavljenoj 2010.godine [101] gde su korišćeni genetski modifikovani miševi gde je mišiji PPAR gen zamenjen sa ljudskim genom, primećeno je da DEHP nije indukovao hepatomegaliju ili ekspresiju gena uključenih u oksidaciju masnih kiselina. U stvari, humanizovani miševi tretirani sa DEHP stekli su veću telesnu masu i imali povećanje epididimalnog belog masnog tkiva u odnosu na divlje miševe. Istraživači su pokazali da MEHP aktivacija ljudske i mišije PPAR rezultira suptilne razlike u regrutovanju ko-aktivator proteina.

Drugo, fetusna ili prenatalna izloženost ftalatima remeti steroidogenezu testisa, smanjuje androgenu biosintezu, a smanjena sinteza androgena je obezogen [102]. Treće, niska porođajna težina kao posledica loše ishrane, je faktor rizika za kasniju gojaznost. Nuklearni receptori za polne steroidne hormone takođe utiču na razvoj masnog tkiva. Npr. receptori za FSH, aromataze, estrogen receptor, androgen receptor, potvrdili su ulogu polnih steroida u regulisanju adipocitne hipertrofije i hiperpalzije [103].

Polni steroidi, u saradnji sa peptidnim hormonima kao što su hormon rasta, suprotstavljaju se delovanju insulina i kortizola na akumulaciju lipida. Neravnoteža ovih hormona, dovešće do dislipidemije i gojaznosti. Hormonalni nedostaci često uključuju relativni nedostatak, ili izmenjen odnos androgen/estrogen, smanjeno lučenja hormona rasta, hiperkortizolemija i povećana rezistencija na insulin [104]. Biološki efekti pojedinih ftalata u nastanku gojaznosti prikazani su u tabeli 5a.

Tabela 5a. Biološki efekti ftalata u nastanku gojaznosti [105]

	PPAR- $\gamma$ activation	Thyroid effect	Anti-androgenic effect
DEP/MEP	-	-	+/-
DBP/MBP	+/-	+/-	++
BBzP/MBzP	+	++	++
DEHP/MEHP	++	+/-	+

*Legenda:* ++ snažan efekat

+ umereni efekat

+/- nekonzistentan efekat

- nema efekta

Istraživanja kod glodara su pokazala da DEHP utiče na ekspresiju neuropeptida Y (NPY) u srednjem mozgu, što doprinosi promeni načina ponašanja hranjenja [106]. Podaci iz literature potvrđuju povezanost između urinarnih nivoa ftalatnih metabolita sa gojaznošću i insulinskom rezistencijom [9,10].

Naučnici su analizirali metabolite ftalata u urinu i njihovu povezanost sa indeksom telesne uhranjenosti (BMI) i obimom struka i utvrdili su da postoji pozitivna korelacija između prisustva specifičnih metabolita ftalata u urinu i to MEP, MBzP, MEHHP i MEOHP i obima struka. Metaboliti MBP, MEP i MBzP su takođe bili povezani sa insulinskom rezistencijom, markerom metaboličkog sindroma [9]. Na dejstvo ftalata su posebno osetljive trudnice, deca i adolescenti [107].

### **1.1.8.3. UTICAJ FTALATA NA POREMEĆAJ GLIKOREGULACIJE**

Niske doze endokrinih disruptora ometaju fiziologiju pankreasa, što dovodi do promene u regulaciji glikoze i metabolizma lipida. Postoji povezanost ftalatne izloženosti sa gojaznošću preko nuklearnih receptora (PPARs), naročito PPAR $\gamma$ , koji igraju važnu ulogu u lipogenezi i odlaganju masti. PPARs receptori su važni regulatori adipogeneze, oksidacije masnih kiselina, insulinske senzitivnosti, regulacije lipida i drugi aspekti homeostaze metabolizma. Osim regulisanja metabolizma lipida, ovi receptori u velikoj meri utiču na insulinsku osetljivost i glukoznu homeostazu. Funkcionalna oštećenja ili disregulacija ovih receptora je pokazano da dovodi do gojaznosti, lipodistrofije, masne jetre, dijabetes tip 2, ili kardiomiopatija, dok odgovarajuća aktivacija ligandima nudi metaboličke prednosti.

U animalnim studijama efekat DEHP na toleranciju glikoze su pomešani. Trudne ženke pacova su hranjene DEHP u dozi 1.25 i 6.25mg/kg/TM ili kukuruznim uljem tokom gestacije i laktacije. Kod potomaka je utvrđena abnormalnost beta ćelija pankreasa, smanjenje mase beta ćelija i smanjen sadržaj insulina u pankreasu. U odraslom dobu kod ženskih potomaka došlo je do povećanja nivoa glikemije, smanjenje serumskog insulina i smanjenje glikozne tolerancije. Dok kod muških potomaka došlo je do povećanja insulina u serumu, iako nije bilo statistički značajne razlike u nivou glikemije u krvi [108].

Rezultati i drugih istraživača su ukazali na poremećaj glikozne tolerancije kod mužjaka pacova koji su hranjeni ishranom koja sadrži 2% DEHP (~ 1000 mg/ kg/TM/D) [109], a dobili su manje na telesnoj masi od kontrolne grupe pacova, uprkos sličnom dnevnom energetsom unosu. Boberg i sar. [110] su pratili efekat DiBP kod gravidnih ženki pacova i ustanovljeno je da je nivo insulina i leptina bio niži kod fetusa čije su majke hranjene sa DiBP [~600 mg/kg/TM/D].

Gayathri i sar. [86] su pacove tretirali niskim dozama DEHP (750microg/100gTM) i kod njih su uspeli da izazovu simptome dijabetesa sa porastom nivoa glikemije u serumu i sniženjem vrednosti insulinemije.

Gojaznost je jedan od najvažnijih etioloških faktora za nastanak dijabetesa tipa 2. Podaci iz literature potvrđuju povezanost između urinarnih nivoa ftalatnih metabolita sa gojaznošću i insulinskom rezistencijom [9,10]. Stahlhut i sar. [10] su pronašli pozitivnu korelaciju između prisustva specifičnih metabolita ftalata u urinu i to MEP, MBzP, MEHHP i MEOHP i obima struka kod muškaraca starijih od 20 godina, a dva metabolita ftalata MEP i MBzP su bili povezani sa insulinskom rezistencijom, markerom metaboličkog sindroma. Hatch i sar. [9] su pronašli pomešanu povezanost MEP/MEHP i indeksa telesne uhranjenosti i obima struka kod žena i muškaraca različitih godina starosti.

U epidemiološkoj studiji poprečnog preseka na meksičkim ženama potvrđano je da nivo ftalatnih metabolita veći kod žena obolelih od dijabetesa, nego bez šećerne bolesti. Ti rezultati ukazuju na postojanje veze između ftalatne izloženosti i dijabetes melitusa tipa 2 [111]. Studijsku grupu je predstavljala 221 žena, pri čemu su sve žene bile sličnih godina (54±5 godina razlike). Žene sa dijabetesom su same otkrile bolest, tj. bolest je otkrivena pre studije i takvih žena je bilo 39 (17,4%) i one su bile značajno starije, manje obrazovane i gojaznije u odnosu na žene bez dijabetesa. U sakupljenim uzorcima urina su određivane koncentracije 9 ftalatnih metabolita. Kod žena sa dijabetesom su pronađene značajno više koncentracije DEHP metabolita: MEHHP, MEOHP i MECPP, ali je pronađena niža koncentracija MBzP (metabolit butil benzil ftalata) u poređenju sa ženama bez dijabetesa.

## 2. CILJ RADA

Ciljevi rada su:

- 1) Utvrditi da li su i koji urinarni metaboliti ftalata prisutni u ispitivanim grupama i da li postoje razlike u njihovim nivoima između bolesnika s tipom 2 šećerne bolesti, gojaznih i kontrolne grupe zdravih osoba
- 2) Utvrditi da li postoji povezanost između prisutnih urinarnih metabolita ftalata i gojaznosti, lipida i lipoproteina seruma kao parametara metaboličkog sindroma u ispitivanim grupama
- 3) Utvrditi da li postoji povezanost između prisutnih urinarnih metabolita ftalata i glikemije, insulinemije i insulinske rezistencije kao parametara metaboličkog sindroma u ispitivanim grupama

### 3. HIPOTEZE REZULTATA

- 1) Pretpostavka je da su u urinu naših ispitanika prisutni ftalatni metaboliti. Na osnovu literaturnih podataka bi se moglo očekivati eventualno nešto viši nivoi u gojaznih ispitanika i bolesnika s tipom 2 šećerne bolesti u odnosu na kontrolnu grupu zdravih ispitanika
- 2) Postojanje pozitivne veze između urinarnih metabolita ftalata i indeksa telesne mase, obima struka, nivoa ukupnog holesterola, LDL holesterola i triglicerida, odnosno negativne veze sa HDL holesterolom u grupi gojaznih ispitanika i bolesnika s tipom 2 šećerne bolesti
- 3) Postojanje pozitivne veze između urinarnih metabolita ftalata i nivoa glikemije, insulinemije i indeksa insulinske rezistencije u grupi gojaznih i ispitanika s dijabetes melitusom tip 2

#### 4. NAUČNA I DRUŠTVENA OPRAVDANOST ISTRAŽIVANJA

Poslednjih godina raste interes za hemijske materije koje remete rad endokrinog sistema (endocrine disrupting chemicals-EDCs), a tu pripadaju i ftalati. Oni mogu biti povezani sa razvojem metaboličkog sindroma i dijabetes melitusa tip 2. Podaci su često kontradiktorni. Do sada nije ispitivana humana kontaminacija ftalatima u našoj zemlji, što posebno čini interesantnim ovu studiju.

Istraživanje je deo projekta pod nazivom: "Ftalati kao hemijske supstance koje remete rad endokrinog sistema". Nositelj projekta je Medicinski fakultet Novi Sad, a rukovodilac projekta Prof.dr Milica Medić-Stojanoska. Realizaciju projekta je omogućio Pokrajinski sekretarijat za nauku i tehnološki razvoj Vojvodine. Prva faza ovog istraživanja je označena kao veza ftalata, metaboličkog sindroma i dijabetes melitusa tip 2. Predviđeno vreme trajanja projekta je 4 godine.

Našim istraživanjem utvrdićemo da li su ftalatni metaboliti prisutni u našoj populaciji i da li su njihovi nivoi viši u gojaznih ispitanika i pacijenata s dijabetes melitusom tip 2 u odnosu na zdrave ispitanike; da li postoji povezanost između nivoa urinarnih metabolita ftalata, indeksa telesne mase i obima struka, lipida i lipoproteina seruma, odnosno povezanost ftalata i nivoa glikemije, insulinemije i insulinske rezistencije kod gojaznih i obolelih od dijabetes melitusa tip 2. Na osnovu dobijenih rezultata će se indirektno steći uvid da li povećana izloženost pojedinim ftalatnim metabolitima u našoj populaciji može doprineti nastanku metaboličkog sindroma i tipa 2 šećerne bolesti.

Uređenjem i zaštitom životne sredine, smanjenjem izloženosti ftalatima, posebno u grupama koje su najviše osetljive na njihovo dejstvo, a to su deca, adolescenti i trudnice, bila bi moguća bolja prevencija navedenih poremećaja.

## 5. MATERIJAL I METODE

Istraživanje je sprovedeno u vidu studije preseka u trajanju od jedne godine (od 2012. do 2013. godine) u :

- Domu zdravlja „Novi Sad“ - Novi Sad
- Zavodu za zdravstvenu zaštitu radnika Novi Sad
- Klinici za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma Kliničkog centra Vojvodine.

Obuhvatilo je 305 ispitanika, oba pola, starosti od 18 do 50 godina. Svaka osoba uključena u istraživanje je informisana o cilju i značaju ispitivanja, a svoju saglasnost za dobrovoljno učestvovanje u istraživanju potvrdila je svojim potpisom na pripremljeni obrazac. Istraživanje je odobreno od strane Etičke komisije Medicinskog fakulteta Univerziteta u Novom Sadu, Etičkog odbora Kliničkog centra Vojvodine, Etičkog odbora Doma zdravlja “Novi Sad” i Etičke komisije Zavoda za zdravstvenu zaštitu radnika Novi Sad.

### 5.1. Kriterijumi za uključivanje, neuključivanje i isključivanje

Kriterijumi za uključivanje u ispitivanje bili su:

- Osobe oba pola, životne dobi od 18-50 godina
- Bolesnici s tipom 2 šećerne bolesti, na terapiji samo dijetetskim režimom ishrane, bez medikamentne terapije oralnim hipoglikemicima ili insulinom
- Gojazni ispitanici, bez dijabetes melitusa, sa  $BMI \geq 30 \text{ kg/m}^2$ ; obim struka za muškarce  $\geq 102 \text{ cm}$ , a za žene  $\geq 88 \text{ cm}$ . Uključeni su gojazni ispitanici kod kojih je ambulantnim ispitivanjem dokazano da se radi o hiperalimentacionoj gojaznosti
- Normalno uhranjene osobe bez dijabetes melitusa,  $BMI < 25 \text{ kg/m}^2$ , obim struka za muškarce  $< 94 \text{ cm}$ , za žene  $< 80 \text{ cm}$ .



Kriterijumi za neuključivanje bili su:

- Upotreba medikamentne terapije koja može imati upliv na lipidni status i glikoregulaciju: oralni hipoglikemici, oralna kontraceptivna sredstva, hormonska supstitucionalna terapija, hipolipemici, lekovi koji utiču na telesnu kompoziciju, glikokortikoidni lekovi, imunosupresivi.
- Osobe ženskog pola u fazi graviditeta ili laktacije

Kriterijumi za isključivanje bili su:

- Odluka ispitanika da više ne učestvuje u istraživanju

## 5.2. Podela u gupe

Ispitanici su podeljeni u tri grupe:

- I- Grupa gojazni ispitanici, sa centralnim tipom gojaznosti (104 ispitanika) bez dijabetesa. Dijagnoza je postavljena na osnovu preporuka Svetske zdravstvene organizacije na osnovu indeksa telesne mase (BMI) izračunatog kao odnos telesne mase u kilogramima i kvadrata telesne visine izražene u metrima kvadratnim, gde je  $BMI \geq 30 \text{ kg/m}^2$ . Centralna gojaznost se definiše kao obim struka  $\geq 102 \text{ cm}$  za muškarce i  $\geq 88 \text{ cm}$  za žene [112].
- II- Grupa oboleli od Dijabetes mellitusa tip 2 (101 ispitanik). Dijagnoza je postavljena od strane ordinirajućeg lekara na osnovu standardnog algoritma za dijagnozu dijabetes melitusa tip 2 prema Nacionalnom vodiču kliničke prakse diabetes mellitusa u našoj zemlji [113].  
Dijabetes se definiše glikemijom našte  $\geq 7,0 \text{ mmol/l}$  ili glikemija u bilo kom slučajnom uzorku krvi (bez obzira na obroke)  $\geq 11,1 \text{ mmol/l}$ . Na osnovu vrednosti glikemije u toku OGTT-a u 120. minuti  $\geq 11,1 \text{ mmol/l}$ .

**Kontrolna grupa** (100 ispitanika) su sačinjavali zdravi, normalno uhranjeni ispitanici bez dijabetes melitusa, sa  $BMI < 25 \text{ kg/m}^2$ , obim struka za muškarce  $< 94 \text{ cm}$ , a za žene  $< 80 \text{ cm}$ .

U odnosu na prisustvo ftalata u urinu svaka grupa je podeljena u podgrupe na one sa prisutnim ftalatima i one bez ftalata u urinu, odnosno na podgrupe MEP pozitivne, MEP negativne, MEHP pozitivne i MEHP negativne.

### 5.3. Metode rada

Posle informisanog pristanka ispitanika i pismene saglasnosti za uključivanje u istraživanje, svim ispitanicima se popunjavao unapred dizajniran upitnik, koji se sastojao iz dva dela: opšti upitnik (opšte demografske karakteristike, porodična i lična anamneza) i modifikovan Međunarodni upitnik o fizičkoj aktivnosti (International Physical Activity Questionnaire –IPAQ) [114]. Svim ispitanicima su se izmerili antropometrijski parametri:

- Telesna visina (TV)- za merenje telesne visine korišćen je antropometar sa postoljem-Harpenden (po Martinu), sa preciznošću od 0,1cm. Merenje je vršeno bez obuće, s položajem glave tako da je Frankfurtska ravan (linija koja povezuje tragus ušne školjke sa unutrašnjim uglom oka iste strane) horizontalna.
- Telesna masa (TM)- za merenje telesne mase korišćena je medicinska decimalna vaga sa pokretnim tegovima.
- Obim struka-meren plastičnim elastičnim centimetrom, sa preciznošću od 0,1cm. Merena osoba stoji slobodno, a pete su razmaknute 25 do 30 cm. Merenje se vrši na sredini linije koja spaja prednje gornji greben ilijačne kosti i luk rebara.

Iz ovih antropometrijskih parametara izračunavan je sledeći antropometrijski indeks :

- Indeks telesne mase (BMI )- kao količnik telesne mase u kilogramima i kvadrata telesne visine izražen u metrima kvadratnim  $BMI=TM/TV^2$  (kg/m<sup>2</sup>)
- Za merenje arterijskog krvnog pritiska korišćen je sfigmomanometar po Riva-Rocci-ju. Merenje je vršeno u sedećem položaju, nakon 10-15 minuta mirovanja. Kao pouzdana, uzeta je srednja vrednost od tri uzastopna merenja krvnog pritiska (sa razmakom od 10 minuta između merenja).

- Nivo fizičke aktivnosti je procenjen modifikovanim Međunarodnim upitnikom o fizičkoj aktivnosti (*International Physical Activity Questionnaire* IPAQ) [114], pri čemu se kao fizički aktivne označavaju one osobe koje zadovoljavaju kriterijume o minimalnom nivou fizičke aktivnosti povezanim sa pozitivnim zdravstvenim efektima, predloženim od strane American College of SportsMedcine (2007), a kao fizički neaktivne, odnosno fizički nedovoljno aktivne osobe koje nezadovoljavaju ove kriterijume.

Klasifikacija nivoa fizičke aktivnosti:

**Nizak**- odnosi se na osobe čiji nivo fizičke aktivnosti ne zadovoljava kriterijume za umeren i visok.

**Umeren**- označava aktivnosti po sledećim, kriterijumima

- 3 ili više dana nedeljno aktivnosti visokog intenziteta u trajanju od najmanje 20 minuta dnevno ili
- 5 ili više dana u nedelji aktivnosti umerenog intenziteta i/ili šetnja u trajanju od najmanje 30 minuta dnevno ili
- 5 ili više dana u nedelji kombinacija aktivnosti visokog, umerenog intenziteta i šetnje kako bi se postigao minimum ukupne fizičke aktivnosti od najmanje 600 MET-min/ned

**Visok**-označava nivo aktivnosti po sledećim kriterijumima

- Intenzivna fizička aktivnost u trajanju najmanje 3 dana u nedelji pri čemu se postiže ukupna aktivnost od najmanje 1500 MET-min/nedeljno ili
- 7 ili više dana kombinacija šetnje, umerene i intenzivne aktivnosti pri čemu se postiže ukupna aktivnost od najmanje 3000 MET-min/nedeljno.

Kako je ukupna količina aktivnosti funkcija intenziteta, trajanja i frekvencije, jedan od načina procene ukupne energetske potrošnje tokom aktivnosti koristiće se metabolički ekvivalent (MET), pri čemu 1MET označava energetske potrošnju pri mirnom sedenju.

Aktivnosti od najmanje 3 MET označava veoma nizak nivo potrošnje (lagana šetnja, uobičajena dnevna aktivnost); 3-6 MET označava aktivnosti umerenog intenziteta (brza šetnja, rekreativni sportovi, vožnja bicikla, ples, stoni tenis...); preko 6MET za veoma zahtevne aktivnosti (brzo trčanje, veoma brzo hodanje, skijanje, odbojka i drugi sportovi).

Za postizanje korisnih zdravstvenih efekata potrebna je minimalna potrošnja od 600 MET-min/nedeljno.

- Vrednosti glikemije naše određivana je iz jutarnjeg uzorka seruma. Analiza se radila u laboratoriji Zavoda za zdravstvenu zaštitu radnika Novi Sad, kvantitativno enzimskom GOD/PAP metodom, na aparatu BS-200 Chemistry Analyzer (referentna vrednost 3,80 mmol/l do 6,40 mmol/l).
- Kvantitativno određivanje insulina u serumu naše uzorkovalo se iz jutarnjeg uzorka seruma. Analiza se radila u Kliničkom centru Vojvodine- Centar za laboratorijsku medicinu. Test predstavlja imunoesej za kvantitativno određivanje insulina iz seruma na aparatu Elecsys 2010, primenom elektrohemioluminiscentne metode- ECLIA. Referentne vrednosti su od 2,6 mIU/l do 24,9 mIU/l. Preciznost metode je definisana intraesejskim koeficijentom varijacije 1,5% i 1,7%, a interesejski koeficijent varijacije je 2,5% i 2,1%.
- Modelom homeostaze (*homeostasis assessment model*)-

HOMA-IRI, izračunavan je indeks insulinske rezistencije (HOMA IRI)

$$\text{HOMA-IRI} = \text{insulin (mIU/l)} \times \text{glikemija nešte (mmol/l)} / 22,5$$

Pokazatelji insulinske rezistencije su vrednosti HOMA-IRI  $\geq 2,5$ .

Model HOMA je adekvatan i pouzdan metod za procenu promena u insulinskoj rezistenciji, jer primarno precizno određuje vrednost bazalne insulinske rezistencije. Ovo je metod koji se sve više primenjuje u prospektivnim epidemiološkim studijama, jer obezbeđuje pouzdane mere bazalne insulinske senzitivnosti.

- Lipidi i lipoproteini seruma (ukupni holesterol, trigliceridi, HDL holesterol, LDL holesterol)- uzorkovali su se iz jutarnjeg uzorka seruma nakon 12 časovnog gladovanja. Analiza se radila u laboratoriji Zavoda za zdravstvenu zaštitu radnika Novi Sad.
- Ukupni holesterol se određivao metodom holesterol oksidazom (CHOD-PAP). Referentna vrednost ukupnog holesterola od 3,10 mmol/l do 5,90 mmol/l.
- HDL-holesterol se određivao direktnom metodom: enzimska kolorimetrijska metoda (fenol+4-aminoantipirin uz katalitičko delovanje peroksidaze) merni opseg od 0.08-5.16 mmol/l a detekcioni limit 0.08 mmol/l, referentna vrednost od 0,91mmol/l do 2,00 mmmol/l.

- LDL –se izračunavao pomoću Friedewaldove formule :

$$\text{LDL-holesterol (mmol/L)} = \text{ukupni holesterol} - \text{HDL-holesterol} - \text{trigliceridi}/2,2$$

Referentna vrednost LDL-holesterola od 1,60 mmol/l do 4,78 mmol/l.

- trigliceridi-enzimskom metodom GPO-PAP, na aparatu BS-200 Chemistry Analyzer. Referentna vrednost od 0,80 mmol/l do 2,01mmol/l.
- Indeks ateroskleroze izračunavan je kao količnik vrednosti LDL-holesterola i HDL-holesterola. Referentne vrednosti su od 1.00 do 3.00.
- Indeks ukupni HOL/HDL (RF) izračunavan je kao količnik vrednosti ukupnog holesterola i HDL-holesterola. Referentne vrednosti su od 1.00 do 5.00.
- Biohemijske analize: alanin-amino transferaza (ALT), aspartat-amino transferaza (AST),  $\gamma$ -glutamil transpeptidaza (GGT) i serumski kreatinin uzorkovao se iz jutarnjeg uzorka seruma našte. Analiza se radila na aparatu BS-200 Chemistry Analyzer. Kreatinin se određivao Jaffe-ovom kinetičkom metodom. GGT gamaglutamil-3-karboksi-4-nitroamid metodom (GAMMA-GT-CARBOXY). ALT i AST IFCC/SFBC metodom. Referentne vrednosti za žene: ALT od 4,0 U/l do 35,0 U/l; AST od 4,0 U/l do 35,0U/l; GGT od 5,0 U/l do 40,0U/l; kreatinin od 44 umol/l do 80 umol/l; za muškarce: ALT od 4,0 U/l do 50,0 U/l; AST od 4,0 U/l do 50,0U/l; GGT od 8,0 U/l do 61,0U/l; kreatinin od 62 umol/l do 106 umol/l.

- Merili smo nivo 10 urinarnih ftalatnih metabolita iz prvog jutarnjeg uzorka urina, koji se sakupljao u posebne posude izrađene od polistirenske plastike bez ftalata, a poklopci od polietilena bez ftalatnih estara. Analizom fiziološkog rastvora koji je bio čuvan u istoj posudi nisu detektovani monoftalatni estri. Određivali smo sledeće metabolite ftalata: mono-metil-ftalat (MMP), mono-etil-ftalat (MEP), mono-n-butil-ftalat (MnBP), mono-benzil-ftalat (MBzP), mono-ciklo-heksilftalat (MCHP), mono-n-propil-ftalat (MPP), mono-n-amil-ftalat (MnAP), mono-izo-amil-ftalat (MiAP), mono-n-oktil-ftalat (MOP), mono-2-etilheksil-ftalat (MEHP). One urine gde smo kvantifikovali metabolite ftalata smatrali smo pozitivnim, a urine gde nismo kvantifikovali metabolite ftalata smo smatrali negativnim. Analiza se radila u laboratoriji Zavoda za zdravstvenu zaštitu radnika –Novi Sad, gasnom hromatografijom/masenom spektrometrijom (GC MSD)- na apartu Agilent Technologies GC 7890A i Agilent Technologies MSD 5975C.

Sav pribor i aparature (sem GC MSD), bili su pažljivo oprani acetonom i n-heksanom neposredno pre upotrebe. Slepe probe su analizirane pre uzoraka u svakoj seriji i kod njih nisu detekovani monoftalatni estri.

Nakon prikupljanja, urini su se zamrzavali na  $-20^{\circ}\text{C}$  do izvođenja analize. Nakon dostavljanja uzorka urina u laboratoriju urini su se otopili. Urin (5 ml) je sipan u kivetu za centrifugiranje (odgovarajuće zapremine; ako je urin konzervisan sa NaF, onda pre dodatka amonijačnog pufera dodan je na vrh špatule–veličine zrna graška  $\text{CaCl}_2$  i promućkan do rastvaranja), a zatim je dodat amoniumacetatni pufer 1 M (1250  $\mu\text{L}$ ). Nakon dodatka  $\beta$ -glukuronidaze (25  $\mu\text{L}$ , 198455 IU/mL), uzorak je inkubiran na  $37^{\circ}\text{C}$  u toku 90 min. Uzorak se zatim zakiselio do  $\text{pH}\sim 2$  sa 35 % hloridnom kiselinom. Nakon dodavanja MTBE (metiltercbutiletar) (4 mL) i natrijumhlorida ( $\sim 1$  g), uzorak urina se intenzivno mućkao (vortex) u toku 2 min, a zatim centrifugirao na 3000 obrtaja u minuti u toku 15 min. MTBE sloj se odvojao i sušio sa anh.  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  i upario u struji  $\text{N}_2$  na  $35^{\circ}\text{C}$ . Suvi ostatak se kvantitativno prebacivao u GC inserte (zapremine 250  $\mu\text{L}$ ) pomoću dihlormetana i uparavao do suva.

Rastvor diazometana u dihlormetanu (200  $\mu\text{L}$ ) je dodavan na suvi ostatak ekstrakta monoftalatnih estara, a zatim nakon 30 minuta stajanja na sobnoj temperaturi u zatvorenim insertima rastvarač je otparen (stajanjem otvorenih inserata preko noći). Derivatizovani rezidui ftalatnih estara su rastvoreni u toluenu (50  $\mu\text{L}$ ). Alikvot svakog uzorka (1 $\mu\text{L}$ ) je injektovanu GC-MS sistem. GC-MS analiza izvedena je pomoću Agilent 7890A GCSystem i 5975C VL MSD instrumenta (Agilent Technologies, CA, SAD). Korišćena je kapilarna kolona 30m DB-5MS (J&W, CA, SAD) sa ID 0,25mm i debljine filma od 0,25 $\mu\text{m}$ .

Temperaturni program: početna temperatura pećnice je bila 50°C. Nakon držanja na početnoj temperaturi za 1 min, temperatura je rasla do 130°C brzinom od 20° C/min i držana 1 min, a zatim na 280°C brzinom od 8°C/min, gde je ostala konstantna za 6,25 min, ukupno vreme trajanja analize (Run Time) je 31 minut. Helijum je korišćen kao noseći gas uz protok od 1,0916mL/min. Temperatura jonskog izvora je 230°C, a kao jonizacioni mod korišćena je pozitivna elektronska jonizacija. Temperatura quadrupol-a je bila 150°C. Joni koji su se koristili za kvantitaciju i potvrđivanje (SIM) prikazani su u tabeli 6a.

Tabela 6a. Monitorisani joni za kvantitaciju i potvrđivanje, i retenciona vremena za analizirane metil derivate ftalatnih monoestara

Analit	Monitorisani joni (m/z)		Retenciono vreme (min)
	Kvantifikacija	Potvrđivanje	
MMP	163	149, 162	11.230
MEP	163	149, 176	11.304
MPP	163	149, 181	12.619
MnBP	163	149, 181	13.961
MiAP	163	149, 181	14.740
MnAP	163	149, 181	15.276
MCHP	163	149, 181	17.488
MBzP	163	149, 164	18.904
MOP	163	149, 181	18.994
MEHP	163	149, 181	23.388

*Legenda:* MMP mono-metil-ftalat, MEP mono-etil-ftalat, MPP mono-n-propil-ftalat, MnBP mono-n-butil-ftalat, MiAP mono-izo-amil-ftalat, MnAP mono-n-amil-ftalat, MCHP mono-cikloheksil-ftalat, MOP mono-n-oktil-ftalat, MEHP mono-2-etilheksil-ftalat, MBzP mono-benzil-ftalat.

Monoftalatni estri: MMP, MEP, MPP, MiAP, MnAP, MCHP, MOP i MEHP su sintetisani (prema sopstvenom postupku) u Odeljenju laboratorijske dijagnostike Zavoda za zdravstvenu zaštitu radnika, a MnBP i MBzP su nabavljeni od Sigma-Aldrich kompanije i korišćeni su za pravljenje standardnih rastvora. Koncentracije ftalatnih monoestara u urinu su određivani metodom eksternih standarda kao metilderivati ftalatnih monoestara. Ponovljivost kalibracione krive za koncentracije metilderivata ftalatnih monoestara dobijeni su s korelacionim koeficijentima većim od 0,99 (poznata koncentracija analita u odnosu/odgovor) i one su linearne u rasponu od 5-200 ng/mL. Test iskorišćenja ("recovery") za metilderivate ftalatnih monoestara smo odredili spajkovanjem do koncentracije od 50 ng/mL, a rezultati su prikazani u tabeli 7a.



Tabela 7a. Test iskorišćenja metode i kvantitacioni limit ftalatnih monoestara

Analit	Recovery (%)	LOQ <sup>A</sup> (ng/mL)	CV <sup>B</sup> (%)
MMP	70.1	1.0	10.8
MEP	85.2	0.5	3.1
MPP	90.8	0.5	2.4
MnBP	112.3	0.5	7.6
MiAP	106.5	0.5	2.7
MnAP	89.5	0.5	0.9
MCHP	98.0	0.5	1.4
MBzP	86.1	0.5	2.9
MOP	97.6	0.5	6.2
MEHP	101.8	0.5	5.9

*Legenda:* MMP mono-metil-ftalat, MEP mono-etil-ftalat, MPP mono-n-propil-ftalat, MnBP mono-n-butil-ftalat, MiAP mono-izo-amil-ftalat, MnAP mono-n-amil-ftalat, MCHP mono-cikloheksil-ftalat, MOP mono-n-oktil-ftalat, MEHP mono-2-etilheksil-ftalat, MBzP mono-benzil-ftalat; LOQ<sup>A</sup> limit kvantitacije; CV<sup>B</sup> koeficijent varijacije

Za potvrđivanje i analizu monoftalatnih estara (određivanih kao metilestri) korišćen je AMDIS Agilent-ov softverski paket sa pripadajućim bibliotekama masenih spektara (Fiehn i NIST08).

#### 5.4. Matematičko-statistička obrada i prezentacija podataka

Obzirom da u uzorku istraživanja postoje podaci koji imaju parametrijska i neparametrijska svojstva, isti su analizirani parametrijskim i neparametrijskim postupcima po učestalosti modaliteta. Statistička analiza je obuhvatala:

Izračunavanje osnovnih vrednosti deskriptivne statistike za numeričke parametre: srednje vrednosti, standardna devijacija (SD), minimum i maksimum svih vrednosti, koeficijent varijacije (CV), interval poverenja. Korišten je multivarijantni postupak multivarijantne analize varijanse (MANOVA), diskriminativna analiza i linearna regresiona analiza. Od univarijantnih postupaka primenjena je ANOVA, "Roy"-ev test. Da bi se izbeglo gubljenje informacija, pronalaženjem najfinijih veza i saznanja, na neparametrijskim veličinama, izvršeno je skaliranje podataka na tabelama kontigencije. Ovim postupkom se, na osnovu učestalosti, svakoj klasi pridružuje realan broj. Na skaliranim vrednostima moguća je primena postupaka vezanih za skalu razmere, odnosno multivarijantne analize varijanse (MANOVA), diskriminativne analize i drugih parametrijskih postupaka i metoda. Od univarijantnih postupaka primenjeni su: "Roy"-ev test, Pirsonov koeficijent kontigencije ( $\chi$ ) i koeficijent multiple korelacije (R). Izračunavanjem koeficijenta diskriminacije izdvojena su obeležja koja određuju specifičnost subuzorka i obeležja koja je potrebno isključiti iz dalje obrade, odnosno vrši se redukcija posmatranog prostora. Takođe prikaz procena homogenosti subuzoraka, distance između njih i Klaster analiza, imala je za cilj da se što je bolje moguće izuči posmatrana pojava.

Svrha primene matematičko-statističke analize je da se odrede karakteristike svakog subuzorka, homogenost i distance između njih u odnosu na izvedene karakteristike, da bi se moglo izvesti pouzdano i precizno predviđanja i prognoza sa određenom pouzdanošću.

Pri testiranju hipoteze koristi se kritična vrednost  $p$ , koji predstavlja rizik zaključivanja. Ako je  $p > 0.100$  nema razloga da se ne prihvati "nulta" hipoteza, to jest da između ispitivanih karakteristika nema značajnosti. Za odbacivanje „nulte“ hipoteze postoji dva praga značajnosti. U slučaju kada je  $0.10 > p > 0.05$  prihvata se alternativna hipoteza da postoji značajna razlika, sa povećanim rizikom zaključivanja.

U datim tabelama razlika sa povećanim rizikom zaključivanja biće obeležena za znakom i osenčena na sledeći način: “”, kada je  $p < 0.05$  prihvata se alternativna hipoteza i kaže se da postoje značajne (signifikantne) razlike. Signifikantna razlika biće obeležena znakom i osenčena na sledeći načina: \*

Dobijeni rezultati prikazani su tekstualno, tabelarno i grafički.

## 6. REZULTATI

Istraživanje je sprovedeno kao studija preseka, na grupi od 305 osoba oba pola koji su ispunili kriterijume za uključivanje u studiju. Podjednaka je bila zastupljenost polova po grupama bez statistički značajne razlike ( $p = 0.518 \chi^2$  – testa).

### 6.1. Opšte karakteristike ispitanika

Tabela 1. Životna dob ispitanika

Grupe	Srednja vrednost	SD	Min.	Maks.
Gojazni	38.61	8.69	19	50
DM tip 2	46.28	6.11	38	50
Kontrolna grupa	36.07	7.93	18	50

Prosečna životna dob gojaznih ispitanika je bila  $38.61 \pm 8.69$  godina, obolelih od dijabetes mellitusa tip 2 (DM tip2)  $46.28 \pm 6.11$  godina, a kontrolne grupe  $36.07 \pm 7.93$  godina.

Tabela 2. Značajnost razlike između grupa ispitanika prema životnoj dobi

Analiza	N	F	p
MANOVA	1	45.574	.000
Diskriminativna	1	45.574	.000

Na osnovu vrednosti  $p=0.000$  (analize MANOVA) i  $p=0.000$  (diskriminativne analize) uočavamo da je postojala razlika i jasno definisana granica između grupa prema životnoj dobi.

Tabela 3. Karakteristike i homogenost grupa prema životnoj dobi

	Gojazni	DM tip 2	Kontrolna grupa	dpr %
Godine	umerene* <sup>1</sup>	veće* <sup>2</sup>	manje	100.000
n/m	50/104	75/101	63/100	
%	48.08	74.26	63.00	

Legenda: \*<sup>1</sup> da se grupa statistički značajno razlikuje od jedne grupe; \*<sup>2</sup> da se grupa statistički značajno razlikuje s dve grupe; hmg – homogenost; dpr % - doprinos obeležja karakteristikama

Gojazni ispitanici su bili statistički značajno stariji od kontrolne grupe ( $p=0.041$ ), a oboleli od DM tip 2 su bili statistički značajno stariji u odnosu na kontrolnu grupu ( $p=0.021$ ) i u odnosu na gojazne ( $p=0.046$ ) (Tabela 3).

Tabela 4. Zastupljenost navike pušenja i stepena fizičke aktivnosti kod 305 ispitanika

Karakteristike		Gojazni		DM tip 2		Kontrolna grupa	
		N	%	N	%	N	%
Pušenje	DA	29	27.9	38	37.6	42	42.0*
	NE	75	72.1*	63	62.4	58	58.0
Fizička aktivnost	Niska	32	30.8”	46	45.5*	1	1.0
	Umerena	28	26.9”	14	13.9	37	37.0*
	Visoka	44	42.3	41	40.6	62	62.0*

Legenda: ”da je nivo statističke značajnosti  $0.10 > p > 0.05$ ;

\*da je nivo statističke značajnosti  $p < 0.05$

Tabela 4b .Značajnost razlika između grupa prema navici pušenja i stepenu fizičke aktivnosti

Karakteristike		Gojazni i DM tip 2	DM tip 2 i Kontrolna grupa	Gojazni i Kontrolna grupa
		p	p	p
Pušenje	DA	.245	.031	.041
	NE	.047	.324	.036
Fizička aktivnost	Niska	.031	.000	.032
	Umerena	.058	.000	.322
	Visoka	.314	.003	.005

Posmatranjem tabele 4 uočavamo da je učestalost nepušača bila veća u svim u grupama u odnosu na pušače. Nepušača je bilo statistički više zastupljeno u grupi gojaznih (72.12%) u odnosu na kontrolnu grupu (58.00%  $p=0.036$ ). Među ispitanicima sa DM tip 2 nepušača je bilo (62.4%) i nije se statistički značajno razlikalo u odnosu na kontrolnu grupu (58.0%  $p>0.1$ ), a postojala je statistički značajna razlika u odnosu na grupu gojazni (72.1%  $p=0.047$ ). Pušača u grupi gojaznih je bilo 27.9% što je statistički značajno manje u odnosu na kontrolu (42%  $p=0.041$ ). Među ispitanicima s DM tip 2 pušača je bilo 37.6% što je statistički značajno manje nego u kontrolnoj grupi (42%  $p=0.031$ ). Dok nije uočena statistički značajna razlika u navici pušenja između grupa gojaznih i DM tip 2 ( $p>0.1$ ) (Tabela 4 i 4b). Posmatranjem ovog obeležja može se zaključiti da je postojala vrlo niska povezanost između grupa i pušenja ( $p = 0.097 \chi^2$  – testa ;  $\chi = 0.123$ ).

Analiza razlika između grupa prema stepenu fizičke aktivnosti (Tabela 4 i 4b) pokazuje da je *niska fizička aktivnost* bila najviše zastupljena kod obolelih od DM tip 2 (45.54%) što je bilo statistički značajno više u odnosu na grupu *gojaznih* (30.77%  $p=0.031$ ) i *kontrolnu grupu* zdravih (1.00%  $p=0.000$ ).

*Umerena fizička aktivnost* je bila najviše zastupljena kontrolnoj grupi zdravih (37.00%) što je bilo i statistički značajno više nego kod ispitanika s DM tip 2 (13.86%  $p=0.000$ ). Međutim razlika sa grupom gojaznih ispitanika nije bila statistički značajna (26.9%  $p>0.1$ ). Gojazni u odnosu na dijabetesne ispitanike su imali statistički značajno veći stepen umerene fizičke aktivnosti ( $p=0.058$ ).

*Visoka fizička aktivnost* je bila statistički značajno više zastupljena u kontrolnoj grupi (62.00%) u odnosu na grupu gojaznih ispitanika (42.31%  $p=0.005$ ) i ispitanika s DM tip 2 (40.59%  $p=0.003$ ). Dok nije postojala statistički značajna razlika između grupa gojaznih i dijabetesnih ispitanika. Posmatranjem povezanosti između grupa i stepena fizičke aktivnosti može se reći da je povezanost niska ( $p = 0.000 \chi^2$  – testa;  $\chi = 0.395$ ).

Tabela 5. Prosečne vrednosti arterijskog krvnog pritiska

Grupe	TA	$\bar{x}$	SD	Min	Maks	CV	CI	
Gojazni N=104	Sistolni	126.54	14.75	90.0	190.0	11.65	123.67	129.41
	Dijastolni	80.55	9.13	60.0	102.0	11.33	78.77	82.32
DM tip 2 N=101	TA	$\bar{x}$	SD	Min	Maks	CV	CI	
	Sistolni	129.04	18.54	90.0	190.0	14.37	125.38	132.70
	Dijastolni	81.98	11.14	60.0	110.0	13.59	79.78	84.18
Kontrolna grupa N=100	TA	$\bar{x}$	SD	Min	Maks	CV	CI	
	Sistolni	115.38	12.88	90.0	150.0	11.16	112.82	117.94
	Dijastolni	73.98	9.13	50.0	95.0	12.34	72.17	75.79

Legenda: TA-arterijski krvni pritisak;

CV-koeficijent varijacije;

CI-interval poverenja;

SD-standardna devijacija

Prosečne vrednosti sistolnog i dijastolnog krvnog pritiska su u grupi gojaznih ispitanika, ispitanika s tipom 2 šećerne bolesti i kontrolnoj grupi bile u granicama normalnih vrednosti (Tabela 5).

Tabela 6. Značajnost razlike između grupa ispitanika u odnosu na vrednost arterijskog krvnog pritiska

Analiza	N	F	p
MANOVA	2	11.426	.000
Diskriminativna	2	11.781	.000

Iako su sve tri ispitivane grupe imale normalne vrednosti i sistolnog i dijastolnog krvnog pritiska utvrđeno je da je postojala razlika i jasno definisana granica između grupa ispitanika

( $p=0.000$  MANOVA;  $p=0.000$  diskriminativne analize) prema vrednostima arterijskog krvnog pritiska.

Oboleli od DM tip 2 su imali statistički značajno veće vrednosti sistolnog ( $p=0.046$ ) i dijastolnog arterijskog krvnog pritiska ( $p=0.044$ ) u odnosu na kontrolnu grupu, gojazni su takođe imali statistički značajno veće vrednosti sistolnog ( $p=0.047$ ) i dijastolnog arterijskog krvnog pritiska ( $p=0.041$ ) u odnosu na kontrolnu grupu, a nije uočena statistički značajna razlika prema vrednostima sistolnog i dijastolnog arterijskog krvnog pritiska između gojaznih i DM tip 2 ( $p>0.1$ ) (Tabela 7).

Tabela 7. Karakteristike i homogenost grupa ispitanika u odnosu na vrednost arterijskog krvnog pritiska

TA	Gojazni	DM tip 2	Kontrolna grupa	dpr %
Dijastolni	umerene* <sup>1</sup>	veće* <sup>1</sup>	manje	50.769
Sistolni	umerene* <sup>1</sup>	veće* <sup>1</sup>	manje	49.231
n/m	59/104	52/101	60/100	
%	56.73	51.49	60.00	

Legenda: \*<sup>1</sup> da se grupa statistički značajno razlikuje od jedne grupe;

TA-arterijski krvni pritisak;

hmg – homogenost;

dpr % - doprinos obeležja karakteristikama

Svojstvo svake grupe najviše je definisao dijastolni krvni pritisak jer je doprinos obeležja karakteristikama 50.77% zatim sledi sistolni krvni pritisak 49.23%. Homogenost grupe gojaznih je bila 56.73%, DM tip 2 je 51.49% i kontrone grupe je 60.00%.



### 6.1.1. Osnovni antropometrijski parametri ispitivanih grupa

Tabela 8. Antropometrijske karakteristike ispitanika

Grupe	Antropometrijski parametri	$\bar{x}$	SD	Min	Maks	CV	CI	
Gojazni N=104	BMI	35.20	6.74	30.1	60.2	19.16	33.89	36.51
	OS	110.18	14.87	88.0	160.0	13.50	107.29	113.08
DM tip 2 N=101	Antropometrijski parametri	$\bar{x}$	SD	Min	Maks	CV	CI	
	BMI	31.15	7.27	17.1	55.8	23.35	29.71	32.58
	OS	102.93	16.83	66.0	157.0	16.35	99.61	106.25
Kontrolna grupa N=100	Antropometrijski parametri	$\bar{x}$	SD	Min	Maks	CV	CI	
	BMI	22.84	2.02	18.6	24.9	8.85	22.44	23.24
	OS	78.44	7.97	60.0	93.0	10.17	76.86	80.02

*Legenda:* BMI-Indeks telesne mase; OS-obim struka;

CV-koeficijent varijacije;

CI-interval poverenja;

SD-standardna devijacija

Antropometrijska ispitivanja u grupi gojaznih ukazala su da je prosečni indeks telesne mase bio  $35.20 \pm 6.74 \text{ kg/m}^2$ , odnosno na nivou drugog stepena gojaznosti, uz visoko rizične vrednosti obima struka ( $110.18 \pm 14.87 \text{ cm}$ ).

U grupi DM tip 2 prosečni indeks telesne mase je bio ( $31.15 \pm 7.27 \text{ kg/m}^2$ ), odnosno na nivou prvog stepena gojaznosti, uz visoko rizične vrednosti obima struka ( $102.93 \pm 16.83 \text{ cm}$ ).

U kontrolnoj grupi prosečni indeks telesne mase je bio  $22.84 \pm 2.02 \text{ kg/m}^2$ , na nivou normalne uhranjenosti, uz normalne vrednosti obima struka  $78.44 \pm 7.97 \text{ cm}$ , što je prikazano u Tabeli 8.

Tabela 9. Značajnost razlika između grupa ispitanika u odnosu na antropometrijske parametre

Analiza	N	F	p
MANOVA	2	37.737	.000
Diskriminativna	2	42.472	.000

Istraživanjem je pokazano da je postojala razlika i jasno definisana granica između grupa ispitanika ( $p=0.000$  analize MANOVA i  $p=0.000$  diskriminativne analize) na osnovu antropometrijskih parametara (Tabela 9).

Tabela 10. Karakteristike i homogenost grupa ispitanika u odnosu na antropometrijske parametre

Antropometrijski parametri	Gojazni	DM tip 2	Kontrolna grupa	dpr %
OS	veće* <sup>2</sup>	umerene* <sup>1</sup>	manje	87.293
BMI	veće* <sup>2</sup>	umerene* <sup>1</sup>	manje	3.591
n/m	77/104	65/101	97/100	
%	74.04	64.36	97.00	

Legenda: \*<sup>1</sup> da se grupa statistički značajno razlikuje od jedne grupe;

\*<sup>2</sup> da se grupa statistički značajno razlikuje s dve grupe;

OS-obim struka; BMI-Indeks telesne mase;

hmg – homogenost; dpr % - doprinos obeležja karakteristikama

Tabela 10a. Značajnost razlika između grupa po antropometrijskim parametrima

Antropometrijski parametri	Gojazni i Kontrolna grupa	DM tip 2 i Kontrolna grupa	Gojazni i DM tip 2
	p	p	p
OS	.011	.038	.047
BMI	.026	.041	.049

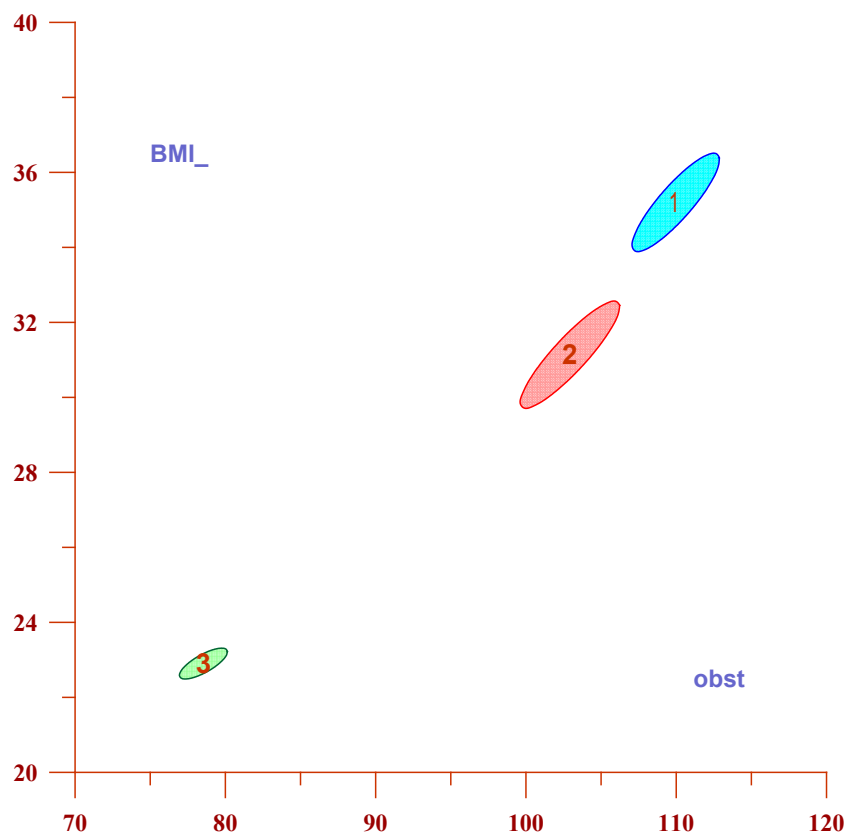
*Legenda:* OS-obim struka;

BMI-Indeks telesne mase

Diskriminativna analiza je pokazala da je granica među grupama jasno definisana ( $p=0.000$ ), odnosno moguće je odrediti karakteriske svake grupe u odnosu na antropometriju. Gojazni su imali statistički značajno veće vrednosti obima struka ( $p=0.011$ ) i BMI ( $p=0.026$ ) u odnosu na kontrolnu grupu. Ispitanici sa DM tip 2 su imali statistički značajno veće vrednosti obima struka ( $p=0.038$ ) i BMI ( $p=0.041$ ) u odnosu na kontrolnu grupu. Gojazni su imali statistički značajno veće vrednosti obima struka ( $p=0.047$ ) i BMI ( $p=0.049$ ) u odnosu na DM tip 2 (Tabela 10 i 10a).

Na grafikonu 1. moguće je zapaziti da u odnosu na **obim struka i BMI**, kontrolna grupa (3) imala najmanju vrednost, a najveću vrednost gojazni ispitanici (1).

Grafikon 1. Grafički prikaz elipse (intervala poverenja) grupa ispitanika kod obima struka i BMI



*Legenda:* gojazni (1); DM tip 2 (2); kontrolna grupa (3);

obim struka (obst); BMI (Indeks telesne mase)

### 6.1.2. Analiza glikoregulacije ispitanika

U gojaznih ispitanika je prosečna vrednost glikemije našte bila u referentnim granicama ( $5.31 \pm 0.57$  mmol/l) kao i prosečna vrednost insulinemije ( $14.20 \pm 7.99$  u/l), dok je vrednost HOMA-IRI ( $3.38 \pm 2.02$ ) bila povišena i ukazivala na prisustvo insulinske rezistencije.

Prosečne vrednosti glikemije našte su u grupi ispitanika s DM tip 2 bile povišene ( $8.68 \pm 3.94$  mmol/l), a prosečne vrednosti insulinemije su u referentnom opsegu ( $13.39 \pm 11.82$  u/l). Prosečna vrednost HOMA-IRI ( $4.79 \pm 4.05$ ) je bila povišena i ukazivala na prisustvo insulinske rezistencije.

Prosečne vrednosti svih praćenih parametara glikoregulacije u kontrolnoj grupi su bile u granicama referentnih vrednosti: glikemije našte ( $5.07 \pm 0.50$  mmol/l), insulinemije ( $7.08 \pm 2.31$  u/l) i vrednosti HOMA-IRI ( $1.61 \pm 0.57$ ). Navedeni rezultati prikazani su na Tabeli 11.

Tabela 11. Parametri glikoregulacije u odnosu na grupe

Grupe	Parametri Glikoregulacije	$\bar{x}$	SD	Min	Maks	CV	CI	
Gojazni N=104	Glikemija	5.31	.57	3.2	6.4	10.70	5.20	5.42
	IRI	14.20	7.99	4.2	52.2	13.50	12.65	15.76
	HOMA-IRI	3.38	2.02	1.0	12.6	59.91	2.98	3.77
DM tip 2 N=101	Parametri Glikoregulacije	$\bar{x}$	SD	Min	Maks	CV	CI	
	Glikemija	8.68	3.92	4.4	21.9	45.15	7.91	9.45
	IRI	13.39	11.82	1.0	76.8	88.31	11.05	15.72
	HOMA-IRI	4.79	4.05	.5	25.0	84.47	3.99	5.59
Kontrolna grupa N=100	Parametri Glikoregulacije	$\bar{x}$	SD	Min	Maks	CV	CI	
	Glikemija	5.07	.50	3.2	6.3	9.76	4.97	5.17
	IRI	7.08	2.31	2.1	10.5	32.67	6.62	7.54
	HOMA-IRI	1.61	.57	.4	2.4	35.74	1.49	1.72

Legenda: IRI- insulinemija; HOMA IRI-homeostasis model assesment of insuline resistance

CV-koeficijent varijacije; CI- interval poverenja; SD-standardna devijacija

Tabela 12. Značajnost razlika između grupa ispitanika u odnosu na glikoregulaciju

Analiza	N	F	p
MANOVA	3	39.095	.000
Diskriminativna	3	40.637	.000

Na osnovu vrednosti  $p = 0.000$  (analize MANOVA) i  $p = 0.000$  (diskriminativne analize) uočavamo da je postojala razlika i jasno definisana granica između grupa ispitanika.

Tabela 13. Značajnost razlika među ispitivanim grupama u odnosu na parametre glikoregulacije

Parametri Glikoregulacije	F	p	k.dsk
Glikemija	78.190	.000	.194
IRI	22.012	.000	.139
HOMA-IRI	36.902	.000	.108

Legenda: k.dsk- koeficijent diskriminacije; IRI- insulinemija; HOMA IRI-homeostasis model assesment of insuline resistance

Kako je  $p < 0.1$  znači da je postojala značajna razlika između nekih grupa ispitanika kod: glikemije (0.000), insulinemije (0.000) i HOMA-IRI (0.000). Koeficijent diskriminacije upućuje da je najveći doprinos diskriminaciji između grupa ispitanika u odnosu na parametre glikoregulacije davala glikemija (0.194), zatim insulinemija (0.139), a potom HOMA-IRI (0.108). Na osnovu parametara glikoregulacije može se reći da su gojazni ispitanici imali statistički značajno veće vrednosti glikemije ( $p=0.041$ ), insulinemije ( $p=0.047$ ) i HOMA-IRI ( $p=0.039$ ) u odnosu na kontrolnu grupu. U odnosu na obolele od DM tip 2, gojazni su imali statistički značajno manje vrednosti glikemije ( $p=0.046$ ) i HOMA-IRI ( $p=0.050$ ), dok se nisu razlikovali po insulinemiji od grupe sa DM tip 2 ( $p>0.1$ ). Oboleli od DM tip 2 su imali statistički značajno veće vrednosti glikemije ( $p=0.021$ ), insulinemije ( $p=0.047$ ) i HOMA-IRI ( $p=0.032$ ) u odnosu na kontrolnu grupu (Tabela 14 i 14a).

Tabela 14. Karakteristike i homogenost grupa ispitanika u odnosu na parametre glikoregulacije

Parametri Glikoregulacije	Gojazni	DM tip 2	Kontrolna grupa	dpr %
Glikemija	umerene* <sup>1</sup>	veće* <sup>2</sup>	manje	43.991
IRI	veće* <sup>1</sup>	umerene* <sup>1</sup>	manje	31.519
HOMA-IRI	umerene* <sup>1</sup>	veće* <sup>2</sup>	manje	24.490
n/m	73/104	56/101	100/100	
%	70.19	55.45	100.00	

Legenda: \*<sup>1</sup> da se grupa statistički značajno razlikuje od jedne grupe;

\*<sup>2</sup> da se grupa statistički značajno razlikuje s dve grupe; hmg - homogenost; dpr % - doprinos obeležja karakteristikama; IRI- insulinemija; HOMA IRI-homeostasis model assesment of insuline resistance

Tabela 14a. Značajnost razlika između grupa u odnosu na parametre glikoregulacije

Parametri Glikoregulacije	Gojazni i Kontrolna grupa p	DM tip 2 i Kontrolna grupa p	Gojazni i DM tip 2 p
Glikemija	.041	.021	.046
IRI	.047	.047	.234
HOMA-IRI	.039	.032	.050

*Legenda:* IRI- insulinemija; HOMA IRI-homeostasis model assesment of insuline resistance

### 6.1.3. Analiza lipida i lipoproteina u ispitivanim grupama

Vrednosti lipida i lipoproteina u grupi gojaznih su bile u referentnom opsegu: ukupni holesterol ( $5.25 \pm 1.06$  mmol/l), LDL holesterol ( $3.26 \pm 0.88$ ), HDL holesterol ( $1.17 \pm 0.31$ ), trigliceridi ( $1.78 \pm 0.90$  mmol/l), indeks ateroskleroze (IA) ( $2.96 \pm 1.03$ ) i faktor rizika (RF) ( $4.70 \pm 1.32$ ). Međutim, kada se vrednosti lipida i lipoproteina porede sa preporukama iz Nacionalnog vodiča za dijagnostikovanje i lečenje lipidskih poremećaja onda su se vrednosti ukupnog holesterola, HDL holesterola, triglicerida i faktor rizika nalazile u kategoriji granično povišenog rizika, dok su vrednosti LDL holesterola i IA bile u kategoriji poželjnih vrednosti.

U grupi DM tip 2 prosečne vrednosti ukupnog holesterola ( $5.88 \pm 1.91$  mmol/l), LDL holesterola ( $3.63 \pm 1.42$  mmol/l) i HDL holestrola ( $1.13 \pm 0.36$  mmol/l) bile u referentnom opsegu, dok vrednosti triglicerida ( $2.42 \pm 2.58$  mmol/l), IA ( $3.41 \pm 1.60$ ) i RF ( $5.71 \pm 4.06$ ) su bile povišene. Međutim, kada ih poredimo sa preporukama iz Nacionalnog vodiča za dijagnostikovanje i lečenje lipidskih poremećaja onda su vrednosti ukupnog holesterola, LDL holesterola, triglicerida bile iznad ciljnih vrednosti, a HDL holesterol ispod ciljnih vrednosti. U kontrolnoj grupi vrednosti lipida i lipoproteina su bile u referentnom opsegu: ukupni holesterol ( $5.22 \pm 0.98$  mmol/l), HDL holesterol ( $1.41 \pm 0.35$  mmol/l); LDL holesterol ( $3.23 \pm 0.85$  mmol/l); trigliceridi ( $1.28 \pm 0.77$  mmol/l); RF ( $3.99 \pm 1.39$ ) i IA ( $2.50 \pm 1.04$ ). Međutim, kada ih poredimo sa preporukama iz Nacionalnog vodiča za dijagnostikovanje i lečenje lipidskih poremećaja onda su vrednosti ukupnog holesterola i HDL holesterola bile u kategoriji granično povišenog rizika, a LDL holesterol, trigliceridi, RF i IA u kategoriji poželjnih vrednosti. Navedeni rezultati su prikazani u Tabeli 15.



Tabela 15. Analiza lipida i lipoproteina seruma u ispitivanim grupama

Grupe	Lipidi i lipoproteini	$\bar{x}$	SD	Min	Maks	CV	CI	
Gojazni N=104	hol-U	5.25	1.06	3.1	9.8	20.20	5.05	5.46
	TG	1.78	.90	.6	5.5	50.83	1.60	1.95
	HDL	1.17	.31	.6	2.0	26.58	1.11	1.24
	LDL	3.26	.88	1.2	6.8	27.05	3.09	3.43
	IA	2.96	1.03	1.0	6.1	34.93	2.76	3.16
	RF	4.70	1.32	2.3	8.2	28.14	4.44	4.95
DM tip 2 N=101	Lipidi i lipoproteini	$\bar{x}$	SD	Min	Maks	CV	CI	
	hol-U	5.88	1.91	2.8	16.8	32.47	5.50	6.26
	TR	2.42	2.58	.4	21.6	106.46	1.91	2.93
	HDL	1.13	0.36	.3	2.84	31.85	1.01	1.46
	LDL	3.63	1.42	1.3	11.4	39.11	3.35	3.91
	IA	3.41	1.60	.7	11.1	46.76	3.10	3.73
	RF	5.71	4.06	1.8	40.6	71.02	4.91	6.51
Kontrolna grupa N=100	Lipidi i lipoproteini	$\bar{x}$	SD	Min	Maks	CV	CI	
	hol-U	5.22	.98	3.6	7.8	18.75	5.02	5.41
	TR	1.28	.77	.4	5.1	60.62	1.12	1.43
	HDL	1.41	.35	.6	2.2	24.56	1.34	1.48
	LDL	3.23	.85	1.8	5.7	26.24	3.06	3.40
	IA	2.50	1.04	1.0	6.7	41.64	2.29	2.70
	RF	3.99	1.39	2.1	9.7	34.77	3.71	4.26

Legenda: hol-U-ukupni kolesterol; TG-trigliceridi; HDL- lipoproteini velike gustine; LDL-lipoproteini male gustine; IA (Indeks ateroskleroze) =LDL/HDL; RF (faktor rizika)=Holesterol/HDL; CV-koeficijent varijacije; CI-interval poverenja; SD-standardna devijacija

Tabela 16. Značajnost razlika između grupa ispitanika u odnosu na lipide i lipoproteine seruma

Analiza	N	F	p
MANOVA	6	4.978	.000
Diskriminativna	6	5.061	.000

Na osnovu vrednosti  $p = 0.000$  (analize MANOVA) i  $p = 0.000$  (diskriminativne analize) potvrđeno je da su postojale razlike između grupa ispitanika prema vrednosti lipida i lipoproteina koje su jasno definisane (Tabela 16).

Tabela 17. Značajnost razlika između grupa ispitanika u odnosu na lipide i lipoproteine seruma

Lipidi i lipoproteini seruma	F	p	k.dsk
hol-U	7.393	.001	.025
TG	12.323	.000	.068
HDL	2.983	.052	.005
LDL	4.256	.015	.015
IA	13.447	.000	.008
RF	11.324	.000	.025

*Legenda:* k.dsk- koeficijent diskriminacije; hol-U-ukupni holesterol; TG-trigliceridi; HDL- lipoproteini velike gustine; LDL-lipoproteini male gustine; IA (Indeks ateroskleroze) =LDL/HDL; RF (faktor rizika) =Holesterol/HDL

Kako je  $p < 0.1$  znači da je postojala značajna razlika među grupama u odnosu na vrednosti: holesterol-U (.001), triglicerida (0.000), HDL (0.052), LDL (0.015), IA (0.000) i RF (0.000). Koeficijent diskriminacije upućuje da su najveći doprinos diskriminaciji dali tj. odnosno da je najveća razlika između grupa bila kod: triglicerida (0.068), RF (0.025), ukupnog holesterola (0.025), LDL (0.015), IA (0.008), HDL (0.005) (Tabela 17).

Činjenica da je  $p = 0.000$ , diskriminativne analize, znači da je postojala jasno definisana granica između grupa ispitanika, odnosno moguće je odrediti karakteristike svake grupe u odnosu na lipide i lipoproteine seruma.

Na osnovu vrednosti lipidskih i lipoproteinskih parametara može se reći da su gojazni ispitanici imali statistički značajno veće vrednosti triglicerida ( $p=0.034$ ), faktora rizika ( $p=0.036$ ) i indeksa ateroskleroze ( $p=0.042$ ) u odnosu na kontrolnu grupu, dok vrednosti ukupnog holesterola, LDL-holesterola i HDL- holesteriola nisu bile statistički značajno različite ( $p>0.1$ ).

Ispitanici sa DM tip 2 u odnosu na kontrolu su imali statistički značajno veće vrednosti triglicerida ( $p=0.034$ ), ukupnog holesterola ( $p=0.033$ ), LDL-holesterola ( $p=0.04$ ), faktora rizika ( $p=0.046$ ) i indeksa ateroskleroze ( $p=0.037$ ), dok su vrednosti HDL-holesterola bile statistički značajno manje ( $p=0.036$ ).

Ispitanici sa DM tip 2 u odnosu na gojazne su imali statistički značajno veće vrednosti triglicerida ( $p=0.037$ ), RF ( $p=0.034$ ), ukupnog holesterola ( $p=0.017$ ), LDL ( $p=0.048$ ) i IA ( $p=0.047$ ), dok nije uočena statistički značajna razlika u odnosu na HDL ( $p>0.1$ ) (Tabela 18 i 18a).

Tabela 18. Karakteristike i homogenost grupa ispitanika u odnosu na lipidske i lipoproteinske parametre

Lipidi i lipoproteini seruma	Gojazni	DM tip 2	Kontrolna grupa	dpr %
TG	umerene* <sup>1</sup>	veće* <sup>2</sup>	manje	46.575
RF	umerene* <sup>1</sup>	veće* <sup>2</sup>	manje	17.123
hol-U	umerene	veće* <sup>2</sup>	manje	17.123
LDL	umerene	veće* <sup>2</sup>	manje	10.274
IA	umerene* <sup>1</sup>	veće* <sup>2</sup>	manje	5.479
HDL	umerene	Manje	veće* <sup>1</sup>	3.425
n/m	70/104	57/101	70/100	
%	67.31	56.44	70.00	

Legenda: \*<sup>1</sup> da se grupa statistički značajno razlikuje od jedne grupe;

\*<sup>2</sup> da se grupa statistički značajno razlikuje s dve grupe;

hmg - homogenost; dpr % - doprinos obeležja karakteristikama; hol-U-ukupni holesterol; TG-trigliceridi; HDL- lipoproteini velike gustine; LDL-lipoproteini male gustine; IA (Indeks ateroskleroze)=LDL/HDL; RF(faktor rizika)= Holesterol/HDL

Tabela 18a. Značajnost razlika između grupa u odnosu na lipide i lipoproteine seruma

Lipidi i lipoproteini seruma	Gojazni i Kontrolna grupa p	DM tip 2 i Kontrolna grupa p	Gojazni i DM tip 2 p
TG	.034	.034	.037
RF	.036	.046	.034
hol-U	.321	.033	.017
LDL	.274	.040	.048
IA	.042	.037	.047
HDL	.376	.036	.398

*Legenda:* hol-U-ukupni holesterol; TG-trigliceridi; HDL- lipoproteini velike gustine; LDL-lipoproteini male gustine; IA (Indeks ateroskleroze)=LDL/HDL; RF(faktor rizika)= Holesterol/HDL

#### 6.1.4. Analiza biohemijskih parametara u ispitivanim grupama

Analiza biohemijskih parametara u grupi gojaznih je ukazala da su prosečne vrednosti ALT ( $33.26 \pm 15.18$  U/l), AST ( $30.84 \pm 9.31$  U/l) i GGT ( $26.27 \pm 17.24$  U/l) bile u granicama referentnog opsega, a serumski kreatinin ( $86.47 \pm 15.67$  umol/l) u referentnim granicama za muškarce, a iznad referentnog opsega za žene. U grupi ispitanika sa DM tip 2 su prosečne vrednosti ALT ( $37.74 \pm 27.45$  U/l) i AST ( $35.46 \pm 21.81$  U/l) bile u referentnim granicama za muškarce, a iznad referentnog opsega za žene, GGT ( $39.51 \pm 19.31$  U/l) u referentnom opsegu; serumski kreatinin u referentnim granicama za muškarce, a iznad referentnog opsega za žene ( $88.29 \pm 19.31$  umol/l). Analiza biohemijskih parametara u kontrolnoj grupi ispitanika je pokazala da su prosečne vrednosti ALT ( $25.77 \pm 13.34$  U/l), AST ( $27.54 \pm 7.18$  U/l) i GGT ( $21.41 \pm 10.94$  U/l) bile u referentnom opsegu; serumski kreatinin u referentnim granicama za muškarce, a iznad referentnog opsega za žene ( $85.89 \pm 14.35$  umol/l) (Tabela 19).

Tabela 19. Analiza biohemijskih parametara u ispitivanim grupama

Grupe	Biohemijski parametri	$\bar{x}$	SD	Min	Maks	CV	CI	
Gojazni N=104	ALT	33.26	15.18	14.1	123.4	45.63	30.31	36.21
	AST	30.84	9.31	19.8	90.8	30.20	29.02	32.65
	GGT	26.27	17.14	9.6	157.0	62.23	22.94	29.61
	Kreat.	86.27	15.67	53.0	130.0	18.12	83.42	89.52
DM tip 2 N=101	Biohemijski parametri	$\bar{x}$	SD	Min	Maks	CV	CI	
	ALT	37.74	27.45	13.5	252.0	72.75	32.31	43.15
	AST	35.46	21.81	17.7	197.2	61.52	31.15	39.76
	GGT	39.51	58.69	9.8	426.5	148.54	27.92	51.10
	Kreat.	88.29	19.31	41.0	149.0	21.87	84.47	92.10
Kontrolna grupa N=100	Biohemijski parametri	$\bar{x}$	SD	Min	Maks	CV	CI	
	ALT	25.77	13.34	13.8	119.2	51.74	23.13	28.42
	AST	27.54	7.18	17.2	68.6	26.08	26.11	28.97
	GGT	21.41	10.96	9.4	87.5	51.20	19.23	23.58
	Kreat.	85.89	14.35	60.0	137.0	16.71	83.04	88.74

*Legenda:* GGT – gama-glutamil transferaza; ALT – alanin aminotransferaza; AST – aspartat aminotransferaza; Kreat.-serumski kreatinin; CV-koeficijent varijacije; CI-interval poverenja; SD-standardna devijacija

Tabela 20. Značajnost razlika između ispitivanih grupa u odnosu na biohemijske parametre

Analiza	N	F	p
MANOVA	4	3.162	.002
Diskriminativna	4	3.155	.002

Na osnovu vrednosti  $p = 0.002$  (analize MANOVA) i  $p = 0.002$  (diskriminativne analize), možemo zaključiti da je postojala razlika i jasno definisana granica između grupa ispitanika prema biohemijskim parametrima (Tabela 20).

Tabela 21. Značajnost razlika među ispitivanim grupama u odnosu na biohemijske parametre

Biohemijski perametri	F	p	k.dsk
ALT	9.493	.000	.024
AST	7.795	.001	.003
GGT	6.913	.001	.008
Kreat	.574	.564	.003

*Legenda:* k.dsk- koeficijent diskriminacije;GGT – gama-glutamil transferaza; ALT – alanin aminotransferaza; AST – aspartat aminotransferaza; Kreat.-serumski kreatinin

Kako je  $p < 0.1$  postojala je značajna razlika između pojedinih grupa ispitanika u odnosu na ALT (0.000), AST (0.001), GGT (0.001) (Tabela 21). Kako je  $p > 0.1$  nije uočena značajna razlika između grupa ispitanika u odnosu na kreatinin (0.564). Koeficijent diskriminacije upućuje da su najveći doprinos diskriminaciji između grupa ispitanika u odnosu na biohemijske parametre dali: ALT (0.024), GGT (0.008), AST (0.003), kreatinin (0.003) (Tabela 21). Potrebno je napomenuti, da je latentno obeležje, obeležje po kojem nije utvrđena razlika između grupa, a diskriminativna analiza ga je uključila u strukturu doprinelo značajnoj razlici među grupama: kreatinin (0.564).

Na osnovu analize biohemijskih parametara može se reći da su gojazni imali statistički značajno veće vrednosti ALT (p=0.047), AST (p=0.035) i GGT (p=0.045) u odnosu na kontrolnu grupu, dok nije uočena statistički značajna razlika po vrednosti serumskog kreatinina (p>0.1). Ispitanici sa DM tip 2 u odnosu na kontrolnu grupu su imali statistički značajno veće vrednosti ALT (p=0.035), AST (p=0.034) i GGT (p=0.042), dok nije uočena statistički značajna razlika po vrednosti serumskog kreatinina (p>0.1). DM tip 2 u odnosu na gojazne su imali statistički značajno veće vrednosti GGT (p=0.040) i AST (p=0.039), dok nije uočena statistički značajna razlika po vrednosti ALT i kreatinina (p>0.1) (Tabela 22 i 22a).

Tabela 22. Karakteristike i homogenost ispitivanih grupa u odnosu na vrednost biohemijskih parametara

Biohemijski parametri	Gojazni	DM tip 2	Kontrolna grupa	dpr %
ALT	umerene* <sup>1</sup>	veće* <sup>1</sup>	manje	63.158
GGT	umerene* <sup>1</sup>	veće* <sup>2</sup>	manje	21.053
Kreat	umerene	Veće	manje	7.895
AST	umerene* <sup>1</sup>	veće* <sup>2</sup>	manje	7.895
n/m	57/104	41/101	83/100	
%	54.81	40.59	83.00	

Legenda: \*<sup>1</sup> da se grupa statistički značajno razlikuje od jedne grupe;

\*<sup>2</sup> da se grupa statistički značajno razlikuje s dve grupe;

hmg - homogenost; dpr % - doprinos obeležja karakteristikama;GGT – gama-glutamil transferaza; ALT – alanin aminotransferaza; AST – aspartat aminotransferaza; Kreat.-serumski kreatinin

Tabela 22a. Značajnost razlika između grupa po biohemijskim parametrima

Biohemijski parametri	Gojazni i Kontrolna grupa p	DM tip 2 i Kontrolna grupa p	Gojazni i DM tip 2 p
ALT	.047	.035	.476
GGT	.045	.042	.040
Kreat	.356	.378	.396
AST	.035	.034	.039

*Legenda:* GGT – gama-glutamil transferaza; ALT – alanin aminotransferaza; AST – aspartat aminotransferaza; Kreat.-serumski kreatinin

## 6.2. Analiza ftalatnih metabolita u urinu u ispitivanim grupama

### 6.2.1. Zastupljenost urinarnih metabolita ftalata u ispitivanim grupama

Rezultati našeg istraživanja su pokazali da je kod polovine ispitanika (49.5%) registrovano prisustvo pojedinih metabolita ftalata u urinu. U grupi gojaznih kod 38 (37.62%) kvantifikovan je jedan ftalatni metabolit, a kod 16 (15.84%) dva i više ftalatnih metabolita. U grupi sa DM tip 2 kod 43 (41.32%) kvantifikovan je jedan ftalatni metabolit, a kod 10 (9.61%) dva i više ftalatnih metabolita. U kontrolnoj grupi kod 36 (36%) kvantifikovan je jedan ftalatni metabolit, a kod 8 (8%) dva i više ftalatnih metabolita. Analizirano je deset ftalatnih metabolita u urinu sve tri grupe ispitanika. Najčešći ftalatni metaboliti kvantifikovani u urinima naših ispitanika su bili: MEHP (23.6%) i MEP (21.6%), dok su ostali analizirani metaboliti ftalata u malom procentu kvantifikovani tako da smo ih isključili iz dalje analize (Tabela 23).



Tabela 23. Zastupljenost ispitivanih metabolita ftalata u urinu po grupama

Ftalatni metabolit		Gojazni		DM tip 2		Kontrolna grupa		Ukupno	
		N	%	N	%	N	%	N	%
MMP	≥LOQ	6	5.8 <sup>”</sup>	9	8.9 <sup>*</sup>	0	.0	15	4.9
MEP	≥LOQ	30	28.8 <sup>*</sup>	13	12.9	23	23.0 <sup>”</sup>	66	21.6
MPP	≥LOQ	2	1.9	0.	.0	2	2.0	4	1.3
MnBP	≥LOQ	4	3.8	5	5.0	4	4.0	13	4.3
MiAP	≥LOQ	1	1.0	1	1.0	2	2.0	4	1.3
MnAP	≥LOQ	1	1.0	0	.0	1	1.0	2	0.7
MCHP	≥LOQ	0	.0 <sup>”</sup>	3	3.0 <sup>*</sup>	0	.0	3	1.0
MBzP	≥LOQ	3	2.9	3	3.0	1	1.0	7	2.3
MOP	≥LOQ	1	1.0	1	1.0	3	3.0 <sup>”</sup>	5	1.6
MEHP	≥LOQ	27	26.0 <sup>”</sup>	29	28.7 <sup>*</sup>	16	16.0	72	23.6

Legenda: MMP-mono-metil-ftalat; MEP-mono-etil-ftalat; MPP-mono-n-propil-ftalat; MnBP- mono-n-butil-ftalat; MiAP-mono-izo-amil-ftalat; MnAP-mono-n-amil-ftalat; MCHP-mono-cikloheksil-ftalat; MBzP- mono-benzil-ftalat MOP-mono-n-oktil-ftalat; MEHP-mono-2-etilheksil-ftalat; LOQ-limit kvantifikacije; <sup>”</sup>da je nivo statističke značajnosti 0.10 > p >0.05; <sup>\*</sup>da je nivo statističke značajnosti p<0.05

Tabela 24. Razlike u zastupljenosti MEP-a i MEHP-a između grupa

Ftalatni metabolit	Gojazni i DM tip 2 p	Gojazni i Kontrolna grupa p	DM tip 2 i Kontrolna grupa p
MEP	.005	.230	.05
MEHP	.250	.05	.032

*Legenda:* MEP-mono-etil-ftalat; MEHP-mono-2-etilheksil-ftalat

MEP je bio najčešće prisutan u grupi gojaznih ispitanika (28.85%), zatim u kontrolnoj grupi (23%), a najmanje je bio prisutan u grupi bolesnika s DM tip 2 (12.87%) (Tabela 23). Razlike su bile statistički značajne između gojaznih ispitanika i ispitanika s DM tip 2 ( $p=0.005$ ) kao i između kontrolne grupe i grupe s DM tip 2 ( $p=0.05$ ). Razlika u zastupljenosti MEP-a u gojaznih i kontrolnoj grupi nije bila statistički značajna (Tabela 24).

MEHP je bio najčešće prisutan u grupi bolesnika sa DM tip 2 (28.7%), zatim u grupi gojaznih ispitanika (26%), a najmanje je bio prisutan u kontrolnoj grupi (16%) (Tabela 23). Postojala je statistički značajna razlika u zastupljenosti MEHP-a između gojaznih ispitanika i kontrolne grupe ( $p=0.05$ ), kao i između DM tip 2 i kontrolne grupe ( $p=0.032$ ). Razlika u zastupljenosti MEHP-a u gojaznih i grupi sa DM tip 2 nije bila statistički značajna (Tabela 24).

### 6.2.2. Analiza razlika među ispitivanim grupama u odnosu na ftalatne metabolite u urinu

Tabela 25. Značajnost razlika između grupa ispitanika u odnosu na MEP i MEHP

Analiza	N	F	p
MANOVA	2	4.609	.000
Diskriminativna	2	4.808	.000

Na osnovu vrednosti  $p=0.000$  (analize MANOVA) i  $p=0.000$  (diskriminativne analize), možemo zaključiti da je postojala razlika i jasno definisana granica između nekih grupa ispitanika u odnosu na zastupljenost metabolita ftalata.

U tabeli 26. prikazane su srednje vrednosti najčešćih monoftalatnih estera koji su kvantifikovani u urinu. Najveća vrednost MEP-a u urinu je bila u grupi gojaznih (156.47  $\mu\text{g/l}$ ), zatim kod obolelih od DM tip 2 (119.75  $\mu\text{g/l}$ ), a najniža vrednost u kontrolnoj grupi (80.50  $\mu\text{g/l}$ ).

Najveća vrednost MEHP-a u urinu je bila kod kontrolne grupe (120.21  $\mu\text{g/l}$ ), zatim kod gojaznih (73.03  $\mu\text{g/l}$ ), a najmanja vrednost kod obolelih od DM tip 2 (65.42  $\mu\text{g/l}$ ).

Tabela 26. Srednje vrednosti ( $\mu\text{g/l}$ -mikrogram/l) najčešćih metabolita ftalata u urinu

Grupe	Metabolit	$\bar{x}$	SD	Min	Maks	CV
Gojazni	MEP	156.47	208.65	3.1	735.8	133.35
	MEHP	73.03	82.18	2.0	320.4	112.52
DM tip 2	Metabolit	$\bar{x}$	SD	Min	Maks	CV
	MEP	119.75	194.70	3.1	698.7	162.60
	MEHP	65.42	95.99	1.1	416.2	146.73
Kontrolna Grupa	Metabolit	$\bar{x}$	SD	Min	Maks	CV
	MEP	80.50	73.88	5.2	325.9	91.77
	MEHP	120.21	102.18	2.7	309.5	85.00

Legenda: MEP-mono-etil-ftalat

MEHP- mono-2-etilheksil-ftalat

Tabela 27. Značajnost razlika između grupa prema srednjim vrednostima MEP-a

Analiza	N	F	p
MANOVA	1	1.291	.282
Diskriminativna	1	1.270	.288

Nije uočena statistički značajna razlika i jasno definisana granica između grupa prema srednjim vrednostima MEP-a (MANOVA  $p=0.282$ , diskriminativna analiza  $p=0.288$ ) (Tabela 27 i 27a).

Tabela 27a. Značajnost razlika između grupa prema srednjim vrednostima MEP-a

Ftalatni metabolit	Grupe		srednja vrednost		t	p
	Gojazni	DM tip 2	156.47	119.75		
MEP	Gojazni	DM tip 2	156.47	119.75	0.54	0.59
MEP	Gojazni	Kontrolna grupa	156.47	80.50	1.66	0.10
MEP	DM tip 2	Kontrolna grupa	119.75	80.50	0.87	0.39

Legenda: MEP-mono-etil-ftalat

Međutim, računanjem Mahalanobisove distance uočavamo sličnost između pojedinih grupa. Najbliži po vrednostima MEP-a su bili gojazni i oboleli od DM tip 2 (0.22), zatim oboleli od DM tip 2 i kontrolna grupa (0.23), a najveća razlika je bila između gojaznih i kontrolne grupe (0.44) (Tabela 28).

Tabela 28. Distanca (Mahalanobisova) između grupa prema srednjim vrednostima MEP-a

Grupa	Gojazni	DM tip-2	Kontrolna grupa
Gojazni	.00	.22	.44
DM tip-2	.22	.00	.23
Kontrolna grupa	.44	.23	.00

Tabela 29. Značajnost razlika između grupa prema srednjim vrednostima MEHP-a

Analiza	N	F	p
MANOVA	1	1.948	.150
Diskriminativna	1	1.920	.154

Nije uočena statistički signifikantna razlika i jasno definisana granica između grupa prema srednjim vrednostima MEHP-a (MANOVA  $p=0.150$ , diskriminativna analiza  $p=0.154$ ) (Tabela 29, 29a).

Tabela 29a. Značajnost razlika između grupa prema srednjim vrednostima MEHP-a

Ftalatni metabolit	Grupe		srednja vrednost		t	p
	Gojazni	DM tip 2	73.03	65.42		
MEHP	Gojazni	Kontrolna grupa	73.03	120.21	1.661	0.104
MEHP	DM tip 2	Kontrolna grupa	65.42	120.21	1.792	0.080

Legenda: MEHP- mono-2-etilheksil-ftalat

Međutim, računanjem Mahalanobisove distance uočavamo sličnost između pojedinih grupa. Najbliži po srednjim vrednostima nivoa MEHP-a su bili gojazni i oboleli od DM tip 2 (0.08), zatim gojazni i kontrolna grupa (0.51), a najveća razlika je bila između DM tip 2 i kontrolne grupe (0.59) (Tabela 30).

Tabela 30. Distanca (Mahalanobisova) između grupa prema srednjim vrednostima MEHP-a

Grupa	Gojazni	DM tip-2	Kontrolna grupa
Gojazni	.00	.08	.51
DM tip-2	.08	.00	.59
Kontrolna grupa	.51	.59	.00

### 6.3. Povezanost između MEP-a i MEHP-a sa antropometrijskim parametrima

#### 6.3.1. Antropometrijski parametri i MEP

##### 6.3.1.1. Povezanost MEP-a sa antropometrijskim parametrima

Analizom povezanosti MEP-a, u svih ispitanika kod kojih je on bio pozitivan (n=66), sa antropometrijskim parametrima uočena je pozitivna korelacija MEP-a sa BMI (R=0.105 ; p=0.876) i obimom struka (R =0.119; p=0.643), ali bez statističke značajnosti (Tabela 31).

Tabela 31. Povezanost MEP-a sa indeksom telesne mase i obimom struka (N=66)

Antropometrijski parametri	R	p
BMI	.105	.876
OS	.119	.643

*Legenda*-BMI -indeks telesne mase ; OS -obim struka

Iako metodom korelacione analize nije uočena statistički značajna povezanost MEP-a sa antropometrijskim parametrima, uočena je statistički značajna razlika po antropometrijskim parametrima između podgrupa MEP pozitivnih ispitanika (MANOVA p=0.000) i jasno je definisana granica (diskriminativna analiza, p=0.000) (Tabela 32).

Tabela 32. Značajnost razlika u odnosu na antropometrijske parametre između podgrupa MEP pozitivnih ispitanika

Analiza	N	F	p
MANOVA	2	15.155	.000
Diskriminativna	2	17.504	.000

Tabela 33. Značajnost razlika u odnosu na antropometrijske parametre između podgrupa MEP pozitivnih ispitanika

Antropometrijski parametri	F	p	k.dsk
BMI	29.973	.000	.074
OS	33.829	.000	2.329

Legenda: k.dsk- koeficijent diskriminacije; BMI-Indeks telesne mase; OS-obim struka

Utvrđeno je da je postojala značajna razlika po antropometrijskim parametrima između podgrupa MEP pozitivnih ispitanika i u pogledu BMI (0.000) i pogledu obima struka (0.000) (Tabela 33).

Tabela 34. Karakteristike i homogenost MEP pozitivnih ispitanika u odnosu na antropometrijske karakteristike

Antropometrijski parametri	MEP pozitivni Gojazni	MEP pozitivni DM tip-2	MEP pozitivni Kontrolna grupa	dpr %
OS	veće* <sup>2</sup>	umerene* <sup>1</sup>	manje	96.921
BMI	veće* <sup>2</sup>	umerene* <sup>1</sup>	manje	3.079
n/m	28/30	8/13	21/23	
%	93.33	61.54	91.30	

Legenda: \*<sup>1</sup> da se grupa statistički značajno razlikuje od jedne grupe;

\*<sup>2</sup> da se grupa statistički značajno razlikuje s dve grupe; hmg – homogenost; dpr % - doprinos obeležja karakteristikama; OS-obim struka; BMI-indeks telesne mase

Gojazni MEP pozitivni ispitanici u odnosu na MEP pozitivne ispitanike kontrolne grupe su imali statistički značajno veće vrednosti obima struka (p=0.030) i BMI (p=0.010). MEP pozitivni ispitanici s DM tip 2 u odnosu na MEP pozitivne ispitanike kontrolne grupe su imali statistički značajno veće vrednosti obima struka (p=0.038) i BMI (p= 0.048).

Gojazni MEP pozitivni ispitanici u odnosu na MEP pozitivne dijabetesne ispitanike su imali statistički značajno veće vrednosti obima struka ( $p=0.027$ ) i BMI ( $p=0.037$ ) (Tabela 34).

### 6.3.1.2. Analiza razlika u odnosu na antropometrijske parametre između podgrupa MEP pozitivnih i MEP negativnih gojaznih ispitanika

Tabela 35. Antropometrijske karakteristike MEP pozitivnih i MEP negativnih gojaznih ispitanika

Grupe	Antropometrijski parametri	$\bar{x}$	SD	Min	Maks	CV	CI	
MEP pozitivni Gojazni ispitanici N=30	BMI	34.65	7.48	30.1	60.2	21.59	31.86	37.44
	OS	108.93	16.46	88.0	160.0	15.11	102.79	115.08
MEP negativni Gojazni ispitanici N=74	Antropometrijski parametri	$\bar{x}$	SD	Min	Maks	CV	CI	CI
	BMI	35.42	6.50	30.7	59.2	18.35	33.92	36.93
	OS	110.39	14.48	90.0	160.0	13.11	107.04	113.75

Legenda: BMI-Indeks telesne mase;

OS-obim struka

Antropometrijska ispitivanja u podgrupi gojaznih MEP pozitivnih su ukazala da je prosečni indeks telesne mase bio  $34.65 \pm 7.48 \text{ kg/m}^2$ , odnosno na nivou prvog stepena gojaznosti, uz visoko rizične vrednosti obima struka ( $108.93 \pm 16.46 \text{ cm}$ ). U podgrupi gojaznih MEP negativnih prosečni indeks telesne mase je bio  $35.42 \pm 6.50 \text{ kg/m}^2$ , odnosno na nivou drugog stepena gojaznosti, uz visoko rizične vrednosti obima struka ( $110.39 \pm 14.48 \text{ cm}$ ) (Tabela 35).



Razlika u BMI ( $p= 0.601$ ) i obimu struka ( $p= 0.656$ ) među podrupama gojaznih MEP pozitivnih i MEP negativnih nije bila statistički značajna (Tabela 36).

Tabela 36. Značajnost razlika u antropometrijskim parametrima između MEP pozitivnih i MEP negativnih gojaznih ispitanika

Antropometrijski parametri	F	p	k.dsk
BMI	.275	.601	.007
OS	.200	.656	.005

Legenda: k.dsk - koeficijent diskriminacije;

BMI-Indeks telesne mase;

OS-obim struka

### 6.3.1.3. Analiza razlika u odnosu na antropometrijske parametre između podgrupa MEP pozitivnih i MEP negativnih ispitanika sa DM tip 2

Tabela 37. Antropometrijske karakteristike MEP pozitivnih i MEP negativnih ispitanika sa DM tip 2

Grupe	Antropometrijski parametri	$\bar{x}$	SD	Min	Maks	CV	CI	
MEP pozitivni DM tip 2 N=13	BMI	28.45	5.08	18.3	34.3	17.84	25.39	31.52
	OS	97.15	12.82	75	116.0	13.19	89.41	104.90
MEP negativni DM tip 2 N=88	Antropometrijski parametri	$\bar{x}$	SD	Min	Maks	CV	CI	CI
	BMI	31.53	7.47	17.1	55.9	23.70	29.95	33.12
	OS	103.78	17.24	66.0	157.0	16.61	100.13	107.44

Legenda: BMI-Indeks telesne mase; OS-obim struka

Antropometrijska ispitivanja u podgrupi DM tip 2 MEP pozitivnih ukazala su da je prosečni indeks telesne mase bio ( $28.45 \pm 5.08 \text{ kg/m}^2$ ), odnosno na nivou prekomerne telesne mase, uz povišene vrednosti obima struka ( $97.15 \pm 12.82 \text{ cm}$ ), a u podgrupi DM tip 2 MEP negativnih prosečni indeks telesne mase je bio ( $31.53 \pm 7.47 \text{ kg/m}^2$ ), odnosno na nivou prvog stepena gojaznosti, uz povišene vrednosti obima struka ( $103.78 \pm 17.24 \text{ cm}$ ) (Tabela 37).

Nije uočena statistički značajna razlika između podgrupa DM tip 2 MEP pozitivnih i MEP negativnih i u odnosu na BMI ( $p=0.155$ ) i obim struka ( $p=0.186$ ) (Tabela 38).

Tabela 38. Značajnost razlika u odnosu na antropometrijske parametre između podgrupa DM tip 2 MEP pozitivnih i MEP negativnih

Antropometrijski parametri	F	p	k.dsk
BMI	2.056	.155	.007
OS	1.772	.186	.000

*Legenda:* k.dsk -koeficijent diskriminacije;

OS-obim struka;

BMI-indeks telesne mase

### 6.3.1.4. Analiza razlika u odnosu na antropometrijske parametre između podgrupa MEP pozitivnih i MEP negativnih ispitanika kontrolne grupe

Tabela 39. Antropometrijske karakteristike MEP pozitivnih i MEP negativnih ispitanika kontrolne grupe

Grupe	Antropometrijski parametri	$\bar{x}$	SD	Min	Maks	CV	CI	
MEP pozitivni Kontrolna grupa N=23	BMI	22.45	2.28	18.9	24.9	10.13	21.47	23.43
	OS	77.61	9.76	64.0	93.0	12.57	73.39	81.83
MEP negativni Kontrolna grupa N=77	Antropometrijski parametri	$\bar{x}$	SD	Min	Maks	CV	CI	CI
	BMI	23.04	2.01	18.6	24.9	8.74	22.58	23.49
	OS	78.82	7.54	60.0	93.0	9.57	77.11	80.53

Legenda: BMI-Indeks telesne mase;

OS-obim struka

Antropometrijska ispitivanja u podgrupi MEP pozitivnih ispitanika kontrolne grupe su ukazala da je prosečni indeks telesne mase bio  $22.45 \pm 2.28 \text{ kg/m}^2$ , na nivou normalne uhranjenosti, uz normalne vrednosti obima struka  $77.61 \pm 9.76 \text{ cm}$ , a u podgrupi kontrola MEP negativni prosečni indeks telesne mase je bio  $23.04 \pm 2.01 \text{ kg/m}^2$ , na nivou normalne uhranjenosti, uz normalne vrednosti obima struka  $78.82 \pm 7.54 \text{ cm}$  (Tabeli 39) .

Nije postojala statistički značajna razlika po antropometrijskim parametrima između podgrupa MEP pozitivnih i MEP negativnih ispitanika kontrolne grupe u odnosu na BMI ( $p=0.236$ ) i obima struka ( $p=0.531$ ) (Tabela 40).

Tabela 40. Značajnost razlika u odnosu na antropometrijske parametre između podgrupa MEP pozitivnih i MEP negativnih ispitanika kontrolne grupe

Antropometrijski parametri	F	p	k.dsk
BMI	1.421	.236	.011
OS	.395	.531	.003

*Legenda:* k.dsk - koeficijent diskriminacije

OS-obim struka

BMI-indeks telesne mase

### 6.3.2. Antropometrijski parametri i MEHP

#### 6.3.2.1. Povezanost MEHP-a sa antropometrijskim parametrima

Primenom korelacione analize uočena je negativna korelacija MEHP-a sa BMI

( $R = -0.121$  ;  $p=0.124$ ) i obimom struka ( $R = -0.046$  ;  $p=0.221$ ), ali bez statističke značajnosti (Tabela 41).

Tabela 41. Povezanost MEHP-a sa BMI i obimom struka

Antropometrijski parametri	R	p
BMI	-.121	.124
OS	-.046	.221

*Legenda:* BMI- Indeks telesne mase

OS-obim struka

Iako korelacionom analizom nije uočena statistički značajna povezanost MEHP-a sa antropometrijskim parametrima, primenom analize MANOVA uočena je statistički značajna razlika po antropometrijskim parametrima između podgrupa MEHP pozitivnih ispitanika ( $p=0.000$ ), a diskriminativnom analizom je jasno definisana granica između tih podgrupa ( $p=0.000$ ) (Tabela 42).

Tabela 42. Značajnost razlika između podgrupa MEHP pozitivnih u odnosu na antropometrijske parametre

Analiza	N	F	p
MANOVA	2	10.069	.000
Diskriminativna	2	10.622	.000

Tabela 43. Značajnost razlika u odnosu na antropometrijske parametre između podgrupa MEHP pozitivnih ispitanika

Antropometrijski parametri	F	p	k.dsk
BMI	18.538	.000	.141
OS	17.000	.000	.728

*Legenda:* k.dsk - koeficijent diskriminacije;

BMI-Indeks telesne mase;

OS-obim struka

U Tabeli 43 uočavamo da je postojala značajna razlika među podgrupama MEHP pozitivnih ispitanika u odnosu na BMI ( $p=0.000$ ) i obim struka (OS) ( $p=0.000$ ).

Tabela 44. Karakteristike i homogenost podgrupa MEHP pozitivnih ispitanika u odnosu na antropometrijske parametre

Antropometrijski parametri	MEHP pozitivni Gojazni	MEHP pozitivni DM tip-2	MEHP pozitivni Kontrolna grupa	dpr %
OS	veće* <sup>2</sup>	umerene* <sup>1</sup>	manje	83.774
BMI	veće* <sup>2</sup>	umerene* <sup>1</sup>	manje	16.226
n/m	15/27	17/29	16/16	
%	55.56	58.62	100.00	

Legenda:\*<sup>1</sup> da se grupa statistički značajno razlikuje od jedne grupe

\*<sup>2</sup> da se grupa statistički značajno razlikuje s dve grupe

hmg – homogenost

dpr % - doprinos obeležja karakteristikama

OS-obim struka

BMI-indeks telesne mase

Istraživanjem je utvrđeno da su gojazni MEHP pozitivni ispitanici u odnosu na kontrolnu grupu MEHP pozitivnih imali statistički značajno veće vrednosti obima struka ( $p=0.001$ ) i BMI ( $p=0.026$ ).

DM tip 2 MEHP pozitivni ispitanici u odnosu na kontrolnu grupu MEHP pozitivnih su imali statistički značajno veće vrednosti obima struka ( $p=0.038$ ) i BMI ( $p=0.041$ ).

Gojazni MEHP pozitivni ispitanici u odnosu DM tip 2 MEHP pozitivne ispitanike su imali statistički značajno veće vrednosti obima struka ( $p= 0.047$ ) i BMI ( $p=0.049$ ) (Tabela 44).

### 6.3.2.2. Analiza razlika u odnosu na antropometrijske parametre između podgrupa MEHP pozitivnih i MEHP negativnih gojaznih ispitanika

Tabela 45. Antropometrijske karakteristike MEHP pozitivnih i MEHP negativnih gojaznih ispitanika

Grupe	Antropometrijski parametri	$\bar{x}$	SD	Min	Maks	CV	CI	
MEHP pozitivni Gojazni ispitanici N=27	BMI	34.92	5.39	30.1	48.2	15.43	32.78	37.05
	OS	107.63	12.45	90.0	140.0	11.57	102.70	112.56
MEHP negativni Gojazni ispitanici N=77	Antropometrijski parametri	$\bar{x}$	SD	Min	Maks	CV	CI	CI
	BMI	35.30	7.22	30.7	60.2	20.45	33.66	36.94
	OS	110.79	15.80	88.0	160.0	14.26	107.21	114.38

*Legenda:* BMI-Indeks telesne mase

OS-obim struka

Antropometrijska ispitivanja u podgrupi gojaznih MEHP pozitivnih ispitanika ukazala su da je prosečni indeks telesne mase bio  $34.92 \pm 5.39 \text{ kg/m}^2$ , odnosno na nivou prvog stepena gojaznosti, uz visoko rizične vrednosti obima struka ( $107.63 \pm 12.45 \text{ cm}$ ), a u podgrupi gojaznih MEHP negativnih prosečni indeks telesne mase je bio  $35.30 \pm 7.22 \text{ kg/m}^2$ , odnosno na nivou drugog stepena gojaznosti, uz visoko rizične vrednosti obima struka ( $110.79 \pm 15.80 \text{ cm}$ ) (Tabela 45). Nije postojala statistički značajna razlika između podgrupa gojaznih MEHP pozitivnih i MEHP negativnih ispitanika i u odnosu na BMI ( $p=0.802$ ) i odnosu na obim struka ( $p=0.349$ ) (Tabela 46).

Tabela 46. Značajnost razlika u odnosu na antropometrijske parametre između podgrupa MEHP pozitivnih i MEHP negativnih gojaznih ispitanika

Antropometrijski parametri	F	p	k.dsk
BMI	.063	.802	.005
OS	.886	.349	.002

Legenda: k.dsk- koeficijent diskriminacije

OS-obim struka

BMI-indeks telesne mase

### 6.3.2.3. Analiza razlika u odnosu na antropometrijske parametre između podgrupa MEHP pozitivnih i MEHP negativnih ispitanika s DM tip 2

Tabela 47. Antropometrijske karakteristike MEHP pozitivnih i MEHP negativnih ispitanika s DM tip 2

Grupe	Antropometrijski parametri	$\bar{x}$	SD	Min	Maks	CV	CI	
MEHP pozitivni DM tip 2 N=29	BMI	29.68	7.38	17.1	53.0	24.87	26.87	32.48
	OS	99.65	17.97	70.0	157.0	18.03	92.82	106.49
MEHP negativni DM tip 2 N=72	Antropometrijski parametri	$\bar{x}$	SD	Min	Maks	CV	CI	CI
	BMI	31.73	7.18	17.3	55.9	22.65	30.04	33.42
	OS	104.25	16.29	66.0	150.0	15.63	100.42	108.08

Legenda: BMI-Indeks telesne masa; OS-obim struka



Antropometrijska ispitivanja u podgrupi MEHP pozitivnih dijabetesnih ispitanika su ukazala da je prosečni indeks telesne mase bio ( $29.68 \pm 7.38 \text{ kg/m}^2$ ), odnosno na nivou prekomerne telesne mase, uz povišene vrednosti obima struka ( $99.65 \pm 17.97 \text{ cm}$ ), a u podgrupi MEHP negativnih ispitanika s DM tip 2 prosečni indeks telesne mase je bio ( $31.73 \pm 7.18 \text{ kg/m}^2$ ), odnosno na nivou prvog stepena gojaznosti, uz povišene vrednosti obima struka ( $104.25 \pm 16.29 \text{ cm}$ ) (Tabela 47).

Nije uočena statistički značajna razlika između podgrupa MEHP pozitivnih i MEHP negativnih ispitanika s DM tip 2 ni za BMI ( $p=0.201$ ) ni za obima struka ( $p=0.216$ ) (Tabela 48).

Tabela 48. Značajnost razlika u odnosu na antropometrijske parametre MEHP pozitivnih i MEHP negativnih ispitanika s DM tip 2

Antropometrijski parametri	F	p	k.dsk
BMI	1.659	.201	.001
OS	1.550	.216	.002

*Legenda:* k.dsk - koeficijent diskriminacije;

OS-obim struka;

BMI-indeks telesne mase

### 6.3.2.4. Analiza razlika u odnosu na antropometrijske parametre između podgrupa MEHP pozitivnih i MEHP negativnih ispitanika kontrolne grupe

Tabela 49. Antropometrijske karakteristike MEHP pozitivnih i MEHP negativnih ispitanika kontrolne grupe

Grupe	Antropometrijski parametri	$\bar{x}$	SD	Min	Maks	CV	CI	
MEHP pozitivni Kontrolna grupa N=16	BMI	23.86	1.78	20.0	24.9	7.45	22.91	24.81
	OS	82.00	5.24	70.0	90.0	6.39	79.21	84.79
MEHP negativni Kontrolna grupa N=84	Antropometrijski parametri	$\bar{x}$	SD	Min	Maks	CV	CI	CI
	BMI	22.72	2.09	18.6	24.9	9.21	22.26	23.17
	OS	77.88	8.36	60.0	93.0	10.74	76.07	79.70

Legenda: BMI-Indeks telesne mase;

OS-obim struka

Antropometrijska ispitivanja u podgrupi MEHP pozitivnih ispitanika kontrolne grupe su pokazala da je prosečni indeks telesne mase bio  $23.86 \pm 1.78 \text{ kg/m}^2$  na nivou normalne uhranjenosti, uz normalne vrednosti obima struka  $82.00 \pm 5.24 \text{ cm}$ . Kod podgrupe MEHP negativnih ispitanika kontrolne grupe prosečni indeks telesne mase je bio  $22.72 \pm 2.09 \text{ kg/m}^2$ , na nivou normalne uhranjenosti, uz normalne vrednosti obima struka  $77.88 \pm 8.36 \text{ cm}$  (Tabela 49). Uočena je statistički značajna razlika između podgrupa MEHP pozitivnih i MEHP negativnih ispitanika kontrolne grupe i u pogledu BMI ( $p=0.044$ ) i u pogledu obima struka ( $p=0.061$ ). Koeficijent diskriminacije upućuje da je najveća razlika bila u odnosu na: BMI (0.003), a potom i za obim struka (0.001) (Tabela 50).

Tabela 50. Značajnost razlika u odnosu na antropometrijske parametre između podgrupa MEHP pozitivnih i MEHP negativnih ispitanika kontrolne grupe

Antropometrijski parametri	F	p	k.dsk
BMI	4.161	.044	.003
OS	3.593	.061	.001

Legenda: k.dsk -koeficijent diskriminacije;

BMI-Indeks telesne mase;

OS-obim struka

Diskriminativna analiza ( $p=0.000$ ) je pokazala da je granica među podgrupama MEHP negativnih i MHEP pozitivnih ispitanika kontrolne grupe jasno definisana, odnosno moguće je odrediti karakteristike svake podgrupe u odnosu na antropometriju. Ispitanici podgrupe MEHP pozitivnih su imali statistički značajno veće vrednosti BMI ( $p=0.037$ ) i obima struka ( $p=0.046$ ) od podgrupe MEHP negativnih ispitanika kontrolne grupe (Tabela 51).

Tabela 51. Značajnost razlika između podgrupa MEHP pozitivnih i MEHP negativnih ispitanika kontrolne grupe u odnosu na antropometrijske parametre

Antropometrijski parametri	MHEP<LOQ	MHEP≥LOQ	dpr %
BMI	manje	veće* <sup>1</sup>	1.339
OS	manje	veće* <sup>1</sup>	.446
n/m	59/84	9/16	
%	70.24	56.25	

Legenda: \*<sup>1</sup> da se grupa statistički značajno razlikuje od jedne grupe;

hmg – homogenost;

dpr % - doprinos obeležja karakteristikama;

BMI-Indeks telesne mase;

OS-obim struka;

LOQ-limit kvantifikacije

Primenom korelacione analize kod MEHP pozitivnih kontrolne grupe, uočena je pozitivna korelacija MEHP-a sa BMI ali bez statističke značajnosti ( $R = 0.239$  ;  $p=0.373$ ), a statistički značajna pozitivna korelacija sa obimom struka ( $R = 0.505$  ;  $p=0.046$ ) (Tabela 52).

Tabela 52. Povezanost MEHP-a kontrolne grupe sa BMI i obimom struka

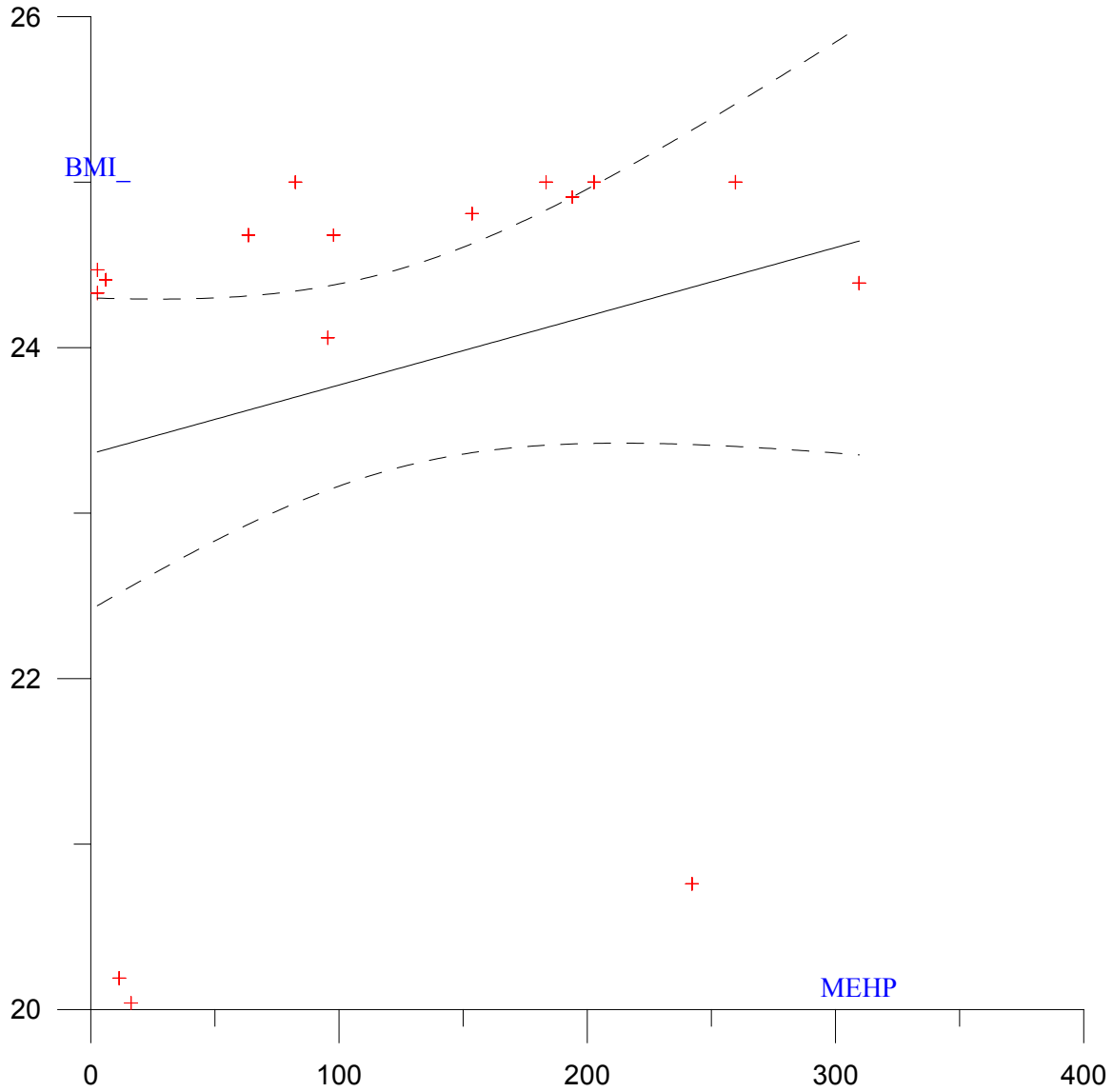
Antropometrijski parametri	R	p
BMI	.239	.373
OS	.505	.046

*Legenda:* BMI- Indeks telesne mase;

OS-obim struka

Primenom metode linearne regresije uočena je pozitivna korelacija MEHP-a i BMI u grupi kontrola MEHP pozitivnih ispitanika, ali bez statističke značajnosti ( $r = .2386$ ;  $p=.4503$ ) (Grafikon 2), a statistički značajna pozitivna korelacija MEHP-a i obima struka ( $r=.5048$ ;  $p=.0261$ ) (Grafikon 3).

Grafikon 2. Grafički prikaz linearne regresije između vrednosti MEHP-a i BMI u podgrupi kontrola MEHP pozitivnih

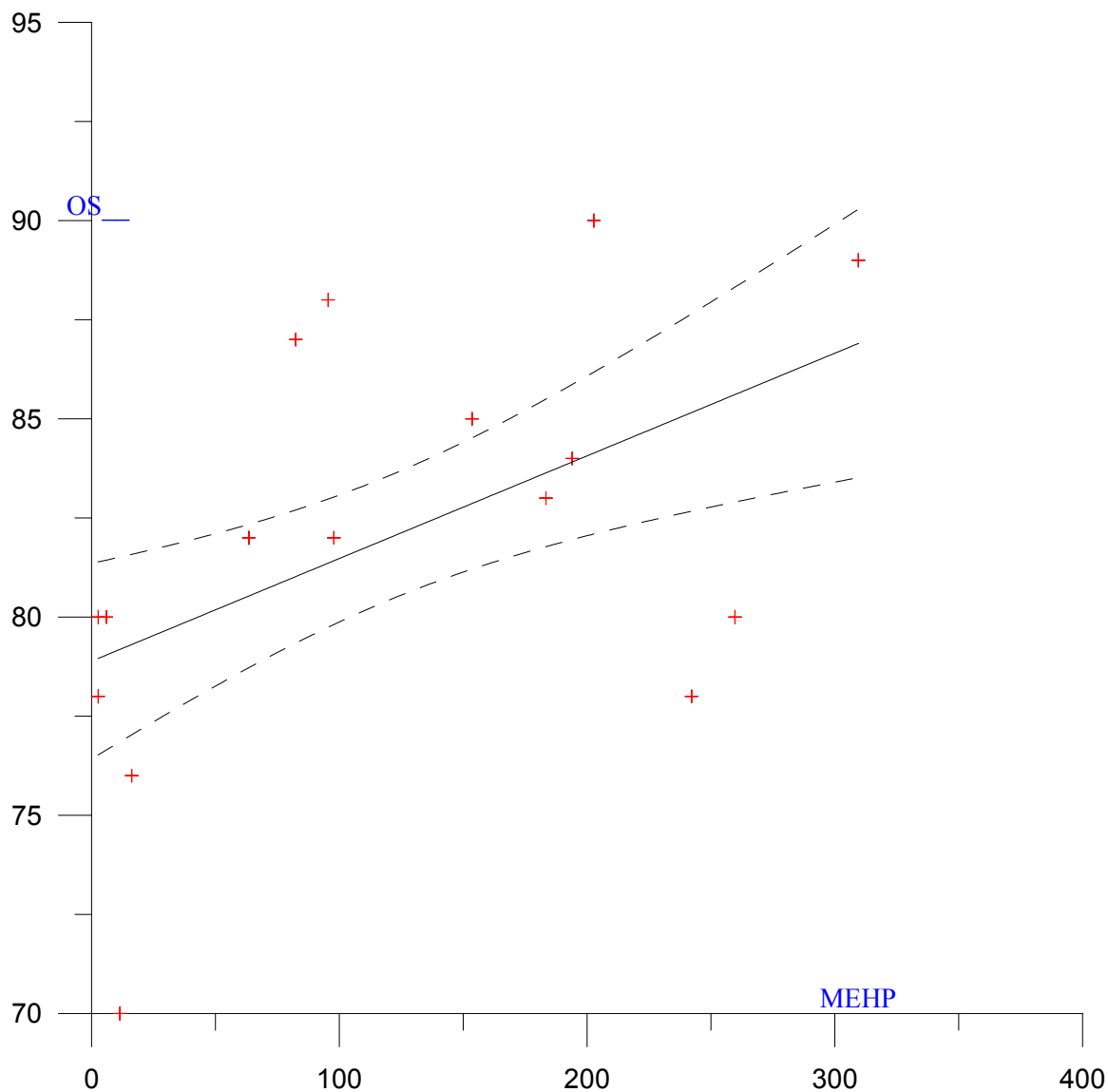


Legenda : MEHP- mono-2-etilheksil-ftalat

BMI- Indeks telesne mase

MEHP (µg/l): BMI (kg/m<sup>2</sup>):  $y = .0042x + 23.3589$   $r = .2386$ ,  
 $p = .4503$

Grafikon 3. Grafički prikaz linearne regresije između vrednosti MEHP-a i obima struka u podgrupi kontrola MEHP pozitivnih



Legenda : MEHP- Mono-2- etilheksil-ftalat

OS-obim struka

MEHP (µg/l): OS (cm): $y = .0259x + 78.8877$ $r = .5048, p = .0261$
--

## 6.4. Povezanost između MEP-a i MEHP-a sa lipidima i lipoproteinima seruma

### 6.4.1. Lipidi i lipoproteini seruma i MEP

Korelaciona analiza povezanosti MEP-a sa lipidima i lipoproteinima seruma je ukazala na statistički značajnu negativnu korelaciju MEP-a i HDL holesterola ( $R = -0.024$ ;  $p = 0.050$ ), dok nije uočena statistički značajna korelacija sa ostalim lipidima i lipoproteinima, kada se analiziraju svi MEP pozitivni ispitanici (Tabela 53).

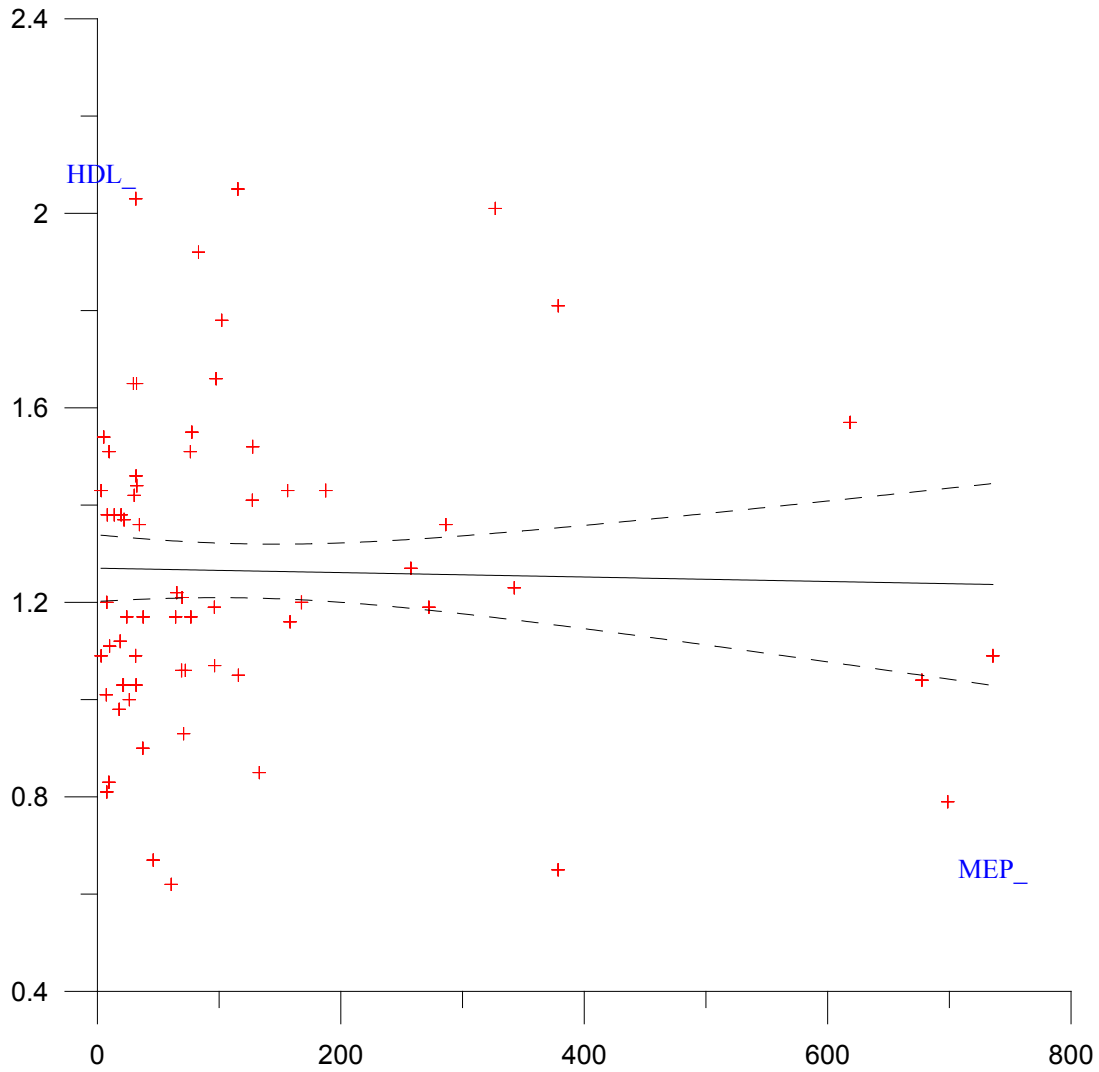
Tabela 53. Povezanost MEP-a sa lipidima i lipoproteinima seruma

Lipidi i lipoproteini seruma	R	p
hol-U	-.028	.104
TG	.039	.134
<b>HDL</b>	<b>-.024</b>	<b>.050</b>
LDL	-.024	.573
IA	.048	.304
RF	.075	.878

*Legenda:* hol-U-ukupni holesterol; TG-trigliceridi; HDL- lipoproteini velike gustine; LDL-lipoproteini male gustine; IA (Indeks ateroskleroze)-LDL/HDL; RF- Holesterol/HDL

Primenom metode linearne regresije uočena je negativna korelacija MEP-a i HDL holesterola kod svih MEP pozitivnih ispitanika, ali korelacija nije bila signifikantna ( $r = -0.0240$ ;  $p = 0.9637$ ) (Grafikon 4).

Grafikon 4. Grafički prikaz linearne regresije između vrednosti MEP-a i HDL holesterola kod svih MEP pozitivnih



Legenda: MEP-mono-etil-ftalat

HDL- lipoproteini velike gustine

MEP (µg/l): HDL (mmol/l):	$y = -.0000x + 1.2703$	$r = -.0240$
	$p = .9637$	



Uočena je statistički značajna razlika između podgrupa MEP pozitivnih ispitanika samo za ukupni kolesterol (hol-U) (0.027), trigliceride (TG) (0.022), HDL (0.001) i RF (0.011). Koeficijent diskriminacije upućuje da je najveću razliku davao HDL (0.068), a najmanju LDL(0.004) (Tabela 54).

Tabela 54. Značajnost razlika u odnosu na lipide i lipoproteine seruma u podgrupama MEP pozitivnih ispitanika

Lipidi i lipoproteini seruma	F	p	k.dsk
hol-U	3.839	.027	.011
TG	4.054	.022	.023
HDL	7.599	.001	.068
LDL	1.347	.267	.004
IA	1.950	.151	.039
RF	4.859	.011	.059

*Legenda:* k.dsk - koeficijent diskriminacije; hol-U-ukupni kolesterol; TG-trigliceridi; HDL- lipoproteini velike gustine; LDL-lipoproteini male gustine; IA (Indeks ateroskleroze)-LDL/HDL; RF-Holesterol/HDL

Uvidom u tabelu 55.uočavamo da su gojazni MEP pozitivni ispitanici u odnosu na MEP pozitivne ispitanike kontrolne podgrupe imali statistički značajno manje vrednosti HDL kolesterola ( $p=0.007$ ), statistički značajno veće vrednosti triglicerida ( $p=0.046$ ), a nisu se statistički značajno razlikovali prema ostalim lipidima i lipoproteinima seruma. DM tip 2 MEP pozitivni ispitanici u odnosu na MEP pozitivne ispitanike kontrolne podgrupe su imali statistički značajno manje vrednosti HDL ( $p=0.036$ ), statistički značajno veće vrednosti ukupnog kolesterola ( $p=0.034$ ), triglicerida ( $p=0.013$ ) i RF ( $p=0.034$ ), dok nije uočena statistički značajna razlika između ove dve podgrupe u odnosu na IA i LDL. DM tip 2 MEP pozitivni ispitanici u odnosu na gojazne MEP pozitivne ispitanike su imali statistički značajno veće vrednosti ukupnog kolesterola ( $p=0.017$ ) i RF ( $p=0.042$ ), dok nije uočena statistički značajna razlika za HDL, IA, trigliceride i LDL.

Tabela 55. Karakteristike i homogenost MEP pozitivnih u odnosu na lipide i lipoproteine seruma

Lipidi i lipoproteini seruma	MEP pozitivni Gojazni	MEP pozitivni DM tip 2	MEP pozitivni Kontrolna grupa	dpr %
HDL	manje	umerene	veće* <sup>2</sup>	33.333
RF	umerene	veće* <sup>2</sup>	manje	28.922
IA	umerene	veće	manje	19.118
TG	umerene* <sup>1</sup>	veće* <sup>1</sup>	manje	11.275
hol-U	manje	veće* <sup>2</sup>	umerene	5.392
LDL	manje	veće	umerene	1.961
n/m	22/30	6/13	14/23	
%	73.33	46.15	60.87	

Legenda: \*<sup>1</sup> da se grupa statistički značajno razlikuje od jedne grupe

\*<sup>2</sup> da se grupa statistički značajno razlikuje s dve grupe

hmg – homogenost

dpr % - doprinos obeležja karakteristikama

hol-U-ukupni holesterol

TG-trigliceridi

HDL- lipoproteini velike gustine

LDL-lipoproteini male gustine

IA (Indeks ateroskleroze)-LDL/HDL

RF- Holesterol/HDL

**6.4.1.2. Analiza razlika u odnosu na lipide i lipoproteine seruma između podgrupa MEP pozitivnih i MEP negativnih gojaznih ispitanika**

Tabela 56. Analiza lipida i lipoproteina u podgrupi gojaznih MEP pozitivnih i MEP negativnih ispitanika

Grupe	Lipidi i lipoproteini seruma	$\bar{x}$	SD	Min	Maks	CV	CI	
MEP pozitivni Gojazni ispitanici N=30	hol-U	4.95	.96	3.3	6.5	19.47	4.59	5.31
	TG	1.64	.78	.6	4.3	47.61	1.35	1.94
	HDL	1.16	.27	.6	1.8	23.67	1.06	1.26
	LDL	3.01	.81	1.4	4.5	26.93	2.70	3.31
	IA	2.75	.90	1.3	5.7	32.76	2.41	3.09
	RF	4.37	1.09	2.5	7.8	24.87	3.96	4.78
MEP negativni Gojazni ispitanici N=74	Lipidi i lipoproteini seruma	$\bar{x}$	SD	Min	Maks	CV	CI	
	hol-U	5.37	1.08	3.1	9.8	20.10	5.12	5.62
	TR	1.83	.95	.6	5.5	51.74	1.61	2.05
	HDL	1.18	.33	.6	2.0	27.76	1.11	1.26
	LDL	3.36	.89	1.2	6.8	26.59	3.15	3.57
	IA	3.05	1.08	1.0	6.1	35.39	2.80	3.30
	RF	4.83	1.39	2.3	8.2	28.78	4.51	5.15

*Legenda:* hol-U-ukupni kolesterol; TG-trigliceridi; HDL- lipoproteini velike gustine; LDL-lipoproteini male gustine; IA (Indeks ateroskleroze)-LDL/HDL; RF- Kolesterol/HDL

Vrednosti lipida i lipoproteina u podgrupi gojaznih MEP pozitivnih ispitanika su bile u referentnom opsegu. Ali, kada ih poredimo sa preporukama iz Nacionalnog vodiča za dijagnostikovanje i lečenje lipidskih poremećaja, svi su bili u kategoriji poželjnih vrednosti, osim HDL holesterola–granično povišen rizik. U podgrupi gojaznih MEP negativnih ispitanika u referentnom opsegu je bio ukupni holesterol, LDL holesterol, HDL holesterol, trigliceridi i faktor rizika (RF), dok je indeks ateroskleroze malo bio povišen (3,05+/- 1,08). Ali, kada ih poredimo sa preporukama iz Nacionalnog vodiča za dijagnostikovanje i lečenje lipidskih poremećaja, svi su se nalazili u kategoriji granično povišenog rizika, osim LDL holesterola- poželjne vrednosti (Tabela 56).

MEP negativni gojazni i MEP pozitivni gojazni ispitanici su se statistički značajno razlikovali prema vrednostima ukupnog holesterola ( $p=0.063$ ) i LDL holesterola ( $p=0.062$ ). Za ostale ispitivane parametre lipida i lipoproteina nije uočena statistički značajna razlika među posmatranim podgrupama (Tabela 57).

Tabela 57. Značajnost razlika po lipidima i lipoproteinima između podgrupa gojazni MEP pozitivni i MEP negativni

Lipidi i lipoproteini seruma	F	p	k.dsk
U-hol	3.529	.063	.035
TG	.924	.339	.000
HDL	.099	.754	.176
LDL	3.567	.062	.017
IA	1.726	.192	.172
RF	2.647	.107	.253

*Legenda:* k.dsk- koeficijent diskriminacije; hol-U-ukupni holesterol; TG-trigliceridi; HDL- lipoproteini velike gustine; LDL-lipoproteini male gustine; IA (Indeks ateroskleroze)-LDL/HDL; RF-Holesterol/HDL

Diskriminativna analiza je takođe ukazala da postoji jasno definisana granica između podgrupa gojaznih ispitanika MEP pozitivnih i MEP negativnih ( $p= 0.000$ ), odnosno moguće je odrediti karakteristike svake podgrupe.

Gojazni MEP negativni ispitanici u odnosu na gojazne MEP pozitivne ispitanike su imali statistički značajno veće vrednosti ukupnog holesterola ( $p=0.027$ ) i LDL ( $p=0.048$ ), dok se nisu statistički značajno razlikovali po ostalim ispitivanim lipidima i lipoproteinima (Tabela 58).

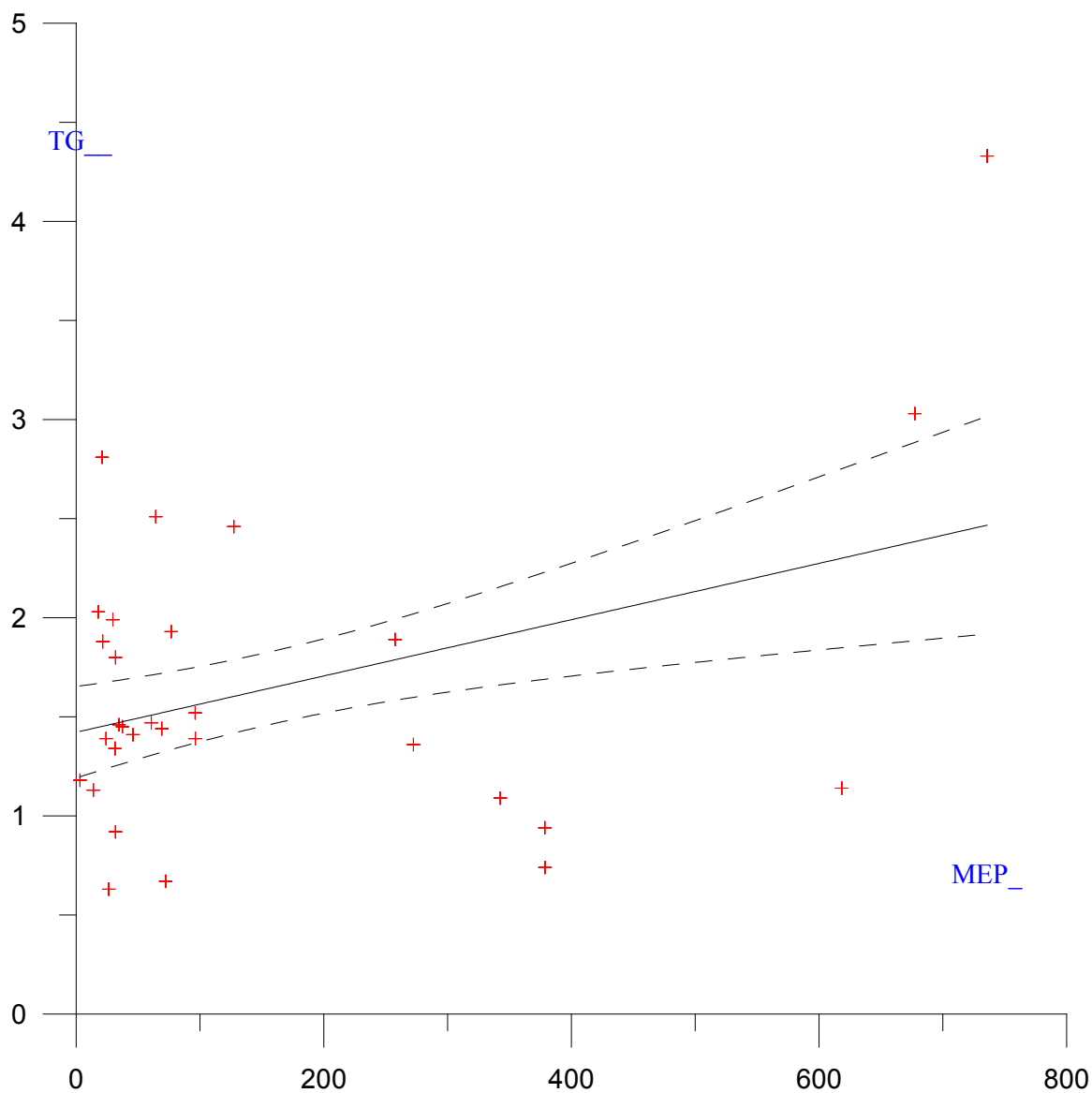
Tabela 58. Karakteristike i homogenost podgrupa gojazni MEP pozitivni i MEP negativni u odnosu na lipide i lipoproteine seruma

Lipidi i lipoproteini seruma	MEP < LOQ	MEP $\geq$ LOQ	dpr %
RF	veće	manje	27.681
HDL	veće	manje	19.256
IA	veće	manje	18.818
U-hol	veće* <sup>1</sup>	manje	3.829
LDL	veće* <sup>1</sup>	manje	1.860
TG	veće	manje	.000
n/m	53/74	19/30	
%	71.62	63.33	

*Legenda:* \*<sup>1</sup> da se grupa statistički značajno razlikuje od jedne grupe; hmg - homogenost; dpr % - doprinos obeležja karakteristikama; hol-U-ukupni holesterol; TG-trigliceridi; HDL- lipoproteini velike gustine; LDL-lipoproteini male gustine; IA (Indeks ateroskleroze)-LDL/HDL; RF- Holesterol/HDL ; LOQ-limit kvantifikacije

Međutim, primenom metode linearne regresije uočena je statistički značajna pozitivna korelacija MEP-a i triglicerida u podgrupi gojaznih MEP pozitivnih ispitanika ( $r=0.3785$ ,  $p=0.0176$ ) (Grafikon 5).

Grafikon 5. Grafički prikaz linearne regresije između vrednosti MEP-a i triglicerida u podgrupi gojaznih MEP pozitivnih ispitanika



Legenda: MEP-mono-etil-ftalat

TG-trigliceridi

MEP (µg/l): Tg (mmol/l):  $y = .0014x + 1.4221$   $r = .3785$ ,  
 $p = .0176$

**6.4.1.3. Analiza razlika u odnosu na lipide i lipoproteine seruma između podgrupa MEP pozitivnih i MEP negativnih ispitanika s DM tip 2**

Tabela 59. Analiza lipida i lipoproteina u podgrupama MEP pozitivnih i MEP negativnih ispitanika s DM tipa 2

Grupe	Lipidi i lipoproteini seruma	$\bar{x}$	SD	Min	Maks	CV	CI	
MEP pozitivni DM tip 2 N=13	hol-U	5.93	1.35	4.5	8.8	22.67	5.12	6.75
	TG	2.41	2.59	.5	9.2	107.21	.85	3.98
	HDL	1.16	.25	.8	1.8	21.90	1.01	1.32
	LDL	3.52	1.18	1.5	5.9	33.61	2.80	4.23
	IA	3.09	1.11	1.9	5.7	36.02	2.41	3.76
	RF	5.22	1.58	3.3	8.4	30.31	4.26	6.18
MEP negativni DM tip 2 N=88	Lipidi i lipoproteini seruma	$\bar{x}$	SD	Min	Maks	CV	CI	
	hol-U	5.87	1.99	2.8	16.8	33.81	5.45	6.29
	TR	2.42	2.59	.4	21.6	106.96	1.87	2.97
	HDL	1.13	.37	.3	2.8	32.91	1.05	1.20
	LDL	3.64	1.46	1.3	11.4	39.95	3.34	3.95
	IA	3.46	1.65	.7	11.1	47.81	3.11	3.81
	RF	5.79	4.30	1.8	40.6	74.41	4.87	6.70

*Legenda:* hol-U-ukupni kolesterol; TG-trigliceridi; HDL- lipoproteini velike gustine; LDL-lipoproteini male gustine; IA (Indeks ateroskleroze)-LDL/HDL; RF- Kolesterol/HDL

U podgrupi DM tip 2 MEP pozitivnih ispitanika prosečne vrednosti ukupnog holesterola ( $5.93 \pm 1.35 \text{ mmol/l}$ ), triglicerida ( $2.41 \pm 2.59 \text{ mmol/l}$ ), IA ( $3.09 \pm 1.11$ ) i RF ( $5.22 \pm 1.58$ ) su bile povišene, dok su HDL holesterol ( $1.16 \pm 0.25 \text{ mmol/l}$ ) i LDL holesterol ( $3.52 \pm 1.18 \text{ mmol/l}$ ) bili u referentnom opsegu. Ali, kada ih poredimo sa preporukama iz Nacionalnog vodiča za dijagnostikovanje i lečenje lipidskih poremećaja iznad ciljnih vrednosti su bili svi lipidi i lipoproteini, a HDL holesterol ispod ciljnih vrednosti.

U podgrupi DM tip 2 MEP negativnih ispitanika prosečne vrednosti ukupnog holesterola ( $5.87 \pm 1.99 \text{ mmol/l}$ ), LDL holesterola ( $3.64 \pm 1.46 \text{ mmol/l}$ ) i HDL holesterola ( $1.13 \pm 0.37 \text{ mmol/l}$ ) su bile u referentnom opsegu, dok vrednosti triglicerida ( $2.42 \pm 2.59 \text{ mmol/l}$ ), IA ( $3.46 \pm 1.65$ ) i RF ( $5.79 \pm 4.30$ ) su bile povišene. Ali, kada ih poredimo sa preporukama iz Nacionalnog vodiča za dijagnostikovanje i lečenje lipidskih poremećaja iznad ciljnih vrednosti su bili svi lipidi i lipoproteini, a HDL holesterol ispod ciljnih vrednosti (Tabela 59).

Nije nađena statistički značajna razlika u odnosu na lipide i lipoproteine seruma među podgrupama MEP pozitivnih i MEP negativnih ispitanika s DM tip 2 (Tabela 60). Koeficijent diskriminacije upućuje da je najveća razlika bila u odnosu na IA (0.245), a najmanja u odnosu na HDL (0.014) (Tabela 60).

Tabela 60. Značajnost razlika između podgrupa MEP pozitivnih i MEP negativnih ispitanika s DM tip 2 u odnosu na lipide i lipoproteine seruma

Lipidi i lipoproteini seruma	F	p	k.dsk
U-hol	.013	.910	.231
TG	.000	.994	.051
HDL	.126	.723	.014
LDL	.087	.769	.232
IA	.626	.431	.245
RF	.219	.641	.186

*Legenda:* k.dsk - koeficijent diskriminacije, U-hol-ukupni holesterol; TG-trigliceridi; HDL- lipoproteini velike gustine; LDL-lipoproteini male gustine; IA (Indeks ateroskleroze)-LDL/HDL; RF-Holesterol/HDL



**6.4.1.4. Analiza razlika u odnosu na lipide i lipoproteine seruma između podgrupa MEP pozitivnih i MEP negativnih ispitanika kontrolne grupe**

Tabela 61. Analiza lipida i lipoproteina u podgrupama MEP pozitivnih i MEP negativnih ispitanika kontrolne grupe

Grupe	Lipidi i lipoproteini seruma	$\bar{x}$	SD	Min	Maks	CV	CI	
MEP pozitivni Kontrolna grupa N=23	hol-U	5.18	1.05	3.7	7.2	20.35	4.72	5.63
	TG	1.14	.58	.5	2.6	50.80	.89	1.39
	HDL	1.46	.34	.9	2.0	23.53	1.31	1.61
	LDL	3.20	.97	1.8	5.3	30.37	2.78	3.62
	IA	2.39	1.14	1.0	5.2	47.84	1.90	2.89
	RF	3.85	1.35	2.1	6.9	35.28	3.24	4.41
MEP negativni Kontrolna grupa N=77	Lipidi i lipoproteini seruma	$\bar{x}$	SD	Min	Maks	CV	CI	
	hol-U	5.23	.96	3.6	7.8	18.38	5.01	5.45
	TR	1.32	.82	.4	5.1	62.34	1.13	1.51
	HDL	1.39	.35	.6	2.2	24.94	1.32	1.47
	LDL	3.24	.81	1.8	5.7	25.12	3.06	3.42
	IA	2.53	1.01	1.1	6.7	40.04	2.30	2.76
RF	4.04	1.40	2.2	9.7	34.75	3.72	4.35	

*Legenda:* hol-U-ukupni kolesterol; TG-trigliceridi; HDL- lipoproteini velike gustine; LDL-lipoproteini male gustine; IA (Indeks ateroskleroze)-LDL/HDL; RF- Kolesterol/HDL

U podgrupi MEP pozitivnih ispitanika kontrolne grupe vrednosti lipida i lipoproteina su bile u referentnom opsegu. Ali, kada ih poredimo sa preporukama iz Nacionalnog vodiča za dijagnostikovanje i lečenje lipidskih poremećaja, svi su bili u kategoriji poželjnih vrednosti, osim HDL holesterola – granično povišen rizik. U podgrupi MEP negativnih ispitanika kontrolne grupe su takođe vrednosti lipida i lipoproteina seruma bile u referentnom opsegu. Međutima, ako ih poredimo sa preporukama iz Nacionalnog vodiča za dijagnostikovanje i lečenje lipidskih poremećaja, svi su bili u kategoriji poželjnih vrednosti, osim ukupnog holesterola i HDL holesterola – granično povišen rizik (Tabela 61).

Nije uočena statistički značajna razlika u odnosu na lipide i lipoproteine seruma između podgrupa MEP pozitivnih i MEP negativnih ispitanika kontrolne grupe kod: ukupnog holesterola (0.827), TG (0.323), HDL (0.439), LDL (0.844), IA (0.586), RF (0.531) (Tabela 62).

Tabela 62. Značajnost razlika između podgrupa MEP pozitivnih i MEP negativnih ispitanika kontrolne grupe u odnosu na lipide i lipoproteine seruma

Lipidi i lipoproteini seruma	F	p	k.dsk
U-hol	.048	.827	.002
TG	.988	.323	.000
HDL	.604	.439	.002
LDL	.039	.844	.004
IA	.299	.586	.081
RF	.396	.531	.012

*Legenda:* k.dsk - koeficijent diskriminacije, hol-U-ukupni holesterol; TG-trigliceridi; HDL- lipoproteini velike gustine; LDL-lipoproteini male gustine; IA (Indeks ateroskleroze)-LDL/HDL; RF-Holesterol/HDL

Korelaciona analiza kod MEP pozitivnih kontrolne grupe nije ukazala na statističku značajnu povezanost MEP-a sa lipidima i lipoproteinima seruma (Tabela 63).

Tabela 63. Povezanost MEP-a kontrolne podgrupe sa lipidima i lipoproteinima

Lipidi i lipoproteini seruma	R	p
hol-U	-.018	.204
TG	.036	.124
HDL	.288	.183
LDL	-.459	.288
IA	.028	.314
RF	.065	.868

*Legenda:* hol-U-ukupni holesterol; TG-trigliceridi; HDL- lipoproteini velike gustine; LDL-lipoproteini male gustine; IA (Indeks ateroskleroze)-LDL/HDL; RF- Holesterol/HDL

## 6.4.2. Lipidi i lipoproteini seruma i MEHP

### 6.4.2.1. Povezanost MEHP-a sa lipidima i lipoproteinima seruma

Korelaciona analiza povezanosti MEHP-a sa lipidima i lipoproteinima seruma sprovedena u svih ispitanika s pozitivnim MEHP-om nije ukazala na statistički značajnu povezanost sa ukupnim holesterolom, trigliceridima, HDL holesterolom, LDL holesterolom, IA i RF (Tabela 64).

Tabela 64. Povezanost MEHP-a sa lipida i lipoproteinima seruma

Lipidi i lipoproteini seruma	R	p
Hol-U	.082	.495
TG	.090	.481
HDL	-.214	.411
LDL	.122	.491
IA	.236	.550
RF	.201	.939

*Legenda:* hol-U-ukupni holesterol; TG-trigliceridi; HDL- lipoproteini velike gustine; LDL-lipoproteini male gustine; IA (Indeks ateroskleroze)-LDL/HDL; RF- Holesterol/HDL

Iako korelacionom analizom nije utvrđena statistički značajna povezanost MEHP-a sa lipidima i lipoproteinima seruma, nađena je statistički značajna razlika u RF ( $p=0.073$ ) između podgrupa MEHP pozitivnih ispitanika, dok nije uočena značajna razlika kod ukupnog holesterola, triglicerida, HDL holesterola, LDL holesterola i IA (Tabela 65).

Tabela 65. Značajnost razlika u odnosu na lipide i lipoproteine seruma u podgrupama MEHP pozitivnih ispitanika

Lipidi i lipoproteini seruma	F	p
hol-U	2.276	.110
TG	1.804	.172
HDL	1.099	.339
LDL	2.271	.111
IA	2.345	.103
RF	2.723	.073

*Legenda:* hol-U-ukupni holesterol; TG-trigliceridi; HDL- lipoproteini velike gustine; LDL-lipoproteini male gustine; IA (Indeks ateroskleroze)-LDL/HDL; RF- Holesterol/HDL

Metodom diskriminativne analize ( $p=0.000$ ) je uočena jasno definisana granica među podgrupama MEHP pozitivnih ispitanika, odnosno moguće je odrediti karakteristike svake podgrupe u odnosu na lipide i lipoproteine seruma.

Gojazni MEHP pozitivni ispitanici u odnosu na MEHP pozitivne ispitanike kontrolne grupe nisu se statistički značajno razlikovali u odnosu na lipide i lipoproteine seruma. MEHP pozitivni ispitanici s DM tip 2 u odnosu na MEHP pozitivne ispitanike kontrolne grupe su imali statistički značajno veće vrednosti ukupnog holesterola ( $p=0.034$ ) i RF ( $p=0.046$ ), dok se nisu statistički značajno razlikovali po ostalim lipidima i lipoproteinima seruma. MEHP pozitivni ispitanici s DM tip 2 u odnosu na gojazne MEHP pozitivne ispitanike su imali statistički značajno veće vrednosti RF ( $p=0.04$ ), dok se nisu statistički značajno razlikovali u odnosu na ostale lipide i lipoproteine seruma (Tabela 66).

Tabela 66. Karakteristike i homogenost podgrupa MEHP pozitivnih ispitanika u odnosu na lipide i lipoproteine seruma

Lipidi i lipoproteini seruma	MEHP pozitivni Gojazni	MEHP pozitivni DM tip 2	MEHP pozitivni Kontrolna grupa	dpr %
LDL	umerene	veće	manje	74.972
U-hol	umerene	veće* <sup>1</sup>	manje	6.101
TG	umerene	veće	manje	1.938
RF	umerene	veće* <sup>2</sup>	manje	.272
IA	umerene	veće	manje	0.372
HDL	umereno	manje	veće	0.82
n/m	22/27	22/29	12/16	
%	81.48	75.86	75.00	

Legenda: \*<sup>1</sup> da se grupa statistički značajno razlikuje od jedne grupe

\*<sup>2</sup> da se grupa statistički značajno razlikuje s dve grupe

hol-U-ukupni holesterol

TG-trigliceridi

HDL- lipoproteini velike gustine

LDL-lipoproteini male gustine

IA (Indeks ateroskleroze)-LDL/HDL

RF- Holesterol/HDL

**6.4.2.2. Analiza razlika lipida i lipoproteina seruma između podgrupa MEHP pozitivnih i MEHP negativnih gojaznih ispitanika**

Tabela 67. Analiza lipida i lipoproteina u podgrupama MEHP pozitivnih i MEHP negativnih gojaznih ispitanika

Grupe	Lipidi i lipoproteini seruma	$\bar{x}$	SD	Min	Maks	CV	CI	
MEHP pozitivni Gojazni ispitanici N=27	hol-U	5.20	.88	3.7	6.8	16.94	4.85	5.55
	TG	1.63	.70	.7	3.2	43.09	1.36	1.91
	HDL	1.22	.31	.7	1.9	25.74	1.09	1.34
	LDL	3.24	.75	1.8	4.6	23.01	2.94	3.53
	IA	2.82	.95	1.2	5.4	33.56	2.45	3.19
	RF	4.42	1.22	2.5	8.2	27.64	3.94	4.91
MEHP negativni Gojazni ispitanici N=77	Lipidi i lipoproteini seruma	$\bar{x}$	SD	Min	Maks	CV	CI	
	hol-U	5.27	1.12	3.1	9.8	21.29	5.01	5.52
	TR	1.83	.96	.6	5.5	52.68	1.61	2.05
	HDL	1.16	.31	.6	2.0	26.93	1.09	1.23
	LDL	3.27	.93	1.2	6.8	28.44	3.06	3.48
	IA	3.01	1.07	1.0	6.1	35.38	2.77	3.25
	RF	4.80	1.35	2.3	8.1	28.14	4.49	5.10

*Legenda:* hol-U-ukupni kolesterol; TG-trigliceridi; HDL- lipoproteini velike gustine; LDL-lipoproteini male gustine; IA (Indeks ateroskleroze)-LDL/HDL; RF- Kolesterol/HDL

Vrednosti lipida i lipoproteina u podgrupi MEHP pozitivnih gojaznih ispitanika su bile u referentnom opsegu: ukupni holesterol ( $5.20 \pm 0.88$  mmol/l), LDL holesterol ( $3.24 \pm 0.75$ ), HDL holesterol ( $1.22 \pm 0.27$ ), trigliceridi ( $1.63 \pm 0.70$  mmol/l), indeks ateroskleroze (IA) ( $2.82 \pm 0.95$ ) i faktor rizika (RF) ( $4.42 \pm 1.22$ ). Ali, kada ih poredimo sa preporukama iz Nacionalnog vodiča za dijagnostikovanje i lečenje lipidskih poremećaja, svi su bili u kategoriji poželjnih vrednosti, osim ukupnog holesterola i HDL holesterola – granično povišen rizik. U podgrupi MEHP negativnih gojaznih ispitanika su u referentnom opsegu bili ukupni holesterol ( $5.27 \pm 1.12$  mmol/l), LDL holesterol ( $3.27 \pm 0.93$ ), HDL holesterol ( $1.16 \pm 0.31$ ), trigliceridi ( $1.83 \pm 0.96$  mmol/l) i faktor rizika (RF) ( $4.80 \pm 1.35$ ), dok je indeks ateroskleroze (IA) ( $3.01 \pm 1.07$ ) bio malo povišen. Kada ih poredimo sa preporukama iz Nacionalnog vodiča za dijagnostikovanje i lečenje lipidskih poremećaja, svi su bili u kategoriji – granično povišen rizik, osim LDL holesterola-poželjne vrednosti (Tabela 67).

Nije uočena statistički značajna razlika u lipidima i lipoproteinima seruma između podgrupa MEHP pozitivnih i MEHP negativnih gojaznih ispitanika. Koeficijent diskriminacije upućuje da je razlika najveća kod IA (0.107), a najmanja za trigliceride (0.006) (Tabela 68).

Tabela 68. Značajnost razlika u odnosu na lipide i lipoproteine seruma u podgrupama MEHP pozitivnih i MEHP negativnih gojaznih ispitanika

Lipidi i lipoproteini seruma	F	p	k.dsk
hol-U	.088	.767	.010
TG	.912	.342	.006
HDL	.710	.401	.079
LDL	.022	.882	.007
IA	.664	.417	.107
RF	1.608	.208	.025

*Legenda:* k.dsk- koeficijent diskriminacije ;hol-U-ukupni holesterol; TG-trigliceridi; HDL- lipoproteini velike gustine; LDL-lipoproteini male gustine; IA (Indeks ateroskleroze)-LDL/HDL; RF-Holesterol/HDL

**6.4.2.3. Analiza razlika u lipidima i lipoproteinima između podgrupa MEHP pozitivnih i MEHP negativnih ispitanika s DM tip 2**

Tabela 69. Analiza lipida i lipoproteina u podgrupama MEHP pozitivnih i MEHP negativnih ispitanika s DM tip 2

Grupe	Lipidi i lipoproteini seruma	$\bar{x}$	SD	Min	Maks	CV	CI	
MEHP pozitivni DM tip 2 N=29	hol-U	6.07	2.56	3.2	16.8	42.13	5.09	7.04
	TG	2.16	1.98	.6	9.7	91.51	1.41	2.91
	HDL	1.20	.46	.6	2.8	37.93	1.03	1.38
	LDL	3.88	1.93	1.7	11.4	49.70	3.15	4.62
	IA	3.41	1.77	1.6	11.1	52.09	2.73	4.08
	RF	5.41	2.54	2.8	16.5	46.98	4.44	6.37
MEHP negativni DM tip 2 N=72	Lipidi i lipoproteini seruma	$\bar{x}$	SD	Min	Maks	CV	CI	
	hol-U	5.80	1.59	2.8	13.0	27.44	5.43	6.18
	TR	2.52	2.79	.4	21.6	110.39	1.87	3.18
	HDL	1.10	.31	.3	1.9	27.90	1.03	1.17
	LDL	3.52	1.15	1.3	8.9	32.69	3.25	3.80
	IA	3.41	1.53	.7	10.1	44.83	3.06	3.78
	RF	5.84	4.54	1.8	40.6	77.74	4.77	6.90

*Legenda:* hol-U-ukupni kolesterol; TG-trigliceridi; HDL- lipoproteini velike gustine; LDL-lipoproteini male gustine; IA (Indeks ateroskleroze)-LDL/HDL; RF- Kolesterol/HDL



U podgrupi MEHP pozitivnih dijabetesnih ispitanika prosečne vrednosti ukupnog holesterola ( $6.07 \pm 2.56$  mmol/l), triglicerida ( $2.13 \pm 1.98$  mmol/l), IA ( $3.41 \pm 1.77$ ) i RF ( $5.41 \pm 2.54$ ) su bile povišene, dok su LDL holesterol ( $3.88 \pm 1.93$  mmol/l) i HDL holesterol ( $1.20 \pm 0.46$  mmol/l) bili u referentom opsegu (Tabela 69). Kada ih poredimo sa preporukama iz Nacionalnog vodiča za dijagnostikovanje i lečenje lipidskih poremećaja iznad ciljnih vrednosti su bili svi lipidi i lipoproteini, a HDL holesterol ispod ciljnih vrednosti.

U podgrupi MEHP negativnih dijabetesnih ispitanika prosečne vrednosti ukupnog holesterola ( $5.80 \pm 1.59$  mmol/l), LDL holesterola ( $3.52 \pm 1.53$  mmol/l), HDL holesterola ( $1.10 \pm 0.31$  mmol/l) i RF ( $4.54 \pm 1.8$ ) su bile u referentom opsegu, dok vrednosti triglicerida ( $2.59 \pm 2.79$  mmol/l) i IA ( $3.41 \pm 1.53$ ) su bile povišene (Tabela 69). Kada ih poredimo sa preporukama iz Nacionalnog vodiča za dijagnostikovanje i lečenje lipidskih poremećaja iznad ciljnih vrednosti su bili svi lipidi i lipoproteini, a HDL holesterol ispod ciljnih vrednosti.

Nije postojala statistički značajna razlika u lipidima i lipoproteinima između podgrupa MEHP pozitivnih i MEHP negativnih ispitanika s DM tip 2. Koeficijent diskriminacije upućuje da je najveća razlika između podgrupa MEHP pozitivnih i MEHP negativnih dijabetesnih ispitanika bila za IA (0.245), a najmanja za HDL holesterol (0.014) (Tabela 70).

Tabela 70. Značajnost razlika između podgrupa MEHP pozitivnih i MEHP negativnih ispitanika s DM tip 2 u odnosu na lipide i lipoproteine seruma

Lipidi i lipoproteini seruma	F	p	k.dsk
U-hol	.013	.910	.231
TG	.000	.994	.051
HDL	.126	.723	.014
LDL	.087	.769	.232
IA	.626	.431	.245
RF	.219	.641	.186

*Legenda:* k.dsk - koeficijent diskriminacije; hol-U-ukupni holesterol; TG-trigliceridi; HDL- lipoproteini velike gustine; LDL-lipoproteini male gustine; IA (Indeks ateroskleroze)-LDL/HDL; RF-Holesterol/HDL

#### 6.4.2.4. Analiza razlika u lipidima i lipoproteinima između podgrupa MEHP pozitivnih i MEHP negativnih ispitanika kontrolne grupe

Tabela 71. Analiza lipida i lipoproteina u podgrupama MEHP pozitivnih i MEHP negativnih ispitanika kontrolne grupe

Grupe	Lipidi i lipoproteini seruma	$\bar{x}$	SD	Min	Maks	CV	CI	
MEHP pozitivni Kontrolna grupa N=16	hol-U	5.10	.95	3.7	7.2	18.62	4.59	5.61
	TG	1.41	.82	.6	3.8	58.16	.97	1.85
	HDL	1.38	.42	.7	2.1	30.39	1.15	1.60
	LDL	3.13	.73	1.9	4.8	23.28	2.74	3.52
	IA	2.59	.89	1.3	4.6	34.52	2.11	3.07
	RF	4.23	1.41	2.6	8.2	33.38	3.48	4.98
MEHP negativni Kontrolna grupa N=84	Lipidi i lipoproteini seruma	$\bar{x}$	SD	Min	Maks	CV	CI	
	hol-U	5.24	.99	3.6	7.8	18.85	5.02	5.45
	TR	1.25	.77	.4	5.1	61.32	1.09	1.42
	HDL	1.42	.33	.6	2.2	23.54	1.34	1.49
	LDL	3.25	.87	1.8	5.7	26.80	3.06	3.44
	IA	2.48	1.07	1.0	6.7	43.12	2.25	2.71
RF	3.94	1.39	2.1	9.7	35.15	3.64	4.24	

*Legenda:* hol-U-ukupni kolesterol; TG-trigliceridi; HDL- lipoproteini velike gustine; LDL-lipoproteini male gustine; IA (Indeks ateroskleroze)-LDL/HDL; RF- Kolesterol/HDL

U podgrupi MEHP pozitivnih ispitanika kontrolne grupe vrednosti ispitivanih lipida i lipoproteina, IA i RF su bile u referentnom opsegu. Ali, kada ih poredimo sa preporukama iz Nacionalnog vodiča za dijagnostikovanje i lečenje lipidskih poremećaja, svi su bili u kategoriji poželjnih vrednosti, osim HDL holesterola – granično povišen rizik. U podgrupi MEHP negativnih ispitanika kontrolne grupe su takođe vrednosti lipida i lipoproteina, IA i RF bile u granicama referentnih vrednosti (Tabela 71). Kada ih poredimo sa preporukama iz Nacionalnog vodiča za dijagnostikovanje i lečenje lipidskih poremećaja, svi su bili u kategoriji poželjnih vrednosti, osim ukupnog holesterola i HDL holesterola – granično povišen rizik.

Nije postojala statistički značajna razlika u lipidima i lipoproteinima seruma, niti IA i RF između podgrupa MEHP pozitivnih i MEHP negativnih ispitanika kontrolne grupe. Koeficijent diskriminacije upućuje da je najveća razlika bila za IA (0.094), a najmanja za RF (0.000) i HDL holesterol (0.000) (Tabela 72).

Tabela 72. Značajnost razlika između podgrupa MEHP pozitivnih i MEHP negativnih ispitanika kontrolne grupe u odnosu na lipide i lipoproteine seruma

Lipidi i lipoproteini seruma	F	p	k.dsk
U-hol	.256	.614	.017
TG	.547	.461	.012
HDL	.182	.671	.000
LDL	.283	.596	.018
IA	.143	.706	.094
RF	.575	.450	.000

*Legenda:* k.dsk - koeficijent diskriminacije; hol-U-ukupni holesterol; TG-trigliceridi; HDL- lipoproteini velike gustine; LDL-lipoproteini male gustine; IA (Indeks ateroskleroze)-LDL/HDL; RF-Holesterol/HDL

Korelaciona analiza povezanosti MEHP-a sa lipidima i lipoproteinima seruma sprovedena kod MEHP pozitivnih kontrolne podgrupe je ukazala na statistički značajnu negativnu korelaciju sa HDL holesterolom ( $R=-0.729$ ;  $p=0.001$ ), nije ukazala na statistički značajnu povezanost sa ukupnim holesterolom, trigliceridima, LDL holesterolom, IA i RF (Tabela 73).

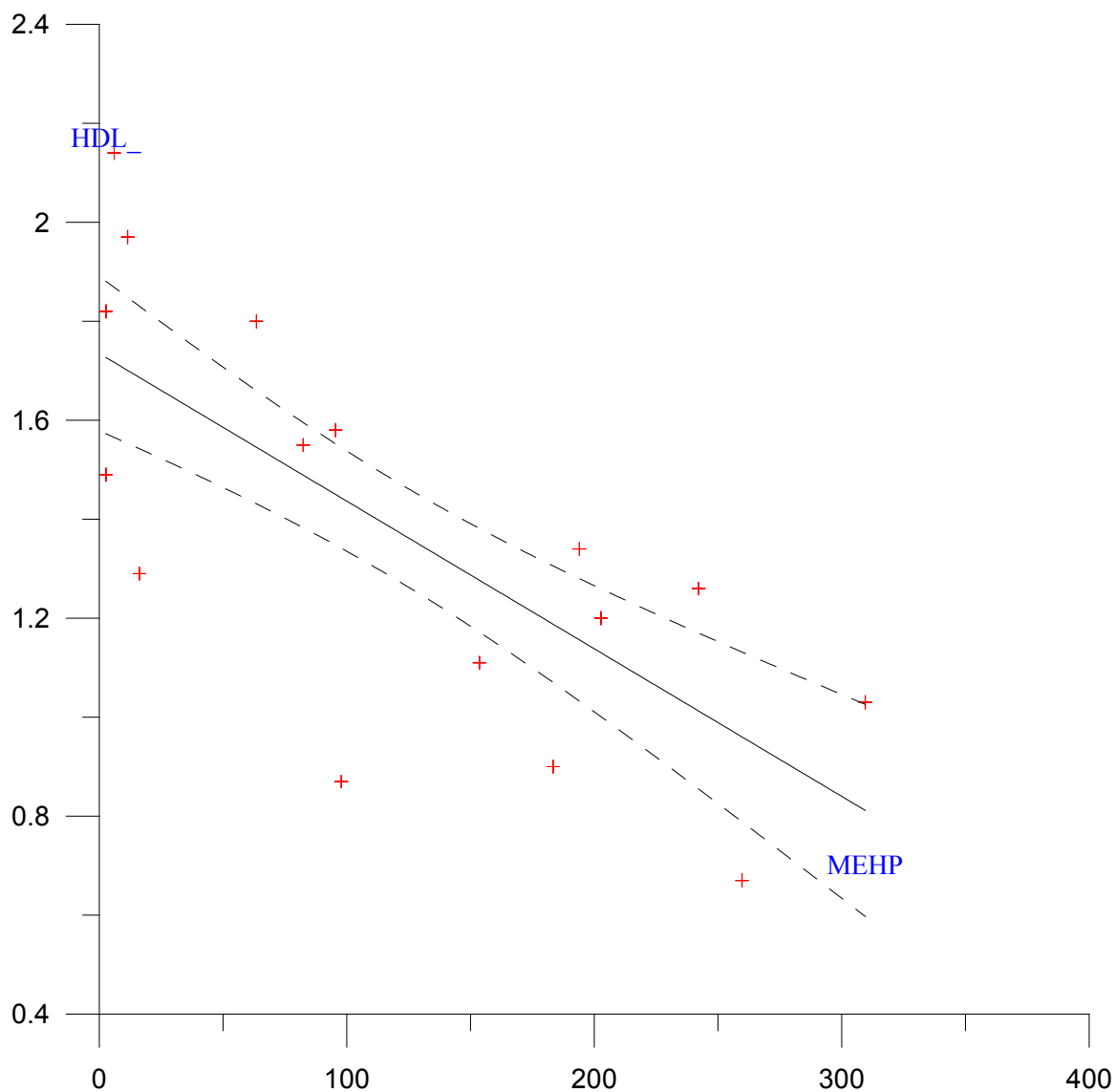
Tabela 73. Povezanost MEHP-a u kontrolnoj podgrupi sa lipidima i lipoproteinima seruma

Lipidi i lipoproteini	R	p
hol-U	.081	.494
TG	.089	.483
<b>HDL</b>	<b>-.729</b>	<b>.001</b>
LDL	-.007	.979
IA	.234	.549
RF	.200	.937

*Legenda:* hol-U-ukupni holesterol; TG-trigliceridi; HDL- lipoproteini velike gustine; LDL-lipoproteini male gustine; IA (Indeks ateroskleroze)-LDL/HDL; RF- Holesterol/HDL

Primenom metode linearne regresije uočena je statistički značajna negativna korelacija MEHP-a i HDL holesterola u kontrolnoj grupi MEHP pozitivnih ispitanika (  $r = -0.7288$ ,  $p=0.0003$ ) (Grafikon 6).

**Grafikon 6.** Grafički prikaz linearne regresije između vrednosti MEHP-a i HDL holesterola u podgrupi MEHP pozitivnih ispitanika kontrolne grupe



*Legenda:* MEHP-mono 2-etilheksil-ftalat; HDL- lipoproteini velike gustine

MEHP (µg/l): HDL (mmol/l): $y = -.0030x + 1.7348$ $r = -.7288, p = .0003$
--

## 6.5. Povezanost između MEP i MEHP i parametara glikoregulacije

### 6.5.1. Glikoregulacija i MEP

#### 6.5.1.1. Povezanost MEP-a sa glikemijom, insulinemijom i insulinskom rezistencijom

Kada se analiziraju svi MEP pozitivni ispitanici korelaciona analiza je ukazala na pozitivnu korelaciju između MEP-a i parametara glikoregulacije (Tabela 74). Međutim, ova korelacija je bila statistički značajna samo za MEP i HOMA-IRI ( $R=0.124$ ,  $p=0.099$ ).

Tabela 74. Povezanost MEP-a sa parametrima glikoregulacije

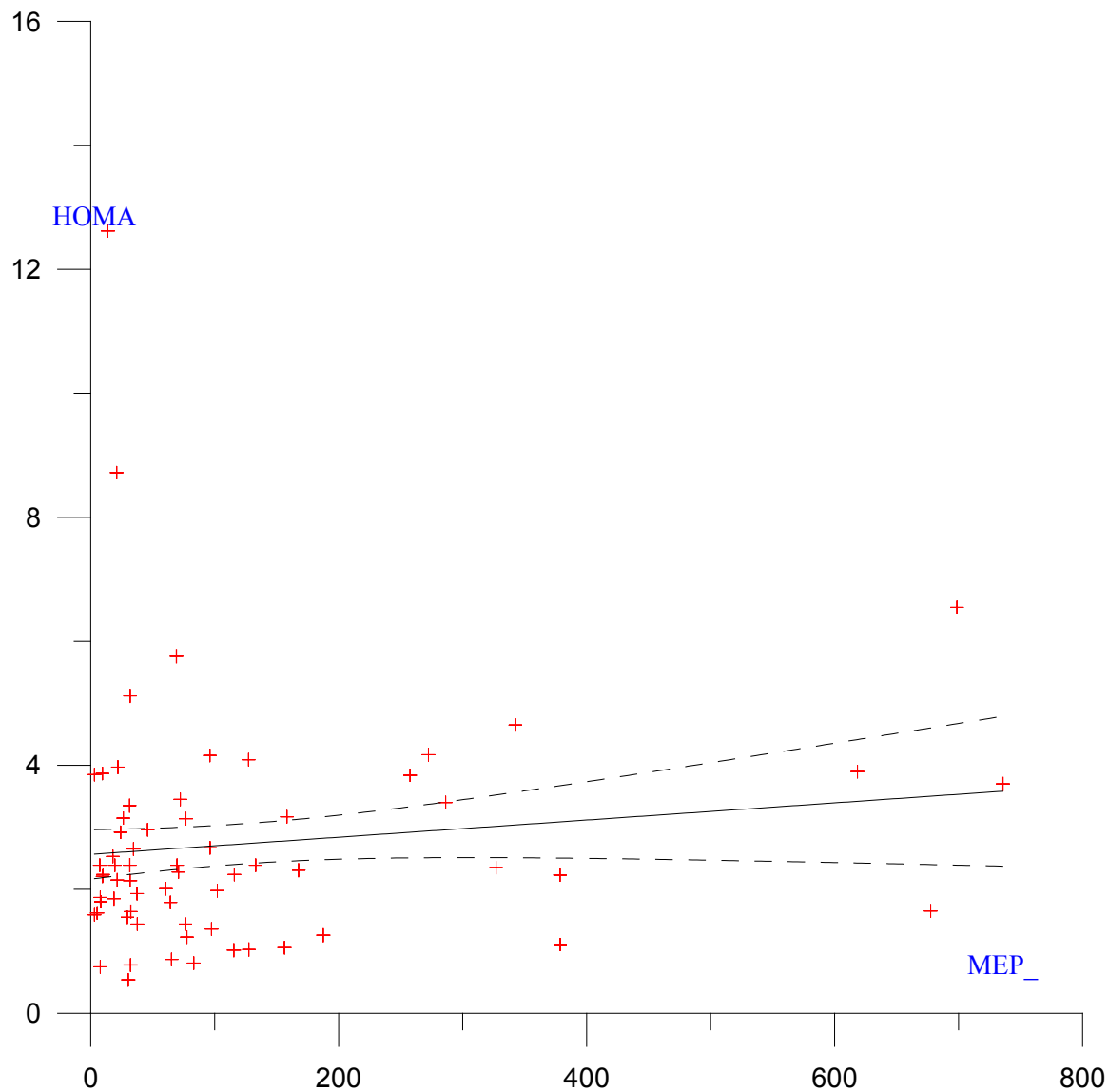
Parametri glikoregulacije	R	p
Glikemija	.090	.446
IRI	.053	.139
HOMA-IRI	.124	.099

Legenda: IRI- insulinemija;

HOMA IRI-homeostasis model assesment of insuline resistance

Primenom metode linearne regresije uočena je pozitivna korelacija MEP-a i HOMA-IRI kod svih MEP pozitivnih ispitanika, ali korelacija nije dostigla nivo signifikantne značajnosti ( $r = 0.1243$ ,  $p=0.3717$ ) (Grafikon 7).

Grafikon 7. Grafički prikaz linearne regresije između vrednosti MEP-a i HOMA-IRI kod svih MEP pozitivnih ispitanika



Legenda: MEP-mono-etil-ftalat

HOMA-HOMA-IRI

MEP (µg/l): HOMA-IRI: $y = .0014x + 2.5640$ $r = .1243$ , $p = .3717$
--

Postojala je statistički značajna razlika između podgrupa MEP pozitivnih ispitanika za glikemiju (0.000), insulinemiju (0.000) i HOMA-IRI (0.002) (Tabela 75).

Tabela 75. Značajnost razlika u odnosu na parametre glikoregulacije u podgrupama MEP pozitivnih ispitanika

Parametri Glikoregulacije	F	p	k.dsk
Glikemija	15.450	.000	.083
IRI	10.547	.000	.290
HOMA-IRI	6.632	.002	.197

*Legenda:* k.dsk - koeficijent diskriminacije;

IRI- insulinemija;

HOMA IRI-homeostasis model assesment of insuline resistance

Diskriminativna analiza ( $p=0.000$ ) je ukazala na jasno definisanu granicu prema vrednostima parametara glikoregulacije između podgrupa MEP pozitivnih ispitanika, odnosno moguće je odrediti karakteristike svake podgrupe u odnosu na parametre glikoregulacije. Gojazni MEP pozitivni ispitanici u odnosu na MEP pozitivne ispitanike kontrolne grupe su imali statistički značajno veće vrednosti insulinemije ( $p=0.043$ ) i HOMA-IRI ( $p=0.061$ ), dok se nisu statistički značajno razlikovali po vrednostima glikemije ( $p=0.147$ ). MEP pozitivni ispitanici s DM tip 2 su u odnosu na MEP pozitivne ispitanike kontrolne grupe imali statistički značajno veće vrednosti glikemije ( $p=0.09$ ) i HOMA-IRI ( $p=0.047$ ), dok nije uočena statistički značajna razlika u odnosu na nivoe insulinemije ( $p=0.280$ ). Gojazni MEP pozitivni ispitanici u odnosu na MEP pozitivne ispitanike s DM tip 2 su imali statistički značajno veće vrednosti insulinemije ( $p=0.007$ ), statistički značajno manje vrednosti glikemije ( $p=0.043$ ), dok se nisu statistički značajno razlikovali po HOMA-IRI ( $p=0.29$ ) (Tabela 76).



Tabela 76. Karakteristike i homogenost podgrupa MEP pozitivnih ispitanika prema parametrima glikoregulacije

Parametri Glikoregulacije	MEP pozitivni Gojazni	MEP pozitivni DM tip 2	MEP pozitivni Kontrolna grupa	dpr %
IRI	veće* <sup>2</sup>	manje	umerene	50.877
HOMA-IRI	veće* <sup>1</sup>	umerene* <sup>1</sup>	manje	34.561
Glikemija	umerene	veće* <sup>2</sup>	manje	14.561
n/m	20/30	7/13	23/23	
%	66.67	53.85	100.00	

Legenda: \*<sup>1</sup> da se grupa statistički značajno razlikuje od jedne grupe; \*<sup>2</sup> da se grupa statistički značajno razlikuje s dve grupe; hmg – homogenost; dpr % - doprinos obeležja karakteristikama; IRI- insulinemija; HOMA IRI-homeostasis model assesment of insuline resistance

### 6.5.1.2. Analiza razlika u glikemiji, insulinemiji i insulinskoj rezistenciji između podgrupa MEP pozitivnih i MEP negativnih gojaznih ispitanika

Tabela 77. Analiza glikoregulacije kod gojaznih MEP pozitivni i MEP negativni

Grupe	Parametri Glikoregulacije	$\bar{x}$	SD	Min	Maks	CV	CI	
MEP pozitivni Gojazni ispitanici N=30	Glikemija	5.34	.54	3.9	6.4	10.14	5.14	5.54
	IRI	14.66	8.67	4.2	47.5	59.11	11.42	17.90
	HOMA-IRI	3.52	2.30	1.1	12.6	65.35	2.66	4.38
MEP negativni Gojazni ispitanici N=74	Parametri Glikoregulacija	$\bar{x}$	SD	Min	Maks	CV	CI	
	Glikemija	5.29	.58	3.2	6.3	10.98	5.16	5.43
	IRI	14.02	7.75	4.5	52.2	55.27	12.23	15.82
	HOMA-IRI	3.32	1.91	1.0	12.0	57.65	2.88	3.76

Legenda: IRI- insulinemija; HOMA IRI-homeostasis model assesment of insuline resistance

U podgrupi gojaznih MEP pozitivnih ispitanika prosečna vrednost glikemije našte bila je u referentim granicama ( $5.34 \pm 0.54$ mmo/l) kao i prosečna vrednost insulinemije ( $14.66 \pm 8.67$ u/l), dok je vrednost HOMA-IRI ( $3.52 \pm 2.30$ ) bila povišena i ukazivala na prisustvo insulinske rezistenicije. U podgrupi gojaznih MEP negativnih ispitanika prosečna vrednost glikemije našte je bila u referentim granicama ( $5.29 \pm 0.58$ mmo/l) kao i prosečna vrednost insulinemije ( $14.02 \pm 7.75$ u/l), dok je vrednost HOMA-IRI ( $3.32 \pm 1.91$ ) bila povišena i ukazivala na prisustvo insulinske rezistenicije (Tabela 77).

Nije postojala statistički značajna razlika u posmatranim parametrima glikoregulacije između podgrupa MEP pozitivnih i MEP negativnih gojaznih ispitanika (Tabela 78). Koeficijent diskriminacije upućuje da je razlika bila najveća kod insulinemije (0.091), zatim kod HOMA-IRI (0.069), a najmanja kod glikemije (0.005) (Tabela 78).

Tabela 78. Značajnost razlika između podgrupa MEP pozitivnih i MEP negativnih gojaznih isitanika u odnosu na parametre glikoregulacije

Parametri Glikoregulacije	F	p	k.dsk
IRI	.136	.713	.091
HOMA-IRI	.213	.646	.069
Glikemija	.152	.697	.005

*Legenda:* k.dsk -koeficijent diskriminacije;

IRI- insulinemija;

HOMA IRI-homeostasis model assesment of insuline resistance

**6.5.1.3. Analiza razlika u glikemiji, insulinemiji i insulinskoj rezistenciji između podgrupa MEP pozitivnih i MEP negativnih ispitanika s DM tip 2**

Tabela 79. Analiza parametara glikoregulacije kod MEP pozitivnih i MEP negativnih ispitanika s DM tip 2

Grupe	Parametri Glikoregulacije	$\bar{x}$	SD	Min	Maks	CV	CI	
MEP pozitivni DM tip 2 N=13	Glikemija	8.89	4.74	5.3	19.6	53.32	6.03	11.76
	IRI	7.31	4.02	1.0	13.0	54.97	4.88	9.74
	HOMA-IRI	2.66	1.70	.5	6.6	64.01	1.63	3.69
MEP negativni DM tip 2 N=88	Parametri Glikoregulacije	$\bar{x}$	SD	Min	Maks	CV	CI	
	Glikemija	8.65	3.81	4.4	21.9	44.09	7.84	9.46
	IRI	14.28	12.33	1.8	76.8	86.33	11.67	16.90
	HOMA-IRI	5.11	4.20	.5	25.0	82.27	4.22	5.99

Legenda: IRI- insulinemija;

HOMA IRI-homeostasis model assesment of insuline resistance

Prosečne vrednosti glikemije našte su u podgrupi MEP pozitivnih ispitanika s dijabetesom bile povišene ( $8.89 \pm 4.74 \text{ mmol/l}$ ), a prosečne vrednosti insulinemije su u referentnom opsegu ( $7.31 \pm 4.02 \text{ u/l}$ ). Prosečna vrednost HOMA-IRI ( $2.66 \pm 1.70$ ) je bila povišena i ukazivala na prisustvo insulinske rezistencije. U podgrupi MEP negativnih dijabetesnih bolesnika vrednosti glikemije su bile povišene ( $8.65 \pm 3.81 \text{ mmol/l}$ ), a prosečne vrednosti insulinemije su bile u referentnom opsegu ( $14.28 \pm 12.33 \text{ l}$ ). Prosečna vrednost HOMA-IRI ( $5.11 \pm 4.20$ ) je bila povišena i ukazivala na prisustvo insulinske rezistencije (Tabela 79).

Uočena je statistički značajna razlika između podgrupa MEP pozitivnih i MEP negativnih dijabetičkih bolesnika za insulinemiju (0.046) i insulinu rezistenciju (HOMA-IRI) (0.041), a razlika u nivou glikemije nije bila statistički značajna (Tabela 80). Koeficijent diskriminacije upućuje da je najveći doprinos diskriminaciji između podgrupa MEP pozitivnih i MEP negativnih dijabetičkih ispitanika bio kod insulinemije (IRI) (7.760), a najmanji kod insulinske rezistencije (HOMA-IRI) (0.004) (Tabela 80).

Tabela 80. Značajnost razlika u odnosu na parametre glikoregulacije u podgrupama MEP pozitivnih i MEP negativnih ispitanika s DM tip 2

Parametri Glikoregulacije	F	p	k.dsk
Glikemija	.043	.837	1.199
IRI	4.066	.046	7.760
HOMA-IRI	4.268	.041	.004

*Legenda:* k.dsk - koeficijent diskriminacije;

IRI- insulinemija;

HOMA IRI-homeostasis model assesment of insuline resistance

Diskriminativna analiza ( $p=0.000$ ) je ukazala na jasno definisanu granicu između podgrupa MEP pozitivnih i MEP negativnih dijabetičkih ispitanika, odnosno moguće je odrediti karakteristike svake podgrupe. Ispitanici s DM tip 2 MEP negativni su imali statistički značajno veće vrednosti insulinemije ( $p=0.043$ ) i HOMA-IRI ( $p=0.037$ ) od podgrupe DM tip 2 MEP pozitivnih, dok nije uočena statistički značajna razlika u odnosu na glikemiju između navedenih podgupa (Tabela 81).

Tabela 81. Karakteristike i homogenost podgrupa MEP pozitivnih i MEP negativnih ispitanika s DM tip 2 u odnosu na parametre glikoregulacije

Parametri Glikoregulacije	MEP<LOQ	MEP≥LOQ	dpr %
IRI	veće* <sup>1</sup>	manje	77.654
Glikemija	manje	veće	11.998
HOMA-IRI	veće* <sup>1</sup>	manje	.040
n/m	71/88	8/13	
%	80.68	61.54	

Legenda: \*<sup>1</sup> da se grupa statistički značajno razlikuje od jedne grupe

hmg –homogenost

dpr % - doprinos obeležja karakteristikama

IRI- insulin

HOMA IRI-homeostasis model assesment of insuline resistance

LOQ-limit kvantifikacije

Kada se analiziraju MEP pozitivni dijabetesni ispitanici korelaciona analiza je ukazala na pozitivnu korelaciju između MEP-a i parametara glikoregulacije (Tabela 82 ). Međutim, ova korelacija je bila statistički značajna samo za MEP i HOMA- IRI (R= 0.643, p=0.018)

Tabela 82. Povezanost MEP-a kod DM tip 2 sa parametrima glikoregulacije

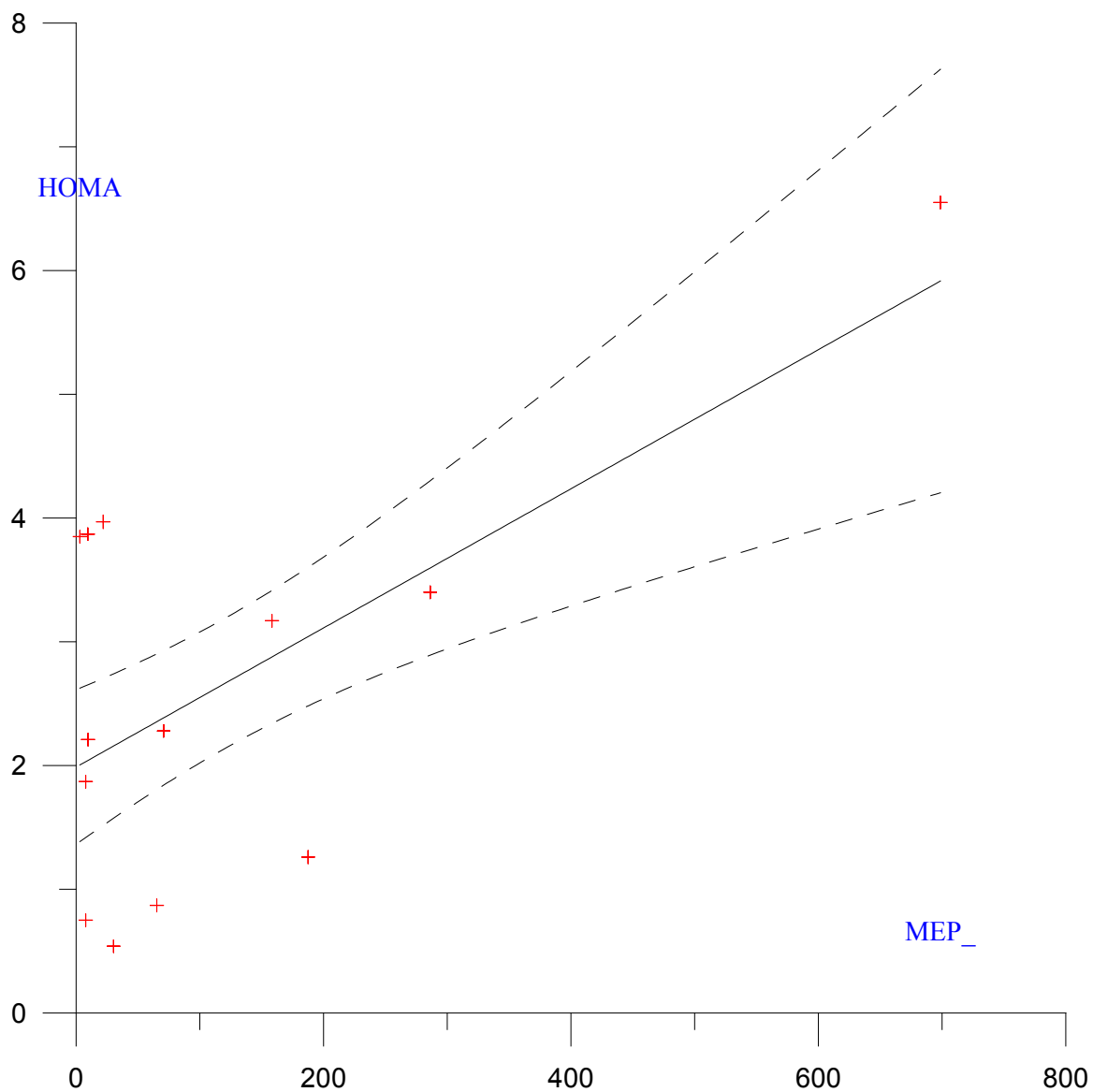
Parametri glikoregulacije	R	p
Glikemija	.242	.426
IRI	.323	.282
HOMA-IRI	.643	.018

Legenda:IRI- insulinemija

HOMA IRI-homeostasis model assesment of insuline resistance

Primenom metode linearne regresije uočena je statistički značajna pozitivna korelacija MEP-a i HOMA-IRI kod MEP pozitivnih dijabetesnih ispitanika ( r = 0.6426, p=0.0080 (Grafikon 8).

Grafikon 8. Grafički prikaz linearne regresije između vrednosti MEP-a i HOMA-IRI kod MEP pozitivnih DM tip 2



Legenda: MEP-mono-etil-ftalat

HOMA-HOMA-IRI

MEP (µg/l): HOMA-IRI:  $y = .0056x + 1.9876$   $r = .6426$ ,  
 $p = .0080$

**6.5.1.4. Analiza razlika u nivou glikemije, insulinemije i insulinskoj rezistenciji između podgrupa MEP pozitivnih i MEP negativnih ispitanika kontrolne grupe**

Tabela 83. Analiza parametara glikoregulacije MEP pozitivnih i MEP negativnih ispitanika kontrolne grupe

Grupe	Parametri glikoregulacije	$\bar{x}$	SD	Min	Maks	CV	CI	
MEP pozitivni Kontrolna grupa N=23	Glikemija	5.13	.50	4.4	6.3	9.75	4.91	5.34
	IRI	7.64	2.35	3.4	10.4	30.71	6.63	8.66
	HOMA-IRI	1.75	.57	.8	2.4	32.91	1.50	1.99
MEP negativni Kontrolna grupa N=77	Parametri glikoregulacije	$\bar{x}$	SD	Min	Maks	CV	CI	
	Glikemija	5.05	.50	3.2	6.3	9.81	4.94	5.17
	IRI	6.91	2.29	2.1	10.5	33.15	6.39	7.43
	HOMA-IRI	1.57	.57	.4	2.4	36.50	1.44	1.70

*Legenda:* IRI- insulinemija

HOMA IRI-homeostasis model assesment of insuline resistance

Prosečne vrednosti svih praćenih parametara glikoregulacije u podgrupi MEP pozitivnih ispitanika kontrolne grupe su bile u granicama referentnih vrednosti: glikemije našte ( $5.13 \pm 0.50 \text{ mmol/l}$ ), insulinemije ( $7.64 \pm 2.35 \text{ u/l}$ ) i vrednosti HOMA-IRI ( $1.75 \pm 0.57$ ), kao i u kontrolnoj podgrupi MEP negativnih: glikemije našte ( $5.05 \pm 0.50 \text{ mmol/l}$ ), insulinemije ( $6.91 \pm 2.29 \text{ u/l}$ ) i vrednosti HOMA-IRI ( $1.57 \pm 0.57$ ) (Tabela 83).

Nije uočena statistički značajna razlika u parametrima glikoregulacije između podgrupa MEP pozitivnih i MEP negativnih ispitanika kontrolne grupe (Tabela 84).

Tabela 84. Značajnost razlika između podgrupa MEP pozitivnih i MEP negativnih ispitanika kontrolne grupe u odnosu na parametre glikoregulacije

Parametri Glikoregulacije	F	p	k.dsk
Glikemija	.363	.548	.000
IRI	1.794	.184	.020
HOMA-IRI	1.754	.188	.180

*Legenda:* k.dsk- koeficijent diskriminacije

IRI- insulinemija

HOMA IRI-homeostasis model assesment of insuline resistance

## 6.5.2. Glikoregulacija i MEHP

### 6.5.2.1. Povezanost MEHP-a sa glikemijom, insulinemijom i insulinskom rezistencijom

Korelaciona analiza nije ukazala na statistički značajnu povezanost MEHP-a sa glikemijom ( $R=0.122$ ;  $p=0.629$ ), insulinemijom ( $R= -0.103$ ;  $p=0.729$ ) i HOMA-IRI ( $R= -0.057$ ;  $p=0.874$ ) kada su u pitanju svi ispitanici koji su imali MEHP u urinu (Tabela 85).

Tabela 85. Povezanost MEHP-a sa parametrima glikoregulacije

Parametri Glikoregulacije	R	p
Glikemija	.122	.629
IRI	-.103	.729
HOMA-IRI	-.057	.874

*Legenda:* IRI- insulinemija

HOMA IRI-homeostasis model assesment of insuline resistance



Analiza urađena u uzorku svih MEHP pozitivnih ispitanika je pokazala statistički značajnu razliku između nekih podgrupa MEHP pozitivnih ispitanika u pogledu glikemije (0.000), insulinemije (0.097) i HOMA-IRI (0.003). Koeficijent diskriminacije upućuje da je razlika najveća kod: glikemije (0.192), a najmanja insulinemije (IRI) (0.115) (Tabela 86).

Tabela 86. Značajnost razlika između podgrupa MEHP pozitivnih ispitanika prema parametrima glikoregulacije

Parametri Glikoregulacije	F	p	k.dsk
Glikemija	19.064	.000	.192
IRI	2.415	.097	.115
HOMA-IR	6.231	.003	.125

*Legenda:* k.dsk - koeficijent diskriminacije

IRI- insulinemija

HOMA IRI-homeostasis model assesment of insuline resistance

Diskriminativna analiza ( $p=0.000$ ) je pokazala da je postojala jasno definisana granica prema parametrima glikoregulacije između podgrupa MEHP pozitivnih ispitanika.

Gojazni MEHP pozitivni ispitanici u odnosu na MEHP pozitivne ispitanike kontrolne grupe su imali statistički značajno veće vrednosti glikemije ( $p=0.041$ ), HOMA-IRI ( $p=0.039$ ) i insulinemije ( $p=0.047$ ). MEHP pozitivni ispitanici s DM tip 2 u odnosu na MEHP pozitivne ispitanike kontrolne grupe su imali statistički značajno veće vrednosti glikemije ( $p=0.021$ ), insulinemije ( $p=0.047$ ) HOMA-IRI ( $p=0.032$ ). MEHP pozitivni dijabetesni ispitanici u odnosu na gojazne MEHP pozitivne ispitanike su imali statistički značajno veće vrednosti glikemije ( $p=0.046$ ) i HOMA-IRI ( $p=0.050$ ), dok se nisu statistički značajno razlikovali po insulinemiji (Tabela 87).

Tabela 87. Karakteristike i homogenost podgrupa MEHP pozitivnih ispitanika u odnosu na parametre glikoregulacije

Parametri Glikoregulacije	MEHP pozitivni Gojazni	MEHP pozitivni DM tip-2	MEHP pozitivni Kontrolna grupa	dpr %
Glikemija	umerene* <sup>1</sup>	veće* <sup>2</sup>	manje	44.444
HOMA-IRI	umerene* <sup>1</sup>	veće* <sup>2</sup>	manje	28.935
IRI	umerene* <sup>1</sup>	veće* <sup>1</sup>	manje	26.620
n/m	20/27	15/29	16/16	
%	74.07	51.72	100.00	

Legenda: \*<sup>1</sup> da se grupa statistički značajno razlikuje od jedne grupe

\*<sup>2</sup> da se grupa statistički značajno razlikuje s dve grupe

hmg – homogenost

dpr % - doprinos obeležja karakteristikama

IRI- insulinemija

HOMA IRI-homeostasis model assesment of insuline resistance

**6.5.2.2. Analiza razlika u odnosu na glikemiju, insulinemiju i insulinsku rezistenciju između podgrupa MEHP pozitivnih i MEHP negativnih gojaznih ispitanika**

Tabela 88. Parametri glikoregulacije kod MEHP pozitivnih i MEHP negativnih gojaznih ispitanika

Grupe	Parametri Glikoregulacije	$\bar{x}$	SD	Min	Maks	CV	CI	
MEHP pozitivni Gojazni ispitanici N=27	Glikemija	5.24	.46	4.3	6.3	8.73	5.06	5.43
	IRI	12.59	6.08	4.5	25.1	48.33	10.18	15.00
	HOMA-IRI	2.95	1.48	1.0	6.0	50.31	2.36	3.54
MEHP negativni Gojazni ispitanici N=77		$\bar{x}$	SD	Min	Maks	CV	CI	
	Glikemija	5.33	.60	3.2	6.4	11.31	5.19	5.47
	IRI	14.77	8.52	4.2	52.2	57.65	12.84	16.70
	HOMA-IRI	3.53	2.17	1.1	12.6	61.51	3.04	4.02

*Legenda:* IRI- insulinemija; HOMA IRI-homeostasis model assesment of insuline resistance

U podgrupi MEHP pozitivnih gojaznih ispitanika prosečna vrednost glikemije naše bila je u referentim granicama ( $5.24 \pm 0.46 \text{ mmol/l}$ ) kao i prosečna vrednost insulinemije ( $12.59 \pm 6.08 \text{ u/l}$ ), dok je vrednost HOMA-IRI ( $2.8 \pm 1.48$ ) bila povišena i ukazivala na prisustvo insulinske rezistencije. U podgrupi MEHP negativnih gojaznih ispitanika prosečna vrednost glikemije naše je bila u referentim granicama ( $5.33 \pm 0.60 \text{ mmol/l}$ ) kao i prosečna vrednost insulinemije ( $14.77 \pm 8.52 \text{ u/l}$ ), dok je vrednost HOMA-IRI ( $3.53 \pm 2.17$ ) bila povišena i ukazivala na prisustvo insulinske rezistencije (Tabela 88). Nije postojala statistički značajna razlika u parametrima glikoregulacije između podgrupa MEHP negativnih i MEHP pozitivnih gojaznih ispitanika u pogledu glikemije, insulinemije i insulinske rezistencije (Tabela 89). Koeficijent diskriminacije upućuje da je razlika koja je postojala bila najveća kod: IRI (0.377), a najmanja kod glikemije (0.016) (Tabela 89).

Tabela 89. Značajnost razlika u parametrima glikoregulacije između podgrupa MEHP pozitivnih i MEHP negativnih gojaznih ispitanika

Parametri Glikoregulacije	F	p	k.dsk
Glikemija	.436	.511	.016
IRI	1.500	.223	.377
HOMA-IRI	1.648	.202	.303

Legenda: k.dsk - koeficijent diskriminacije

IRI- insulinemija

HOMA IRI-homeostasis model assesment of insuline resistance

### 6.5.2.3. Analiza razlika u odnosu na glikemiju, insulinemiju i insulinsku rezistenciju između podgrupa MEHP pozitivnih i MEHP negativnih ispitanika s DM tip 2

Tabela 90. Parametri glikoregulacije kod MEHP pozitivnih i MEHP negativnih ispitanika s DM tip 2

Grupe	Parametri Glikoregulacije	$\bar{x}$	SD	Min	Maks	CV	CI	
MEHP pozitivni DM tip 2 N=29	Glikemija	9.06	4.11	5.3	20.3	45.40	7.49	10.62
	IRI	14.35	15.56	1.0	76.8	108.45	8.43	20.26
	HOMA-IRI	5.30	5.41	.5	25.0	102.13	3.24	7.36
MEHP negativni DM tip 2 N=72	Parametri Glikoregulacije	$\bar{x}$	SD	Min	Maks	CV	CI	
	Glikemija	8.53	3.86	4.4	21.9	45.23	7.62	9.43
	IRI	13.00	10.04	2.3	52.2	77.24	10.64	15.36
	HOMA-IRI	4.59	3.37	.5	18.4	73.49	3.79	5.38

Legenda: IRI- insulinemija

HOMA IRI-homeostasis model assesment of insuline resistance

Prosečne vrednosti glikemije naše su u podgrupi MEHP pozitivnih dijabetesnih bolesnika bile povišene ( $9.06 \pm 4.11$  mmol/l), a prosečne vrednosti insulinemije su u referentnom opsegu ( $14.35 \pm 15.56$  u/l). Prosečna vrednost HOMA-IRI ( $5.30 \pm 5.41$ ) je bila povišena i ukazivala na prisustvo insulinske rezistencije. Prosečne vrednosti glikemije naše su u podgrupi MEHP negativnih dijabetesnih bolesnika takođe bile povišene ( $8.53 \pm 3.86$  mmol/l), a prosečne vrednosti insulinemije su u referentnom opsegu ( $13.00 \pm 10.04$  u/l). Prosečna vrednost HOMA-IRI ( $4.59 \pm 3.37$ ) je bila povišena i ukazivala na prisustvo insulinske rezistencije (Tabela 90).

Nije postojala statistički značajna razlika u parametrima glikoregulacije između podgrupa MEHP pozitivnih i MEHP negativnih dijabetesnih bolesnika. Koeficijent diskriminacije ukazuje da je razlika koja je postojala bila najveća kod: IRI (1.243), a najmanja kod HOMA-IRI (0.009) (Tabela 91).

Tabela 91. Značajnost razlika u odnosu na parametre glikoregulacije između podgrupa MEHP pozitivnih i MEHP negativnih ispitanika s DM tip 2

Parametri Glikoregulacije	F	p	k.dsk
Glikemija	.380	.539	.127
IRI	.266	.607	1.243
HOMA-IRI	.643	.424	.009

*Legenda:* k.dsk- koeficijent diskriminacije

IRI- insulinemija

HOMA IRI-homeostasis model assesment of insuline resistance

Korelaciona analiza je ukazala na statistički značajnu pozitivnu korelaciju MEHP-a sa glikemijom ( $R= 0.404$ ;  $p=0.030$ ) kada su u pitanju MEHP pozitivni sa DM tip 2. Za ostale parametere glikoregulacije korelacije nisu bile značajne (Tabela 92).

Tabela 92. Povezanost MEHP-a kod dijabetesnih bolesnika sa parametrima glikoregulacije

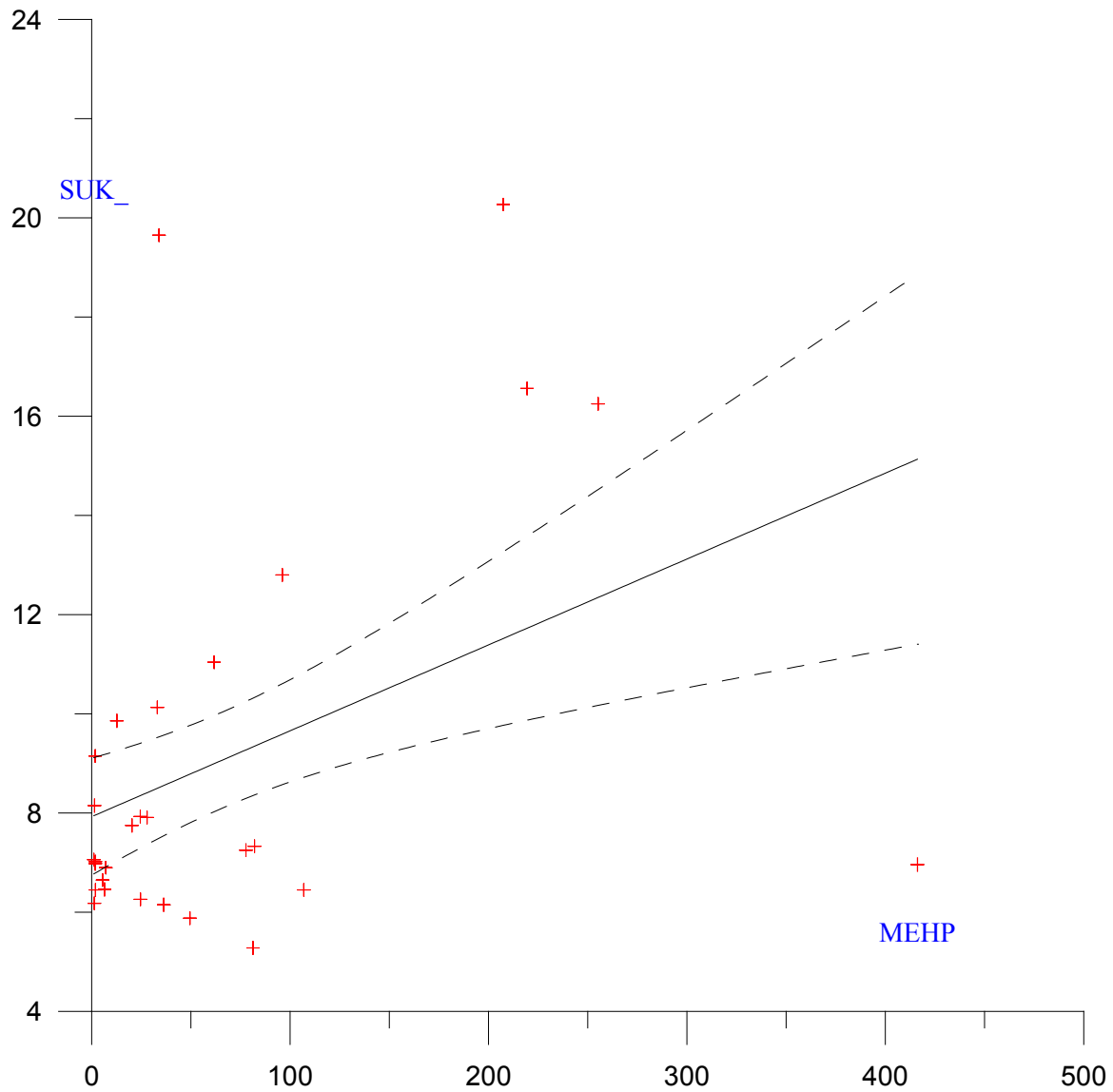
Parametri Glikoregulacije	R	p
Glikemija	.404	.030
IRI	-.123	.525
HOMA-IRI	.011	.955

*Legenda:* IRI- insulinemija

HOMA IRI-homeostasis model assesment of insuline resistance

Primenom metode linearne regresije uočena je statistički značajna pozitivna korelacija MEHP-a i glikemije kod MEHP pozitivnih dijabetesnih ispitanika ( $r = 0.4041$ ,  $p=0.0117$ ) (Grafikon 9).

Grafikon 9. Grafički prikaz linearne regresije između vrednosti MEHP-a i glikemije kod MEHP pozitivnih DM tip 2



Legenda: MEHP-mono-2-etilheksil-ftalat; SUK-glikemija

MEHP (µg/l): glikemija (mmol/l):	$y = 0.0173x + 7.9262$
$r = 0.4041, p = 0.0117$	

**6.5.2.4. Analiza razlika u odnosu na glikemiju, insulinemiju i insulinsku rezistenciju između podgrupa MEHP pozitivnih i MEHP negativnih ispitanika kontrolne grupe**

Tabela 93. Parametri glikoregulacije kod MEHP pozitivnih i MEHP negativnih ispitanika kontrolne grupe

Grupe	Parametri Glikoregulacije	$\bar{x}$	SD	Min	Maks	CV	CI	
MEHP pozitivni Kontrolna grupa N=16	Glikemija	4.98	.38	4.1	5.5	7.64	4.78	5.18
	IRI	7.12	2.73	2.1	10.1	38.32	5.66	8.57
	HOMA-IRI	1.59	.66	.4	2.4	41.28	1.24	1.94
MEHP negativni Kontrolna grupa N=84	Parametri Glikoregulacije	$\bar{x}$	SD	Min	Maks	CV	CI	
	Glikemija	5.09	.51	3.2	6.3	10.10	4.98	5.20
	IRI	7.07	2.24	2.6	10.5	31.73	6.58	7.56
	HOMA-IRI	1.61	.56	.5	2.4	34.88	1.49	1.73

*Legenda:* IRI- insulinemija

HOMA IRI-homeostasis model assesment of insuline resistance



Prosečne vrednosti svih praćenih parametara glikoregulacije u podgrupi MEHP pozitivnih ispitanika kontrolne grupe su bile u granicama referentnih vrednosti: glikemije našte ( $4.98 \pm 0.38 \text{ mmol/l}$ ), insulinemije ( $7.12 \pm 2.73 \text{ u/l}$ ) i vrednosti HOMA-IRI ( $1.59 \pm 0.66$ ), kao i u podgrupi MEHP negativnih ispitanika kontrolne grupe: glikemije našte ( $5.09 \pm 0.51 \text{ mmol/l}$ ), insulinemije ( $7.07 \pm 2.24 \text{ u/l}$ ) i vrednosti HOMA-IRI ( $1.61 \pm 0.56$ ) (Tabela 93).

Nije uočena statistički značajna razlika u parametrima glikoregulacije između podgrupa MEHP pozitivnih i MEHP negativnih ispitanika kontrolne grupe u pogledu parametara glikoregulacije (Tabela 94). Koeficijent diskriminacije upućuje da je razlika koja je postojala bila najveća kod HOMA-IRI (0.001), a najmanja kod glikemije (0.000) (Tabela 94).

Tabela 94. Značajnost razlika između podgrupa MEHP pozitivnih i MEHP negativnih ispitanika kontrolne grupe u odnosu na parametre glikoregulacije

Parametri Glikoregulacije	F	p	k.dsk
Glikemija	.661	.418	.000
IRI	.006	.941	.000
HOMA-IRI	.012	.913	.001

*Legenda:* k.dsk -koeficijent diskriminacije

IRI- insulinemija

HOMA IRI-homeostasis model assesment of insuline resistance

## 7. Diskusija

Sa industrijalizacijom, proizvodnja hemikalija i njihovo uvođenje u životnu sredinu je masovno porasla. Neke od ovih hemikalija deluju kao endokrini disruptori tako što remete endogene hormonske signalne puteve. Epidemiološke studije pokazuju povezanost između povećane izloženosti hemikalijama i razvoja nekih veoma čestih poremećaja i oboljenja savremenog sveta npr. reproduktivni poremećaji i metabolički poremećaji kao što su gojaznost i dijabetes melitus tip 2. Epidemija gojaznosti u zapadnom svetu se može objasniti načinom života, koji podrazumeva nedostatak fizičke aktivnosti i preterano konzumiranje visoko kalorične hrane. Pored toga postoji i genska komponenta u razvoju gojaznosti. U poslednje vreme postoji hipoteza da izlaganje endokrinim disruptorima u materici i kasnije, može imati ulogu u razvoju gojaznosti i bolesti povezanih sa gojaznošću [2] (B.Hamilton). Individualne razlike u metabolizmu i telesnoj kompoziciji će stvoriti značajnu varijabilnost u polu-životu i postojanosti EDCs, kao i njihovu razgradnju u telesnim tečnostima i tkivima. Osetljivost na endokrine disruptore -EDCs može da varira u skladu sa genskim polimorfizmom. Pored toga, poremećaji kod ljudi su posledica hroničnog izlaganja niskim količinama smeše EDCs. Ftalati pripadaju grupi hemijskih materija koje remete rad endokrinog sistema-endocrine disrupting chemicals (EDCs). Nalaze se u velikom broju proizvoda iz svakodnevnog života. Iako su podaci o ftalatnom izlaganju i efektima po zdravlje ljudi ograničeni i ponekad kontradiktorni, gomilaju se podaci koji ukazuju na potencijalnu ulogu ftalata u patogenezi adipogeneze i dijabetesa, glavnih epidemija savremenog sveta. Međutim, predstavnici hemijske industrije ističu da su tragovi pronađenih ftalata u većini proizvoda mali, tj.mnogo niži od nivoa koji se smatraju bezbednim određenih od strane regulatornih agencija. Ali endokrinolozi smatraju da nije sve u dozi, čak i male doze EDCs ako deluju u toku kritičnog perioda mogu dovesti do značajnih poremećaja.

## 7.1. Opšte karakteristike ispitanika

U ispitivanju je uključeno 305 osoba oba pola, životne dobi od 18 do 50 godina, koji su ispunjavali kriterijume za uključivanje u ispitivanje, sa podjednakom zastupljenosti oba pola. Prosečna životna dob gojaznih ispitanika je bila  $38.61 \pm 8.69$  godina, obolelih od DM tip 2  $46.28 \pm 6.11$  godina, a kontrolne grupe  $36.07 \pm 7.93$  godina. Gojazni ispitanici su bili statistički značajno stariji od kontrolne grupe, a oboleli od DM tip 2 su bili statistički značajno stariji i u odnosu na gojazne i kontrolnu grupu. U našem istraživanju pušenje je bilo zastupljano kod 35.7% ispitanika. I u grupi gojaznih (27,9%) i u grupi ispitanika s tipom 2 dijabetesa (37,6%) bilo je značajno manje pušača u odnosu na kontrolnu grupu (42%). Međutim, nije uočena statistički značajna razlika u navici pušenja između grupa gojazni i DM tip 2 ( $p > 0.1$ ). Prema broju pušača Srbija se visoko rangira u evropskim i svetskim razmerama. Prema podacima Svetske zdravstvene organizacije (SZO) puši 47% stanovništva Srbije, a prema istraživanju zdravlja stanovnika Srbije iz 2006. godine 33.6% [16].

Fizička aktivnost se definiše kao svaki pokret tela koji je izveden aktivacijom skeletnih mišića, a rezultira potrošnjom energije. Prema SZO fizička aktivnost obuhvata sve pokrete, tj. kretanje u svakodnevnom životu, uključujući posao, rekreaciju i sportske aktivnosti, a kategorizovan je prema nivou intenziteta od niskog, preko umerenog do visokog intenziteta (Pan American Health Organization, 2002). Tako definisana telesna aktivnost se promatra kroz četiri kategorije: a) fizička aktivnost na poslu (occupational physical activity); b) fizička aktivnost vezana za prevoz, tj. putovanje s mesta na mesto (transportation/commuting physical activity); c) fizička aktivnost u domaćinstvu (domestic and garden physical activity) i d) fizička aktivnost u slobodno vreme (leisure-time physical activity).

Razlikuju se vežbe istezanja (koje dovode do unapređenja obima pokreta), aerobno vežbanje (u cilju poboljšanja kardiorespiratorne izdržljivosti) i anaerobno vežbanje (u cilju poboljšanja mišićne snage i izdržljivosti). Prvi podaci o fizičkoj aktivnosti organizovanoj u cilju promocije zdravlja potiču iz Kine još od 2500 godine pre nove ere. Još je Hipokrat isticao da svaki telesni segment koji je fizički aktivan ostaje zdrav, razvijen i sporije stari.

Nedovoljna fizička aktivnost predstavlja faktor rizika za oboljevanje od gojaznosti, kardiovaskularnih oboljenja i malignih bolesti. Značajni zdravstveni efekti i poboljšanje kvaliteta života mogu se postići učestvovanjem u fizičkoj aktivnosti u trajanju od 30 minuta tokom barem tri dana u nedelji. Aktivan način života i svakodnevna fizička aktivnost imaju značajnu ulogu u prevenciji nastanka gojaznosti [115]. Vežbanjem se smanjuje nivo ukupnog holesterola (posebno lipoproteina male gustine), povećava koncentracija lipoproteina velike gustine i popravlja odnos dobrog i lošeg holesterola [115].

Incidenca dijabetesa tip 2 je sve učestalija i često se vezuje za istovremen porast broja gojaznih. Razlog ovakvog stanja se objašnjava sedentarnim načinom života. Sa druge strane, hodanje, vožnja bicikla i umerene dnevne aktivnosti (npr. rad u bašti) utiču pozitivno na koncentraciju glikoze, ali intenzivnije aktivnosti, kao što su trčanje, plivanje, sportske igre više i bolje utiču na kontrolu nivoa šećera u krvi [116]. Takođe, vežbanje pozitivno utiče i na osobe kojima je već dijagnostikovana ova bolest [117].

Nedovoljna fizička aktivnost je četvrti vodeći faktor rizika za mortalitet. Oko 3.2 miliona smrtnih slučajeva svake godine se pripisuje nedovoljnoj fizičkoj aktivnosti.

Ljudi koji su fizički neaktivni imaju 20% do 30% povećan rizik od svih mortaliteta u poređenu sa onima koji se bave najmanje 30 minuta umerenog intenziteta fizičke aktivnosti. Učešće 150 minuta umerene fizičke aktivnosti nedeljno procenjuje se da smanjuje rizik od ishemijske bolesti srca za oko 30%, rizik od dijabetesa za 27%. Prevalencija fizičke aktivnosti u svetu kreće se 11–24% (SZO) [118], a globalno nedovoljna fizička aktivnost u 2008.god. je bila kod 31% odraslih (28% žena i 34% muškarci). Prevalenca nedovoljne fizičke aktivnosti bila je najviše u regionu Amerike i istočnom Mediteranu, gde je oko 50% žena bilo nedovoljno aktivno, dok je prevalenca za muškarce bila 40% u Americi i 36% u istočnom Mediteranu.

U našem istraživanju *niska fizička aktivnost* je bila najviše zastupljena kod obolelih od DM tip 2 (45.54%) što je bilo statistički značajno više u odnosu na grupu *gojaznih* ( $p=0.031$ ) i *kontrolnu grupu* zdravih ( $p=0.000$ ). *Umerena fizička aktivnost* je bila najviše zastupljena u kontrolnoj grupi zdravih (37.00%) što je bilo i statistički značajno više nego kod ispitanika s DM tip 2 ( $p=0.000$ ).

Međutim razlika sa grupom gojaznih ispitanika nije bila statistički značajna ( $p > 0.1$ ). *Visoka fizička aktivnost* je bila statistički značajno više zastupljena u kontrolnoj grupi (62.00%) u odnosu na grupu gojaznih ispitanika ( $p = 0.005$ ) i ispitanika s DM tip 2 ( $p = 0.003$ ).

Iako nepravilna ishrana i nedovoljna fizička aktivnost su faktori rizika za nastanak gojaznosti i šećerne bolesti tipa 2, u poslednje vreme se sve više govori o uticaju hemijskih materija u etiologiji gojaznosti [2].

## **7.2. Analiza antropometrijskih i biohemijskih parametara**

Poređenjem grupa gojaznih i obolelih od DM tip 2 sa kontrolnom grupom u merenim antropometrijskim i biohemijskim parametrima utvrđeno je više statistički značajnih razlika, što je i očekivano.

Gojazni ispitanici su imali statistički značajno veće vrednosti obima struka ( $p = 0.01$ ) i BMI ( $p = 0.026$ ) u odnosu na kontrolnu grupu. Ispitanici sa DM tip 2 su imali statistički značajno veće vrednosti obima struka ( $p = 0.038$ ) i BMI ( $p = 0.041$ ) u odnosu na kontrolnu grupu. Gojazni su imali statistički značajno veće vrednosti obima struka ( $p = 0.047$ ) i BMI ( $p = 0.049$ ) u odnosu na dijabetesne ispitanike. Na osnovu parametara glikoregulacije može se reći da su gojazni ispitanici imali statistički značajno veće vrednosti glikemije ( $p = 0.041$ ), insulinemije ( $p = 0.047$ ) i HOMA-IRI ( $p = 0.039$ ) u odnosu na kontrolnu grupu. U odnosu na obolele od DM tip 2, gojazni su imali statistički značajno manje vrednosti glikemije ( $p = 0.046$ ) i HOMA-IRI ( $p = 0.050$ ), dok se nisu razlikovali po insulinemiji od grupe sa DM tip 2 ( $p > 0.1$ ). Oboleli od DM tip 2 su imali statistički značajno veće vrednosti glikemije ( $p = 0.021$ ), insulinemije ( $p = 0.047$ ) i HOMA-IRI ( $p = 0.032$ ) u odnosu na kontrolnu grupu.

Na osnovu vrednosti lipidskih i lipoproteinskih parametara može se reći da su gojazni ispitanici imali statistički značajno veće vrednosti triglicerida ( $p=0.034$ ), faktora rizika ( $p=0.036$ ) i indeksa ateroskleroze ( $p=0.042$ ) u odnosu na kontrolnu grupu, dok vrednosti ukupnog holesterola, LDL holesterola i HDL holesterola nisu bile statistički značajno različite ( $p>0.1$ ). Ispitanici sa DM tip 2 su imali statistički značajno veće vrednosti triglicerida ( $p=0.034$ ), ukupnog holesterola ( $p=0.033$ ), LDL holesterola ( $p=0.04$ ), faktora rizika ( $p=0.046$ ) i indeksa ateroskleroze ( $p=0.037$ ) u odnosu na kontrolnu grupu, dok su vrednosti HDL holesterola ( $p=0.036$ ) bile statistički značajno manje od kontrolne grupe. Ispitanici sa DM tip 2 u odnosu na gojazne su imali statistički značajno veće vrednosti triglicerida ( $p=0.037$ ), RF ( $p=0.034$ ), ukupnog holesterola ( $p=0.017$ ), LDL holesterola ( $p=0.048$ ) i IA ( $p=0.047$ ), dok nije uočena statistički značajna razlika u odnosu na HDL holesterol ( $p>0.1$ ). Na osnovu analize biohemijskih parametara može se reći da su gojazni imali statistički značajno veće vrednosti ALT ( $p=0.047$ ), AST ( $p=0.035$ ) i GGT ( $p=0.045$ ) u odnosu na kontrolnu grupu, dok nije uočena statistički značajna razlika po vrednosti serumskog kreatinina ( $p>0.1$ ). Ispitanici sa DM tip 2 u odnosu na kontrolnu grupu su imali statistički značajno veće vrednosti ALT ( $p=0.035$ ), AST ( $p=0.034$ ) i GGT ( $p=0.042$ ), dok nije uočena statistički značajna razlika po vrednosti serumskog kreatinina ( $p>0.1$ ). DM tip 2 u odnosu na gojazne su imali statistički značajno veće vrednosti GGT ( $p=0.040$ ) i AST ( $p=0.039$ ), dok nije uočena statistički značajna razlika po vrednosti ALT i kreatinina ( $p>0.1$ ).

Poznato je da gojaznost predstavlja nezavisni faktor rizika za razvoj tipa 2 šećerne bolesti. Postoje dokazi da visceralni tip gojaznosti predstavlja nezavisni faktor rizika za razvoj tipa 2 šećerne bolesti, nezavisno od veličine ukupne masne mase. Rizik za razvoj dijabetes melitusa tip 2 povećava se ne samo povećanjem visceralnog masnog tkiva nego i ektopičnim nakupljanjem masnog tkiva u mišićima i jetri. Lipotoksičnost je vezujući faktor između gojaznosti i tipa 2 dijabetesa. Od posebnog značaja je visceralno masno tkivo abdomena gde dolazi do intenzivnije lipolize i drenaže masnih kiselina u jetru gde dalje dolazi do promena koje dovode do značajnih izmena kardiometaboličkog profila [119]. U dijagnostici gojaznosti primenjuje se BMI koji predstavlja grub pokazatelj stepena uhranjenosti, dok tek analiza telesnog sastava otkriva pravi udeo masne mase u ukupnoj telesnoj masi.

Merenje obima struka daje predstavu o veličini abdominalnih masnih depoa i dobro korelira sa rizikom razvoja komplikacija gojaznosti. Suprotno navedenom, postoje podaci da oko 30% gojaznih ima metabolički zdrav fenotip. Ove osobe nemaju povišen metabolički rizik, jer nemaju povišene konvencionalne i nekonvencionalne faktore rizika za razvoj dijabetesa melitusa tip 2. Insulinska rezistencija je stanje ćelije, tkiva, organa, sistema ili celog organizma, u kojem je za uobičajeni odgovor, neophodna veća količina insulina. Ona se smatra sponom gojaznosti i njenih komplikacija. Insulin koordiniše deponovanje, mobilizaciju i iskorištavanje SMK i glikoze, u masnom tkivu, jetri i skeletnim mišićima. To se ostvaruje na dva načina: preko fosfatidilinozitol-3-kinaze podstiče transport glikoze, sintezu glikogena i represiju lipolize, kao i antiinflamatorne efekte. Preko mitogen-aktivirajuće protein kinaze deluje na produkciju proinflamatornih molekula i ekstracelularnog matriksa. U insulinskoj rezistenciji smanjen je efekat preko fosfatidilinozitol -3-kinaze, dok se efekti drugog puta održavaju [120]. U masnom tkivu dolazi do povećane lipolize i oslobađanja SMK. U mišićima insulinska rezistencija se odražava na smanjeno preuzimanje glikoze, što dovodi do adaptacije mišića na anareobni metabolizam. U jetri se smanjuje glikogeneza i povećava se oslobađanje glikoze, što doprinosi hiperglikemiji. Povećani priliv SMK u jetru doprinosu povećanju lipidske, a smanjenje glikozne oksidacije, a višak SMK se deponuje u hepatocitima, što dovodi do razvoja steatoze jetre. Povišen nivo SMK, uz povišen nivo insulina u plazmi, u jetri stimuliše sintezu i sekreciju TG i lipoproteina vrlo male gustine VLDL, kao i lipogenezu, tako što se povećava sinteza SMK iz glikoze. Porastom TG u cirkulaciji snižava se nivo lipoproteina velike gustine (HDL) i javljaju čestice lipoproteina male gustine (LDL). Pri spajanju VLDL sa HDL holesterol ester transfer proteinom (CETP) posreduje se prelaz esterifikovanog holesterola iz srži HDL-a u VLDL i prelaz TG iz VLDL u HDL. Tako se snižava nivo HDL-a koji više ne sadrži esterifikovani holesterol, a VLDL se obogaćuje proaterogenom komponentom holesterola. Pri spajanju VLDL sa LDL, CETP posreduje prenos TG u LDL koje zatim razgrađuju jetrena ili lipoproteinska lipaza, pa se LDL čestice smanjuju zadržavajući apolipoprotein B (ApoB) i nastaju manje LDL čestice koje su podložne oksidaciji i lako prodiru kroz intimu krvnih sudova na čemu se zasniva njihovo snažno aterogeno dejstvo. Na taj način nastaje aterogeni lipoproteinski trijas: porast TG, snižavanje HDL-a i porast LDL-a.

Povišen nivo masti doprinosi IR i na nivou adipocita, gde povećanjem obima masnih ćelija dolazi do smanjenja njihove sposobnosti da skladište lipide te se oni odlažu u mišićima i jetri,  $\beta$ -ćelijama pankreasa i visceralnom masnom tkivu čime doprinose IR u tim organima. Smatra se da SMK ne remete samo delovanje već i sekreciju insulina uzrokujući apoptozu  $\beta$ -ćelija pankreasa [121,122].

### **7.3. Prisustvo ftalatnih metabolita u urinu**

Od kasnih 1990-tih godina bilo je mnoštvo izveštaja koji pokazuju da je izloženost ftalatima u opštoj populaciji širom sveta veoma rasprostranjena [3, 4, 5]. Većina biomonitoring podataka o humanoj ekspoziciji ftalatima potiče iz studija nemačke i američke populacije. Prema raspoloživim podacima za našu zemlju do sada kod nas nije određivana humana kontaminacija ftalatima, tako da nismo u prilici da pratimo vremenski trend ekspozicije ftalatima.

U našoj studiji kod polovine ispitanika (49.5%) je registrovano prisustvo u urinu pojedinih metabolita ftalata iznad limita kvantifikacije i mi smo te urine smatrali pozitivnim. Najčešći ftalatni metaboliti kvantifikovani u urinima naših ispitanika su MEHP (23.6% ) i MEP (21.6%) dok su ostali analizirani metaboliti ftalata u malom procentu kvantifikovani tako da smo ih isključili iz dalje analize. To bi se moglo objasniti širokom upotrebom DEHP koji se nalazi u mekoj plastici, medicinskoj opremi, igračkama, posudama za čuvanje hrane, a kod nas je česta navika da se upravo namirnice čuvaju u plastičnoj ambalaži. Zastupljenost MEP-a u našem istraživanju se može objasniti činjenicom da smo svakodnevno izloženi DEP koji se nalazi u kozmetičkim preparatima i proizvodima za negu tela, industrijskim rastvaračima i u sastavu neaktivne supstance lekova i suplemenata.

MEP je bio najčešće prisutan u grupi gojaznih ispitanika (28,85%), zatim u kontrolnoj grupi (23%), a najmanje je bio prisutan u grupi bolesnika s DM tip 2 (12,87%). Razlike su bile statistički značajne između gojaznih ispitanika i ispitanika s DM tip 2 ( $p=0.005$ ) kao i između



kontrolne grupe i grupe s DM tip 2 ( $p=0.05$ ). Razlika u zastupljenosti MEP-a u gojaznih i kontrolnoj grupi nije bila statistički značajna.

MEHP je bio najčešće prisutan u grupi bolesnika sa DM tip 2 (28.7%), zatim u grupi gojaznih ispitanika (26%), a najmanje je bio prisutan u kontrolnoj grupi (16%). Postojala je statistički značajna razlika u zastupljenosti MEHP-a između gojaznih ispitanika i kontrolne grupe ( $p=0.05$ ), kao i između DM tip 2 i kontrolne grupe ( $p=0.032$ ). Razlika u zastupljenosti MEHP-a u gojaznih i grupi sa DM tip 2 nije bila statistički značajna.

Multivarijantna analiza varijanse i diskriminativna analiza potvrdile su postojanje statističke značajnosti po prisutnosti pojedinih ispitivanih metabolita ftalata u urinu, kao i da postojanju razlike najviše doprinosi: mono-etilftalat (MEP) i mono-2-etilheksilftalat (MEHP).

Najviši prosečni nivo MEP-a je bio kod gojaznih (MEP 156.47 $\mu\text{g/l}$ ), zatim obolelih od dijabetes melitusa tip 2 (MEP 119.75 $\mu\text{g/l}$ ), a najniži nivo je bio u kontrolnoj grupi (MEP 80.50 $\mu\text{g/l}$ ). To je u sve tri ispitivane grupe bio veći nivo od CDC izveštaja za američku populaciju gde je prosečni nivo MEP-a 64,4 $\mu\text{g/l}$  [123]. Visok nivo MEP-a (240  $\mu\text{g/l}$ ) je pronađen i u Švedskoj studiji na 234 muškaraca [124], a i u drugim studijama primećeno je da je najveći nivo od najčešće analiziranih metabolita ftalata upravo imamo MEP [3,5].

Najviši prosečni nivo MEHP-a je bio kod zdravih ispitanika (MEHP 120.21 $\mu\text{g/l}$ ), zatim kod gojaznih (MEHP 73.03 $\mu\text{g/l}$ ), a najniži kod obolelih od dijabetesa (MEHP 65.42 $\mu\text{g/l}$ ). On je bio veći, u sve tri ispitivane grupe od prosečnog nivoa MEHP-a u američkoj populaciji koji iznosi 1.59 $\mu\text{g/l}$  [123]. Nivo MEHP-a u našem istraživanju je bio znatno viši nego u drugim studijama [3,5].

Multivarijantna analiza varijanse i diskriminativna analiza nisu potvrdile postojanje statistički signifikantne razlike između grupa po nivoima MEP-a i MEHP-a. Ovakav rezultat je najverovatnije posledica malog uzorka, određivanja ftalatnih metabolita iz samo jednog uzorka urina, ali bi moglo odgovarati i činjenici da smo svi u svakodnevnom životu izloženi ftalatima.

Međutim, računanjem Mahalanobisove distance uočavamo sličnost između pojedinih grupa. Najsličniji po vrednostima MEP-a su bili gojazni i oboleli od DM tip 2 (0.22), a najveća razlika je između gojaznih i kontrolne grupe (0.44).

Najsličniji po srednjim vrednostima nivoa MEHP-a su bili gojazni i oboleli od DM tip 2 (0.08), a najveća razlika je između DM tip 2 i kontrolne grupe (0.59).

Blount i saradnici (2000.) su u svojim rezultatima prikazali visok nivo MEP-a (95.P 2610 $\mu$ g/g kreatinina u urinu; srednja vrednost 345ng/ml urina), MnBP (95.P 162 $\mu$ g/g kreatinina u urinu, srednja vrednost 41.5ng/ml urina) i MBzP (95.P 92 $\mu$ g/g kreatinina u urinu; srednja vrednost 22.6ng/ml urina), dok urinarni nivoi MEHP bili su mnogo niži (95.P 15.2  $\mu$ g/g kreatinina u urinu, srednja vrednost 3.5ng/ml urina) [3]. Studija je obuhvatila 289 odraslih osoba, od 1988.-1994. godine, a žene u reproduktivnom periodu (od 20-40 godina) su imale statistički značajno veći nivo MnBP.

Silva i saradnici su objavili rezultate 2004. godine u *Environmental Health Perspectives*, koristeći podatke NHANES studije od 1999-2000. godine na uzorku od 2540 ispitanika uzrasta od 6-80 godina (6-11 godina deca, 12-19 adolescenti,  $\geq$ 20 odrasli). Merili su urinarne nivoe monoestera ftalata od sedam najčešće korištenih ftalata. Pronašli su detektabilne nivoe sledećih metabolita: MEP (179 $\mu$ g/l), MBP (24.6 $\mu$ g/l), MBzP (15.3 $\mu$ g/l) u >97% ispitanika, a MEHP (3.43 $\mu$ g/l) u >75% uzoraka, što ukazuje na rasprostranjenu ekspoziciju u SAD-u DEP, DBP, BBzP i DEHP. Retko su detektovali MiNP, MOP, MCHP, sugerišući da je ljudska izloženost DINP, DOP i DCHP niža, ili farmakokinetički faktori kao što su apsorpcija, distribucija, metabolizam i eliminacija su različiti. Limit detekcije (LOD) za pojedine metabolite ftalata je bio sledeći: MEP 1.0 $\mu$ g/l, MBP 0.6 $\mu$ g/l, MBzP 0.8 $\mu$ g/l, MEHP 1.2 $\mu$ g/l, MCHP 0.7 $\mu$ g/l, MOP 0.9 $\mu$ g/l, MiNP 0.8 $\mu$ g/l. U poređenju sa adolescentima i odraslim, deca su imala značajno viši nivo MBP (52.2 $\mu$ g/l), MBzP(51.5 $\mu$ g/l) i MEHP (5.3 $\mu$ g/l), ali su imali značajno niži nivo MEP (105.2 $\mu$ g/l). Žene su imale značajno veće koncentracije MEP (194.4 $\mu$ g/l vs. 152.6 $\mu$ g/l) i MBzP (16.9 $\mu$ g/l vs. 13.5 $\mu$ g/l) nego muškarci, a slične nivoe MEHP (3.5 $\mu$ g/l vs. 3.2 $\mu$ g/l). Od posebnog značaja je da su žene svih uzrasta imale značajno veće koncentracije reproduktivno toksičnog MBP (29.8 $\mu$ g/l) nego muškarci svih uzrasta (18.5 $\mu$ g/l) [5].

U rezultatima Stahlhut i saradnika (2007.) publikovanim u *Environmental Health Perspectives* [10], a upotrebljavani su podaci iz *National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES) od 1999.-2002. godine na američkim muškarcima starijim od 20 godina, kod > 95% ispitanika detektovani su ftalatni metaboliti  $\geq$  LOD (MEP, MBP, MBzP, MEHHP,

MEOHP), osim MEHP gde je 80% ispitanika imalo  $\geq$ LOD, a MiNP je eliminisan iz daljeg razmatranja jer je njegova koncentracija bila  $<$ LOD u  $>$  75% ispitanika.

Takođe je primećeno da je najveći nivo imao MEP (771 $\pm$ 66.7  $\mu$ g/g kreatinina), zatim MEHHP (65.8 $\pm$ 7.9  $\mu$ g/g kreatinina), MEOHP (38.7 $\pm$ 4.5  $\mu$ g/g kreatinina), MBP (33.8 $\pm$ 1.6  $\mu$ g/g kreatinina), MBzP (29.4 $\pm$ 2.7  $\mu$ g/g kreatinina), a najniži nivo je imao MEHP (11 $\pm$ 1.3  $\mu$ g/g kreatinina). Isto istraživanje je pokazalo i rasnu razliku, crnci su imali viši nivo izloženosti od belaca i meksičkih Amerikanaca za sve ftalatne metabolite, a meksički Amerikanci su imali nešto viši nivo od belaca za MBP, MEP i MEHP.

Slični rezultati su dobijeni i u drugim populacionim studijama. Hoppin i saradnici (2002.) [125] su procenjivali vremensku varijabilnost u koncentracijama ftalatnih metabolita u urinu u dva uzastopna uzorka prvog jutarnjeg urina, na uzorku od 46 Afro-Američkih žena u Vašingtonu tokom 1996-1997.godine. Najčešće detektovani su bili MEP, MBzP, MBP i MEHP. Medijana koncentracije MEP (211ng/ml), MBP (52ng/ml), MBzP (31ng/ml) i MEHP (7.3ng/ml) je bila slična rezultatima drugih studija koje su koristile prvi jutarnji urin. Nivo ftalata nije se razlikovao između dva uzorka urina. Ovi rezultati ukazuju da čak i za ftalate sa kratkim vremenom poluraspada, može biti dovoljan prvi jutarnji urin za merenje nivoa izloženosti kod žena.

U izveštaju Centra za kontrolu bolesti i prevenciju [43] (*Centers for Disease Control and Prevention-CDC*) o izloženosti ftalatima, najviši nivo je imao MEP, što odgovara i rezultatima našeg istraživanja. Ovaj Četvrti Nacionalni izveštaj o izloženosti ljudi hemikalijama životne sredine ažuriran je sa novim podacima septembra meseca 2013.godine (*Fourth National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals-Updated Tables, September 2013*) [123] i pruža potpune podatke o biomonitoringu američke populacije. Ažurirano je 201 hemikalija, podaci o 49 hemikalija su dodati, a analizirano je 15 metabolita ftalata u urinu: MBzP, MiBP, MnBP, MCHP, MEP, MEHP, MEHHP, MEHOP, MECPP, MCHP, MiNP, MCOP, MMP, MCPP, MOP. Od svih metabolita ftalata u urinu najviši nivo je imao MEP (64,4 $\mu$ g/l), s tim što su ispitanici stariji od 20 godina imali najviši nivo MEP-a (69.0 $\mu$ g/l), a žene su imale viši nivo MEP-a od muškaraca (67.8 $\mu$ g/l vs. 61.0 $\mu$ g/l). Prema istom istraživanju najniži nivo je imao MEHP 1.59 $\mu$ g/l, najviši nivo u uzrastu od 12-19 godina (1.82 $\mu$ g/L), a muškarci su imali viši nivo

od žena (1.82 $\mu$ g/l vs. 1.39 $\mu$ g/l). Veći novo MEP-a kod žena može se objasniti većom upotrebom proizvoda za negu tela i kozmetičkih sredstava koja sadrže DEP.

U dve monitoring studije u Nemačkoj objavljene 2007. i 2011.godine u *International Journal of Hygiene and Environmental Health* [126,127] na preko 800 ispitanika u 24h-urinu analizirane su koncentracije primarnih i/ili sekundarnih metabolita ftalata: DEHP, BBzP, DiBP, DnBP i DINP. Studenti uzrasta od 20-29 godina sa davali uzorke urina između 1988. i 2008. godine. Prva serija uzorkovanja urina je obuhvatila 1988, 1989, 1991, 1993, 1996, 1998, 1999, 2001, i 2003. a druga serija je obuhvatila uzorkovanje tokom 2002, 2004, 2006 i 2008. Metaboliti svih pet ftalata su detektovani skoro u svim uzorcima urina, što ukazuje na izloženost nemačkog stanovništva ftalatima. Ali ove studije pokazuju da je izloženost nemačke odrasle populacije smanjena tokom poslednjih 20 godina. Nivoi DEHP, BBzP i DnBP dostigli su vrhunac tokom 1990-tih godina, nakon čega dolazi do smanjenja. Nasuprot tome nivo DINP je povećan. Trend DiBP se nije menjao tokom 20 godina studijskog praćenja. Medijana dnevnog unosa u podgrupi između 1988 i 1993.godine su bile prilično konstantne za DnBP (oko 7 $\mu$ g/kgTM/D) i DEHP (oko 4 $\mu$ g/kgTM/D). Međutim, od 1996.godine su srednji nivoi oba ftalata smanjeni do 2003.godine (DnBP 1.9 $\mu$ g/kgTM/D; DEHP 2.4 $\mu$ g/kgTM/D). Nasuprot tome dnevni unos za DiBP se neznatno povećao tokom celog vremenskog okvira istraživanja (medijana 1989: 1.0 $\mu$ g/kgTM/D; medijana 2003: 1.4 $\mu$ g/kgTM/D) i približava se nivou za DnBP i DEHP. Za BBzP se primetilo malo smanjenje vrednosti, a medijana od 1998. je svedena na oko 0.2 $\mu$ g/kgTM/D. Što se tiče dnevnog izlaganja DINP primećeno je stalno povećanje vrednosti, u podskupini od 1988. srednja vrednost je 0.20 $\mu$ g/kgTM/D, a tokom 2003.godine je bila duplo veća. Trendovi uočeni u ftalatnoj izloženosti mogu biti povezani sa promenom u proizvodnji. Žene su bile izložene znato većoj dnevnoj dozi za DnBP (p=0.013) i DiBP (p=0.004). U poređenju sa NHANES studijom nivo izlaganja DiBP su generalno veći u nemačkoj nego američkoj populaciji, dok nivo BBzP su niži. Oko 14% ispitanika su imali dnevnu dozu DnBP iznad TDI definisane od strane EFSA (10 $\mu$ g/kg/d). Međutim, učestalost prekoračenja smanjena je tokom godina i bila je ispod 2% u podgrupi od 2003.godine. Međutim mora se uzeti u obzir kumulativni efekat svim izloženim ftalatima.

Rasprava o zdravstvenim rizicima koji potiču od upotrebe DEHP iz plastike počela je 1980.godine. Tada je koncentracije DEHP metabolita i dalje bila u porastu pri biomonitoringu. To je bilo sve do sredine 1990-tih godina kada je postala javna briga bezbedno korišćenje ftalata u dečijim igračkama, a nivo DEHP u uzorcima je dostigao svoj plato.

Nakon toga donešene su regulatorne mere u 1999. i 2005.godini o zabrani korišćenja DEHP u dečijim igračkama i proizvodima namenjenih deci. Do 2008.godine nivo metabolita DEHP je smanjen na polovinu do dve-trećine u odnosu na 1980 godinu.

Prema najnovijim rezultatima Zota i saradnika [128] objavljenih u *Environmental Health Perspectives 2014.godine*, dokumentovani su trendovi izlaganja ftalatima u protekloj deceniji. Istraživači su analizirali urine u više od 11000 odraslih Amerikanaca i dece između 2001. i 2010.godine. Analizirano je 11 metabolita ftalata u urini, a korišteni su podaci iz pet ciklusa NHANES studije od 2001-2010. Oni su otkrili da su ljudi i dalje široko izloženi ftalatima, a MEP, MBzP, MnBP su pronađeni u 98% testiranih ispitanika, MiBP kod 72% u 2001-2002 i 96% u 2009-2010, a MEOHP, MCPP, MCOP i MCNP (oksidisani metaboliti DEHP, DnOP, DiNP i DiDP) su detektovani kod 89%. Nivo pojedinih metabolite ftalata je smanjen i to:  $\Sigma$ DEHP za 37%, između 2001-2002 (-46%) a u periodu 2009-2010 (-26%); MEP za 42% (-49%; -34%); MnBP za 17% (-23%;- 9%), MBzP za 32% (-39%;-23%).

Međutim, porastao je nivo metabolita sledećih ftalata: DiBP (206%), DiNP (149%), DnOP (25%) i DiDP (15%) (poslednja tri su zabranjeni u SAD-u od 2008. dečijim igračkama i proizvodima koji se mogu staviti u usta). Nivo MiBP je povećan za 206% (178;236), MCPP za 25% (8;45) , MCOP za 149% (102;207) i MCNP za 15% (1;30). Trendovi variraju u zavisnosti od subpopulacije, tako da su koncentracije  $\Sigma$ DEHP metabolita, MCPP i MCNP, bile veće kod dece nego odraslih, ali je razlika između grupa smanjena tokom vremena. Takođe je primećen brži pad u koncentraciji metabolita DEP kod odraslih i adolescenata u odnosu na decu, što je verovatno posledica u različitoj upotrebi sredstava za ličnu negu. Takođe je primećen veći pad u koncentraciji DnBP i DEHP metabolita među ženama nego muškarcima, što potencijalno odražavaju razlike u izvorima izloženosti ili ponašanju. Kao što se i očekivalo primećen je pad u metabolitima onih ftalata koji su bili u fokusu zakonodavne aktivnosti, uključujući zabranu

DEHP, DnBP i BBzP u dečijim proizvodima. Međutim, zakonodavne mere u potpunosti ne objašnjavaju uočene trendove. Primećeno je najveće smanjenje koncentracije metabolita DEP (MEP), ftalata koji se koristi u mirisima, a ne podleže regulativama u SAD-u i EU.

Pored toga metaboliti DnBP, BBzP i DEHP su još otkriveni u skoro svim ispitanicima, a pad u koncentraciji DnBP je bio skroman. Dobijeni rezultati se mogu delimično objasniti kampanjom (*Campaign for Safe Cosmetics*) [129] koja je započeta 2002. godine, a koja je dokumentovana rasprostranjenim otkrivanjem DEP, DnBP, BBzP i DEHP u većini testiranih kozmetičkih proizvoda [130]. Tokom poslednje decenije kampanja je koristila strategiju za smanjenje izloženosti ftalatima od kozmetike povećanjem svesti potrošača o toksičnosti, kao i pritiskom na hemijsku industriju da obelodani hemijske sastojke u svojim proizvodima.

U metaanalizi koju su objavili Seranno i saradnici (2014) [131], a obuhvaćeno je 35 studija merenja ftalatne koncentracije u namirnicama, 3 epidemiološke i 3 intervencijske studije. Oni su analizirali grupe namirnica sa visokim sadržajem ftalata ( $\geq 300 \mu\text{g}/\text{kg}$ ) i niskim ( $< 50 \mu\text{g}/\text{kg}$ ). Visoke koncentracije DEHP pronađene su u živini, uljima, mlečnim proizvodima bogatim mastima-pavlaka. DEP su nađeni u niskim koncentracijama u ovim grupama namirnica, a u većoj količini je pronađen u povrću. U principu DiBP, DnBP, BBzP i DEHP su često otkriveni u različitim namirnicama ( $> 50\%$  uzoraka hrane detektovano je u najmanje polovini studija) dok DEP, DMP, DiOP i DIDP su imali nisko pojavljivanje (0-49% detekcije u namirnicama).

#### **7.4. Povezanost MEP-a i MEHP-a sa antropometrijskim parametrima**

##### **7.4.1. Povezanost MEP-a sa antropometrijskim parametrima**

Prevalenca gojaznosti se dramatično povećava tokom nekoliko decenija u SAD i Evropi, kao i u zemljama u razvoju. Gojaznost ima štetne efekte po ljudsko zdravlje zbog povećanog rizika od pojave metaboličkih abnormalnosti kao što su insulinska rezistencija, hiperinsulinemija, hipertenzija i dislipidemija-svih komponenti metaboličkog sindroma, koji predstavljaju glavni

faktor rizika za razvoj dijabetes melitusa tip 2 i koronarne bolesti srca. Veza između endokrinih ometača i gojaznosti ispoljava se kroz poremećaj funkcije štitaste žlezde i hormona steroidne strukture [89,90], kao i aktiviranju PPAR/gama koji ima ključnu ulogu u adipogenezi [8].

Zbog povećanog interesovanja za koncept da izloženost hemijskim materijama iz životne sredine može biti faktor koji doprinosi epidemiji gojaznosti od 11-13 januara 2011.godine Nacionalni institut za zaštitu zdravlja (NIEHS) odeljenje za Nacionalni toksikološki program (NTP) organizovao je radionicu za procenu trenutnog stanja nauke o ovim temama koje povećavaju javnu zabrinutost, analizirajući raspoložive rezultate iz epidemioloških i eksperimentalnih studija [132]. Pregledom postojeće literature identifikovana je veza između izloženosti endokrinim disruptorima i tipa 2 dijabetesa. Hemijska izloženost može povećati rizik od gojaznosti menjanjem diferencijacije adipocita ili razvojem nervnih kola koji regulišu unos hrane i potrošnje. Efekti mogu biti najočigledniji kada se razvojna izloženost kombinuje sa viškom kalorija kasnije u životu. Povezanost pojedinih ftalatnih metabolita i gojaznosti objašnjavaju mnogobrojni radovi na animalnom modelu.

U istraživanju Kwack i saradnika [133] gde su praćeni kratkoročni efekti ftalatnih diestera i monoestera na pacovima tokom dve nedelje, tretman DEP (500mg/kg/dn) i njegovim metabolitom MEP (250mg/kg/dn) nije rezultiralo statistički značajnim razlikama u odnosu na kontrolu prema vrednostima telesne mase, dok telesna masa životinja tretiranih sa DBP, DINP, BBzP, MEHP i PA (ftalna kiselina) je značajno smanjena u odnosu na kontrolu.

U našem istraživanju analizom povezanosti MEP-a, u svih ispitanika kod kojih je on bio pozitivan, sa antropometrijskim parametrima uočena je pozitivna korelacija MEP-a sa BMI ( $R=0.105$ ;  $p=0.876$ ) i obimom struka ( $R=0.119$ ;  $p=0.643$ ), ali bez statističke značajnosti. Razlog nepostojanja statističke značajnosti ove korelacije je verovatno veličina uzorka. Pozitivna korelacija MEP-a sa BMI i obimom struka pronađena je i u drugim istraživanjima [9,10]. Podaci iz epidemioloških studija potvrđuju povezanost između urinarnih nivoa ftalatnih metabolita sa gojaznošću i insulinskom rezistencijom [9,10].

Stahlhut i saradnici [10] su koristili podatke NHANES studije (*National Health and Nutrition Examination Survey*) koju su sproveli Nacionalni Centar za zdravstvenu statistiku (NCHC) i Centar za kontrolu i prevenciju bolesti (CDC) a obuhvatila je američku populaciju od 1999.- 2002. godine, a pronašli su pozitivnu vezu između koncentracije MEP, MBzP, MEHHP i MEOHP i obima struka kod muškaraca starijih od 20 godina ( $p \leq 0.011$ ), obim struka se povećao od 3.9-7.8 cm (od 4-8%) za četiri metabolita ftalata: MEP (3.9 cm), MBzP (5.8 cm), MEHHP (7.3 cm) i MEOHP (7.8 cm).

U našem istraživanju multivarijantna analiza varijanse i diskriminativna analiza potvrdile su postojanje statističke značajnosti razlika po antropometrijskim parametrima između podgrupa MEP pozitivnih ispitanika kod BMI ( $p=0.000$ ) i obima struka ( $p=0.000$ ), kao i da postojanju razlika najviše doprinosi vrednost obima struka, a zatim BMI (Tabela 32 i 33). Na osnovu karakteristika i homogenosti grupa možemo zaključiti da gojazni MEP pozitivni ispitanici u odnosu na MEP pozitivne ispitanike kontrolne grupe su imali statistički značajno veće vrednosti obima struka ( $p=0.030$ ) i BMI ( $p=0.010$ ). MEP pozitivni ispitanici s DM tip 2 u odnosu na MEP pozitivne ispitanike kontrolne grupe su imali statistički značajno veće vrednosti obima struka ( $p=0.038$ ) i BMI ( $p=0.048$ ) što odgovara i rezultatima drugih studija [134,135]. Gojazni MEP pozitivni ispitanici u odnosu na MEP pozitivne dijabetesne ispitanike su imali statistički značajno veće vrednosti obima struka ( $p=0.027$ ) i BMI ( $p=0.037$ ) (Tabela 34). To bi se moglo objasniti činjenicom da MEP u sadejstvu sa ostalim faktorima rizika može doprineti povećanju BMI i obima struka.

#### **7.4.1.1. Analiza razlika po antropometrijskim parametrima između podgrupa gojazni MEP pozitivnih i MEP negativnih**

U našem istraživanju nije potvrđeno postojanje statističke značajnosti razlika po antropometrijskim parametrima između navedenih podgrupa MEP pozitivnih i MEP negativnih gojaznih ispitanika kod BMI ( $p=0.601$ ) i obima struka ( $p=0.656$ ) (Tabela 36), što znači da su i drugi mehanizmi uključeni u nastanak gojaznosti, kao što su nedovoljna fizička aktivnost i povećan kalorijski unos.



#### **7.4.1.2. Analiza razlika po antropometrijskim parametrima između podgrupa DM tip 2 MEP pozitivnih i MEP negativnih**

U našem istraživanju nije uočena statistički značajna razlika po antropometrijskim parametrima između podgrupa MEP negativnih i MEP pozitivnih ispitanika sa DM tip 2 kod BMI ( $p=0.155$ ) i obima struka ( $p=0.186$ ) (Tabela 38). To bi se moglo objasniti činjenicom da su i drugi mehanizmi uključeni u nastanak gojaznosti kod dijabetesnih bolesnika, kao što su povećani kalorijski unos i nedovoljna fizička aktivnost, a prekomerna telesna masa i gojaznost su faktor rizika za razvoj dijabetes melitusa tip 2, možda doprinosi oko 70% slučajeva [136].

#### **7.4.1.3. Analiza razlika po antropometrijskim parametrima između podgrupa kontrola MEP pozitivnih i MEP negativnih**

U našem istraživanju nije potvrđeno postojanje statističke značajnosti navedenih razlika po antropometrijskim parametrima između podgrupa kontrola MEP negativni i MEP pozitivni kod: BMI ( $p=0.236$ ) i obima struka ( $p=0.531$ ) (Tabela 40), što je bilo za očekivanje s obzirom da su to zdravi normalno uhranjeni ispitanici.

#### **7.4.2. Povezanost MEHP-a sa antropometrijskim parametrima**

Povezanost MEHP-a i gojaznosti objašnjavaju mnogobrojni radovi na animalnom modelu. Hao i saradici (2012) [137] su ispitivali efekat MEHP na adipocitnu diferencijaciju i indukciju gojaznosti kod miševa. U ovom radu pokazani su dozno-zavisni efekti MEHP-a na adipocitnu diferencijaciju i aktivnost GPDH (glicerol-3-fosfat dehidrogenaza) korištenjem 3T3-L1 ćelijskog modela.

MEHP indukuje ekspresiju PPAR $\gamma$  kao i njegove ciljane gene potrebne za adipogenezu in vitro. U skladu sa in vitro rezultatima, MEHP takođe aktivira PPAR $\gamma$  i ciljane gene in vivo. Ekspresija PPARG (kodira PPAR $\gamma$ ) faktor koji je ne samo kritičan za adipogenezu, nego je i specifičan marker diferencijacije masnih ćelija, bio je značajno povećan primenom tioglitazona ili MEHP. Čak MEHP na dozi od 100 $\mu$ M povećava 7-puta PPARG ekspresiju gena u poređenju sa insulinom, a manja je ekspresija ciljnog gena aP2 (adipocyte-specific fatty acid binding protein), a povećava se ekspresija LPL (lipoprotein lipaza) transkripta, čime se potvrđuje da je novoformirana PPAR $\gamma$  funkcionalno aktivna. Takođe, MEHP indukuje adipogene modulatore in vivo. U masnom tkivu indukuje ekspresiju PPARG, aP2 i LPL, a u jetri značajno indukuje ekspresiju PPARG, aP2, LPL i FAS (fatty acid synthase), što bi ukazalo da MEHP stimuliše apsorpciju masnih kiselina i sintezu triglicerida u jetri. Ovi podaci ukazuju da izlaganje MEHP aktivira ekspresiju lipogenih gena, a MEHP može biti potencijalni adipogeni agens in vivo. U ovoj studiji trudne ženke miševa su izložene sa MEHP (0.05, 0.25 i 0.5mg/kgTM) ili maslinovim uljem tokom kritičnog perioda diferencijacije („razvojni prozor“) od 12 dana gestacije do 7 postnatalnog dana, a to je upravo kritičan period ćelijske diferencijacije reproduktivnog trakta, imunog sistema i adipocita. Rezultati su pokazali da je telesna masa i masni depoi u 8-nedelja starog potomstva značajno povećana u dozi od 0.05mg/kg/TM (za 12% se povećala TM u odnosu na kontrolu), ali 5-10 puta veća doza MEHP je bila neefikasna u izazivanju razvoja gojaznosti. Rezultati su pokazali da MEHP ne menja masu jetre kod muških potomaka, ali i epididimalna (0.37 $\pm$ 0.01g) i perirenalna masna masa (0.10 $\pm$ 0.01g) u dozi od 0.05mg/kg/TM je bila značajno povećana u odnosu na kontrolu.

Ključni koncept u oblasti endokrinih poremećaja je da može doći do ne-tradicionalne krive doza-odgovor, kao što su obrnuto „U“ tj. odgovor nije proporcionalan dozi. Osim toga perinatalno izlaganje MEHP na dozi od 0.05mg/kg/TM povećava i nivo holesterola u serumu za 12%, trigliceride za 28% u odnosu na kontrolu kod muških potomaka, a nivo glikoze se povećao 79%. Veće doze MEHP nisu dovele do povećanja ukupnog holesterola i triglicerida u serumu kod muških potomaka, a doze MEHP 0.25 mg/kg/TM dovele su do porasta vrednosti glikoze, ali je ona i dalje bila u referentnom opsegu. Kod ženskih potomaka, MEHP u različitim dozama nije značajno menjao telesnu masu, telesnu kompoziciju, serumske lipide i glikozu.

Kao mogući mehanizam nastalih promena u telesnoj masi i masnoj masi, leži u činjenici da je otkrivena povećana ekspresija PPAR $\gamma$  i PPAR $\alpha$  u masnom tkivu i jetri muških potomaka tretiranih sa MEHP. Ekspresija PPAR $\gamma$  je značajno veća pri dozi MEHP 0.05mg/kg/TM, a PPAR $\alpha$  je skromno aktiviran MEHP u masnom tkivu. U jetri, je došlo do značajne ekspresije PPAR $\alpha$  kod miševa tretiranih sa sve tri doze MEHP, ali aktivnost PPAR $\gamma$  nije bila značajno pogođena. Dakle, ovi rezultati su pokazali da prenatalno izlaganje MEHP može povećati učestalost gojaznosti kod muških potomaka i može da deluje kao potencijalno sredstvo povezano sa gojaznošću.

Feige i saradnici [101] (2010) ukazuju da MEHP aktivira PPAR $\gamma$  in vitro, ali ti efekti nisu primećeni in vivo kada su životinje tretirane matičnim jedinjenjem DEHP. Miševi su tretirani sa DEHP u dozi od 100 i 1000mg/kg/TM/dn, od treće nedelje starosti. U 13 nedelji tretirane životinje sa 1000mg/kg/TM/dn su imale smanjenje telesne mase za oko 15% od kontrolne grupe i tretirane sa 100mg/kg/TM/dn, odnosno došlo je do smanjenja masne mase. Takođe je došlo do smanjenja mase epididimalnog belog masnog tkiva za 40%. Samo visoke doze DEHP indukovale su hepatomegaliju, ukazujući da značajna peroksizomalna i hepatocitna proliferacija se dešavaju na dozi od 1000mg/kg/TM/dn. U krvi, nivo triglicerida i slobodnih masnih kiselina je redukovan u DEHP tretiranih miševa, a povećan je nivo ketonskih tela, markera jetrene oksidacije masnih kiselina. Iako DEHP nije modifikovao toleranciju glukoze, nivoi insulina su značajno niži kod miševa tretiranih sa 1000mg/kg/TM/dn. Ovi efekti su posredovani preko PPAR $\alpha$  agonističke aktivnosti DEHP metabolita. Uprkos peroksizomalnoj proliferaciji u hepatocitima u odgovoru na DEHP, globalna histologija jetre je normalna, bez znakova upale ili nekroze. Normalan nivo AST i ALT, dva markera oštećenja jetre, dalje sugerišu da mršavi fenotip DEHP-tretiranih miševa nije posledica jetrene toksičnosti. Pored toga smanjena gojaznost nije posledica razlike u apsorpciji lipida ili izlučivanju, jer koncentracije lipida u izmetu nisu pogođene tretmanom. Indirektno kalorimetrija je otkrila da DEHP tretman povećava potrošnju kiseonika i oslobađanje ugljen-dioksida, čime se potvrđuje dokaz o povećanom metabolizmu DEHP-tretiranih životinja.

U jetri, DEHP izlaganje indukuje ekspresiju gena uključenih u različite aspekte oksidacije masnih kiselina, uključujući mitohondrijalnu  $\beta$ -oksidaciju (medium chain acylCoA

dehydrogenase; MCAD ), peroksizomalna  $\beta$ -oksidacija (AcilCoA oksidaza 1; ACOX ), masne kiseline vezujući protein (FABP-1, eng. fatty acid binding protein 1) i karnitin palmitoil transferaza 1 $\alpha$  (CPT-1 $\alpha$ ; engl.Carnitine palmitoyl transferase 1 $\alpha$ ).

Takođe, DEHP snažno indukuje jetrenu ekspresiju faktora rasta fibroblasta 21 (FGF-21), gen koji je odgovoran za kontrolu lipidne oksidacije u jetri i lipolizu u masnom tkivu [138]. U skeletnim mišićima ciljni geni za oksidaciju-dugi lanac acil-CoA dehidrogenaza (LCAD) i piruvat dehidrogenaza kinaza 4 (PDK4) i u braon masnom tkivu uncoupling protein 1 (UCP1) i PPAR $\gamma$  koaktivator 1 $\alpha$  nisu bili pogođeni. Takođe nije došlo do ekspresije adipocitnih ciljnih gena u belom masnom tkivu. Korištenjem genetski modifikovanih miševa gde je normalan mišiji PPAR $\alpha$  gen zamenjen sa ljudskim genom, primećeno je da DEHP tretman nije indukovao hepatomegaliju ili ekspresiju gena uključenih u oksidaciju masnih kiselina, odnosno humanizovani miševi imali su veću telesnu masu i imali povećanje epididimalnog belog masnog tkiva u odnosu na divlji tip životinje. Autori su pokazali da MEHP aktivira ljudski PPAR $\alpha$  (hPPAR $\alpha$ ) i mišiji PPAR $\alpha$  (mPPAR $\alpha$ ), ali postoje razlike u regrutovanju koaktivatorskih proteina. MEHP indukuje delimično oslobađanje nuklearnog korepresora (NCoR, engl. Nuclear receptor corepresor) i sa mišijeg i ljudskog receptora. Međutim nije uspeo da indukuje ligand-zavisnu regrutaciju koaktivatora MED1 (medijator kompleks podjedinica 1), E1A vezujućeg proteina p300 (EP300) i PGC-1 $\alpha$  (PPAR $\gamma$  koaktivator-1) na mPPAR $\alpha$ . Nasuprot tome sva tri koaktivatora su efikasno regrutovana od strane ljudskog receptora u prisustvu MEHP-a. Ova in vitro zapažanja sugerišu da suptilne razlike u mPPAR $\alpha$  i hPPAR $\alpha$  receptora doprinose razlikama u PPAR $\alpha$  zavisnom metaboličkom odgovoru na DEHP.

Takođe su spekulisali o razlozima zašto je MEHP bio neefikasan u stimulanju PPAR $\gamma$  u masnom tkivu in vivo, uprkos potentnoj aktivaciji PPAR  $\gamma$  i  $\alpha$  in vitro. Oni su prepostavili da MEHP ne ulazi u adipocite u dovoljnoj koncentraciji za aktivaciju PPAR $\gamma$ . MEHP je potentniji PPAR aktivator nego MBzP i MBP, a mišija PPAR $\alpha$  je približno 5 puta više osetljiva na MEHP (EC50=0.6 $\mu$ M) od humanog PPAR $\alpha$  (EC50=3.2 $\mu$ M). MEHP za aktivaciju PPAR $\gamma$  kod miševa potrebna je nešto viša koncentracija EC50=10.1 $\mu$ M, a kod ljudi 6.2 $\mu$ M.

Nije primećena značajna PPAR aktivacije sa MMP, MnBP, DMP, DEP. Ova studija je pokazala različit intenzitet za ftalatno aktiviranje mišijih i humanih PPAR $\alpha$ : MEHP>MBzP>MBP>MnBP [139].

Ovi nalazi su u saglasnosti sa rezultatima da dugolančani estri ftalata su potentniji u indukciji proliferacije peroksizoma glodara od kratkih lanaca i razgranati-lanaci estara su potentiji od pravih lanaca [140]. Drugi podaci sugerišu da karboksilna grupa ftalata je kritična za peroksizomalnu proliferaciju. Na primer, nekoliko metabolita DEHP (MEHP i 2-etilheksanoična kiselina) izazivaju potentniju proliferaciju peroksizoma od drugog metabolita (2-etilheksanola) [141].

Pereira-Fernandes i saradnici (2013) [142] su ispitivali obezogeni potencijal pojedinih hemijskih supstanci i ftalata u in vitro uslovima. Iako 3T3-L1 ćelije se već uveliko koriste za proučavanje adipogeneze, od nedavno se koriste i za skrining obezogeni životne sredine direktnim merenjem fluorescencije *Nile red* obojenih ćelija za kvantifikaciju adipocitne diferencijacije. DEHP nije indukovao diferencijaciju 3T3-L1 ćelija. Ovo ukazuje na moguće ograničenje 3T3-L1 u in vitro ćelijskom sistemu gde nedostaje metabolizam DEHP. BBzP je jak obezogen i 50 $\mu$ M je potrebna koncentracija da indukuje efekat, a DiBP je slab obezogen (25 $\mu$ M). Ftalatna jedinjenja BBzP i DiBP su bili u stanju da snažno indukuju diferencijaciju adipocita na dozno zavisani način uz prisustvo insulina. DnBP se pokazao kao jak obezogen u prisustvu insulina. Međutim, metaboliti DEHP ftalata, MEHP i MBzP su agonisti PPAR $\gamma$  i stimulišu diferencijaciju 3T3-L1 adipocita [143].

Campoli i saradnici (2014) [144] su pratili efekat DEHP na lokalnu i sistemsku inflamaciju kod muških potomaka pacova, čije su majke Sprague–Dawley pacova hranjene sa 1, 20, 50 ili 300mg/kg/dn DEHP od 14 gestacijskog dana do rođenja. Primećeno je povećanje nivoa CRP (C-reaktivnog proteina) i TNF (tumor nekrotičnog faktora) u serumu izloženih potomaka čije su majke tretirane sa 300mg/kg/dn DEHP, IL-6 nije povećan u epididimalnom masnom tkivu, ali je značajno modifikovan u retroperitonealnom tkivu u dozi od 1mg/kg/dn DEHP. Leptin, inhibitor aktivacije plazminogena i rezistin nisu pogođeni sa DEHP. Takođe je povećana i makrofagna inflamacija u masnom tkivu izloženih potomaka.

Našim istraživanjem je primenom korelacione analize uočena negativna korelacija MEHP-a sa BMI ( $R=-0.121$  ;  $p=0.124$ ) i obimom struka ( $R=-0.046$  ;  $p=0.221$ ), ali bez statističke značajnosti (Tabela 41). Razlog nepostojanja statističke značajnosti ove korelacije je verovatno veličina uzorka. Slični rezultati su dobijeni i u drugim istraživanjima [9], mada literaturni podaci o povezanosti MEHP sa antropometrijskim parametrima nisu konzistentni.

Međutim, multivarijantna analiza varijanse i diskriminativna analiza potvrdile su postojanje statističke značajnosti razlika po antropometrijskim parametrima između podgrupa MEHP pozitivnih ispitanika u odnosu na BMI ( $p=0.000$ ) i obim struka (obst) ( $p=0.000$ ), kao i da postojanju razlika najviše doprinosi vrednost obima struka, a zatim BMI (Tabela 42 i 43). Na osnovu karakteristika i homogenosti grupa (Tabela 44) možemo tvrditi da su gojazni MEHP pozitivni ispitanici imali statistički značajno veće vrednosti obima struka (OS) i BMI (BMI) u odnosu na ostale dve podgrupe. Podgrupa MEHP pozitivni DM tip 2 su imali statistički značajno veće vrednosti obima struka (OS) i BMI (BMI) u odnosu na kontrolnu podgrupu što bi odgovaralo i drugim studijama [134,135]. To bi se moglo objasniti činjenicom da MEHP u sadejstvu sa ostalim faktorima može uticati na BMI i obim struka.

#### **7.4.2.1. Analiza razlika po antropometrijskim parametrima između podgrupa gojazni MEHP pozitivnih i MEHP negativnih**

U našem istraživanju nije uočena statistički značajna razlika između podgrupa gojaznih MEHP pozitivnih i MEHP negativnih ispitanika i u odnosu na BMI ( $p=0.802$ ) i odnosu na obim struka ( $p=0.349$ ) (Tabela 46), što bi odgovaralo činjenici da je gojaznost multifaktorijalna bolest najčešće uzrokovana fizičkom neaktivnošću ili/i hiperalimentacionom ishranom.

#### **7.4.2.2. Analiza razlika po antropometrijskim parametrima između podgrupa DM tip 2 MEHP pozitivnih i MEHP negativnih**

U našem istraživanju nije uočeno postojanje statistički značajne razlike između podgrupa MEHP pozitivnih i MEHP negativnih ispitanika s DM tip 2 ni za BMI ( $p=0.201$ ) ni za obima struka ( $p=0.216$ ) (Tabela 48), što bi značilo da su i drugi mehanizmi uključeni u nastanak gojaznosti kod dijabetesnih bolesnika, kao što su povećani kalorijski unos i nedovoljna fizička aktivnost.

#### **7.4.2.3. Analiza razlika po antropometrijskim parametrima između podgrupa kontrola MEHP pozitivnih i MEHP negativnih**

U našem istraživanju multivarijantna analiza varijanse i diskriminativna analiza su potvrdile postojanje statističke značajnosti razlika po antropometrijskim parametrima između podgrupa kontrola MEHP pozitivni i MEHP negativni, kao i da postojanju razlika najviše doprinosi BMI a potom obim struka (Tabela 50). Na osnovu karakteristika i homogenosti podgrupa (Tabela 51) možemo tvrditi je kontrolna grupa MEHP pozitivnih imala statistički značajno veće vrednosti BMI i obima struka od MEHP negativnih ispitanika kontrolne grupe. Ovo je od posebnog značaja, s obzirom da su ovo zdravi ispitanici, a da izloženost MEHP-u može usloviti navedene razlike.

Primenom korelacione analize kod MEHP pozitivnih kontrolne podgrupe, uočena je pozitivna korelacija MEHP-a sa BMI ali bez statističke značajnosti ( $R=0.239$  ;  $p=0.373$ ), a statistički značajna pozitivna korelacija sa obimom struka ( $R= 0.505$  ;  $p=0.046$ ) (Tabela 52), što je u suprotnosti sa rezultatima drugih studija [9, 147].

Hatch i saradnici [9] koristeći podatke NHANES studije od 1999-2002. godine na američkoj populaciji pronašli pomešanu povezanost između MEP/MEHP i BMI kod žena i muškaraca različitih starosnih grupa.

Oni su istakli negativan odnos između koncentracije MEHP u urinu i BMI kod adolescentkinja i žena od 20-59 godina i muškaraca starosti od 60-80 godina, pozitivna korelacija MBzP sa BMI i obimom struka kod muškaraca od 20-59 godina, pozitivna korelacija MEP sa BMI i obimom struka kod adolescentkinja i odrasli žena od 20-59 godina. Takođe je postojala pozitivna korelacija između MEP i BMI kod odraslih muškaraca. Isti rezultati su pokazali da je najjača povezanost uočena kod muškaraca od 20-59 godina za MBzP, MEHHP i MEOHP. Upadljiv kontrast u rezultatima između muškaraca i žena, posebno u dobi od 20-59 godina, je biološki prihvatljiv. Neki od ftalata imaju anti-androgeni efekat pa je moguće da su posledice razlikuju po nivou androgenih hormona. Viši nivo androgena je povezan sa manjim obimom struka u muškaraca, a viši nivo androgena kod žena su povezani sa višim BMI, većim rizikom za metabolički sindrom. Znači, žene sa najvećim nivoom MEHP (metabolit sa najjačom inverzijom BMI i obima struka kod žena), mogu da imaju niži nivo androgena ili veći estrogen/androgen odnos, što bi moglo da se objasni inverznim odnosom MEHP i BMI kod žena.

Među metabolitima DEHP, MEHP je pokaziva znatno slabije dejstvo u poređenju sa oksidativnim metabolitima (MEHHP i MEOHP) [10], što su potvrdili i istraživanje Strohekera i sar. 2005. godine [146] na životinjskom modelu. Dalje, MEHP ima kraći serumski poluživot nego ovi drugi metaboliti DEHP.

Nedavna studija objavljena (2014. godine), koja je koristila podatke NHS (the Nurses' Health Study) i NHSII a obuhvatila je 997 američkih žena, pratila je povezanost ftalata sa gojaznošću. Merena je urinarna koncentracija devet ftalatnih metabolita, tečnom hromatografijom-masenom spektrometrijom. Utvrđena je povezanosti MBzP i MBP sa bržim porastom doza-odgovor telesne mase, dok MEP i MEHP nisu bili monotono povezani sa promenom telesne mase. Žene su u proseku dobile 2.09kg tokom deset godina praćenja. Ovi podaci su u skladu sa potencijalnom ulogom ftalata u nastanku gojaznosti [145].

Prema rezultatima PIVUS studije (*Prospective investigation of the vasculature in Uppsala senior*) [147] koja je obuhvatila preko 1000 ispitanika starijih od 70 godina, cirkulišući nivo MiBP kod žena je pozitivno povezan sa obimom struka, ukupnom masom i trunkalnom masom merenom DXA metodom, kao i sa potkožnom masom



mereno MRA. Postojala je povezanost i MMP sa masnom masom, ali manje nego MiBP. Međutim, takav odnos nije viđen kod muškaraca. Za MEHP i MEP nije uočena povezanost.

Prema regresionom modelu udvostručavanje vrednosti MiBP korespondira sa povećanjem od 45cm<sup>2</sup> u supkutanom masnom masom merenom MRA, i 0,8kg masne naslage merene DXA, i povećanjem obima struka za 1,5cm kod žena. Odgovarajući efekat dupliranja MMP su 35cm<sup>2</sup> u subkutanim masnim naslagama, 0.4kg u potkožnim masnim naslagama merenim DXA i povećanje obima struka kod žena za 0.8cm. U ovom radu korištene su serumska merenja ftalatnih metabolita, a u istraživanjima su se češće merile urinarne koncentracije. Prednost urinarnog merenja je da su veće koncentracije u odnosu na serumske i time više ftalatnih metabolita mogu da se kvantifikuju. Zato ova studija izveštava samo o udruženosti za četiri ftalatna metabolita (MMP, MEP, MiBP i MEHP), mada je analizirano 10 ftalatnih metabolita. Serumske koncentracije se mogu znatno brže promeniti od urinarnih koncentracija i zato ponovljena merenja bi bila poželjna za preciznije merenje izloženosti. Ispitanici koji su bili uključeni u ovo istraživanje su belci starosti preko 70 godina, te očigledno postoje ograničenja u pogledu primenjivosti rezultata na celu populaciju.

## **7.5. Povezanost između MEP-a i MEHP-a sa lipidima i lipoproteinima seruma**

### **7.5.1. Lipidi i lipoproteini seruma i MEP**

#### **7.5.1.1. Povezanost MEP-a sa lipidima i lipoproteinima seruma**

Efekat različitih ftalatnih estara na metabolizam lipida kod miševa ispitan je u in vivo i in vitro studijama. Mapuskar i saradnici [148] su ženke miševa hranili kukuruznim uljem u koji je dodat DEP u rastućoj dozi od 10, 25 i 50 mg/kg/dn ishrane u period od 90 dana. Značajno povećanje je primećeno u serumu kisele fosfataze (ACP), dok serumski i jetreni nivo triglicerida značajno je povećan u grupama tretiranim visokim dozama. Nivo LDH je povećan kod tretiranih sa 25 i 50 ppm, a ukupni holesterol značajno povećan u sve tri tretirane grupe. Histologija jetre je pokazivala značajnu vakuolizaciju, u svim tretiranim grupama a znatno više pri dozama 25 i 50ppm.

U većim dozama je došlo do gubitka jetrene arhitekture i zrnasti depoziti u hepatocitima su bili dominantni. Ovi rezultati su u korelaciji sa ranijom studijom gde su mužjaci pacova hranjeni sa 50ppm DEP kroz vodu, a rezultati su pokazali značajno povećanje novoa holesterola u jetri (Sonde et al, 2000.) [149].

U istraživanju Kwack i saradnika [133] gde su praćeni kratkoročni efekti ftalatnih diestera i monoestera na pacovima tokom dve nedelje, tretman DEP (500mg/kg/dn) i njegovim metabolitom MEP (250mg/kg/dn) nije rezultiralo statistički značajnim razlikama u odnosu na kontrolu prema vrednostima ukupnog holesterola, triglicerida i HDL holesterola.

Rezultati našeg istraživanja su primenom korelacione analize povezanosti MEP-a sa lipidima i lipoproteinima seruma ukazali na statistički značajnu negativnu korelaciju MEP-a i HDL holesterola ( $R = -0.024$ ;  $p = 0.050$ ) što je slično rezultatima Olsena i saradnika [150], dok nije uočena statistički značajna korelacija sa ostalim lipidima i lipoproteinima, kada se analiziraju svi MEP pozitivni ispitanici (Tabela 53). Primenom analize MANOVA mi smo uočili statistički značajnu razliku između podgrupa MEP pozitivnih ispitanika samo za ukupni holesterol (hol-U) (0.027), trigliceride (TG) (0.022), HDL (0.001) i RF (0.011).

Koeficijent diskriminacije upućuje da je najveću razliku davao HDL (0.068), a najmanju LDL(0.004) (Tabela 54).

Gojazni MEP pozitivni u odnosu na kontrolu MEP pozitivne su imali statistički značajno manje vrednosti HDL holesterola ( $p=0.007$ ), statistički značajno veće vrednosti triglicerida ( $p=0.046$ ), a nisu se statistički značajno razlikovali prema ostalim lipidima i lipoproteinima seruma ( $p>0.1$ ). DM tip 2 MEP pozitivni u odnosu na kontrolu MEP pozitivne su imali statistički značajno manje vrednosti HDL ( $p=0.036$ ), statistički značajno veće vrednosti ukupnog holesterola ( $p=0.034$ ), triglicerida ( $p=0.013$ ) i RF ( $p=0.034$ ), dok nije uočena statistički značajna razlika između ove dve podgrupe u odnosu na IA i LDL ( $p>0.1$ ), što je slično sa rezultatima i drugih studija [134,135].

DM tip 2 MEP pozitivni u odnosu na gojazne MEP pozitivne su imali statistički značajno veće vrednosti ukupnog holesterola ( $p=0.017$ ) i RF ( $p=0.042$ ), dok nije uočena statistički značajna razlika za HDL, IA, trigliceride i LDL ( $p>0.1$ ) (Tabela 55).

Olsen i saradnici su objavili rezultate 2012.godine [150], a koristeći podatke iz PIVUS studije, kojim su verifikovali statistički značajnu negativnu povezanost MEHP (-0.052; p=0.008) sa LDL holesterolom, kao i statistički značajnu pozitivnu korelaciju MMP (0.098; p=0.0001) sa LDL-holesterolom. Povezanost MEP-a sa LDL holesterolom je bila pozitivna, ali bez statističke značajnosti (0.062; p=0.11), kao i povezanost MiBP sa LDL (0.044; p=0.07). Statistički značajnu pozitivnu vezu MMP sa HDL-holesterolom (0.023; p=0.03), dok je postojala negativna povezanost MEHP i HDL holesterola (-0.014; p=0.10) kao i MEP i HDL-a (-0.007; p=0.68), ali bez statističke značajnosti. Povezanost MiBP sa HDL-holesterolom je bila pozitivna, ali bez statističke značajnosti (0.017; p=0.11). Povezanost MMP, MEP, MEHP i MiBP sa trigliceridima je bila negativna, ali bez statističke značajnosti. Postojala je statistički značajna pozitivna korelacija MiBP sa glikemijom našte (0.024; p=0.0001), dok je povezanost MEHP i glikemije bila pozitivna (0.001; p=0.97) kao i MEP-a i glikemije (0.007; p=0.44) i MMP i glikemije (0.01; p=0.09) ali bez statističke značajnosti. Ista studija nije verifikovala povezanost četiri fталna metabolita (MMP, MEP, MEHP, MiBP) sa framingamskim skorom, a koji je dizajniran za predikciju desetogodišnjeg rizika za razvoj koronarne bolesti i smrtnih ishoda od ove bolesti, a za analizu se koristilo pol, godine života, navike pušenja, vrednosti HDL-holesterola, vrednosti LDL-holesterola, vrednosti glikoze, vrednosti krvnog pritiska.

#### **7.5.1.2. Analiza razlika u lipidima i lipoproteinima između podgrupa gojazni MEP pozitivnih i MEP negativnih**

U našem istraživanju MEP negativni gojazni ispitanici su imali prosečne vrednosti lipida i lipoproteina u referentnim laboratorijskim granicama, ali statistički značajno više ukupnog holesterola (p=0.027) i LDL holesterola (p=0.048) u odnosu na MEP pozitivne gojazne. Za ostale ispitivane parametre lipida i lipoproteina nije uočena statistički značajna razlika među posmatranim podgrupama (Tabela 58). Ovo bi se moglo objasniti činjenicom da su i drugi mehanizmi uključeni u metabolizam lipida i lipoproteina kod gojaznih. Njihov nastanak se dovodi u vezu sa promenama u sekreciji insulina i osetljivosti perifernih tkiva (jetra, mišići i masno tkivo) na njegovo dejstvo. Koncentracija insulina našte povećava se sa povećanjem

indeksa mase tela. Kod osoba sa BMI većim od  $27\text{kg/m}^2$  počinje da se razvija hiperinsulinizam. Kod osoba rezistentnim na insulin, zbog hiperglikemije se povećano luči insulin. Insulin izlučen iz beta-ćelija pankreasa deluje na sopstvenu ćeliju inhibišući dalje lučenje insulina. Ali kod gojaznih osoba beta-ćelije pankreasa postaju rezistentne na ovu inhibiciju, te počinje prekomerno lučenje insulina [151]. Osim insulinske rezistencije i drugi faktori utiču na potenciranje aterogene dislipidemije. Na prvom mestu, tu su proinflamatorni citokini (TNF- $\alpha$ , Interleukin-6), koje luče makrofazi, a oni dovode do povećane lipolize na nivou adipocita i do oslobađanja slobodnih masnih kiselina. Insulinska rezistencija sa svoje strane potencira glikoneogenezu na nivou jetre, kao i pojačanu sintezu triglicerida i apoproteina B [152]. Osnovne karakteristike lipidskih poremećaja u gojaznosti su smanjen klirens hilomikrona, povećanje lipoproteina bogatih trigliceridima, bogatsvo malih, gustih, izuzetno aterogenih LDL čestica i sniženje HDL- holesterola.

U našem istraživanju primenom metode linearne regresije uočena je statistički značajna korelacija MEP-a i triglicerida u podgrupi gojaznih MEP pozitivnih ispitanika ( $r=0.3785$ ,  $p=0.0176$ ) (Grafikon 5), što nije u saglasnosti sa drugim istraživanjima [150].

### **7.5.1.3. Analiza razlika u lipidima i lipoproteinima između podgrupa DM tip2 MEP pozitivnih i MEP negativnih**

U našem istraživanju nije nađena statistički značajna razlika u odnosu na lipide i lipoproteine seruma među podgrupama MEP pozitivnih i MEP negativnih ispitanika s DM tipa 2 (Tabela 60). Koeficijent diskriminacije upućuje da je najveća razlika bila u odnosu na IA (0.245), a najmanja u odnosu na HDL (0.014) (Tabela 60). Ovo bi se moglo objasniti činjenicom da su i drugi mehanizmi uključeni u metabolizam lipida i lipoproteina kod dijabetesnih bolesnika, kao što je insulinska rezistencija i poremećaj sekrecije insulina.

#### **7.5.1.4. Analiza razlika u lipidima i lipoproteinima između podgrupa kontrola MEP pozitivnih i MEP negativnih**

Nije uočena statistički značajna razlika u odnosu na lipide i lipoproteine seruma između podgrupa MEP pozitivnih i MEP negativnih ispitanika kontrolne grupe kod: ukupnog holesterola (0.827), TG (0.323), HDL (0.439), LDL (0.844), IA (0.586), RF (0.531) (Tabela 62), što bi mogli i očekivati s obzirom da su to zdravi ispitanici.

#### **7.5.2. Povezanost MEHP-a sa lipidima i lipoproteinima seruma**

Veliki broj animalnih studija ispitivao je povezanost DEHP sa lipidima i lipoproteinima seruma. DEHP i DBP je inhibirao 30-70% jetrenu steroidogenezu od 14C-acetata i 14C-mevalonata u jetri pacova koji su hranjeni sa 2.5mmol/100g hrane tokom 21 dana.

Pored toga serumski holesterol je spušten za 14mg/dl sa ishranom DEHP i DBP ali ne i sa DMP. Ali dodavanjem DEHP (2% 5mmol/100gr) u polu-sintetičku ishranu koja je sadržala 10% masti (hidrogenizovano kokosovo ulje) dovelo je do promena lipoproteina seruma. Procenat holesterola u LDL-u porastao je sa 22% na 34%, dok je u HDL-u pao sa 78% na 66%, a ove promene su nastupile bez promene serumskog nivoa holesterola [153].

Istraživanje Martineli i saradnika (2010) sprovedeno je na odraslim mužjacima Wistar pacova koji su tokom 21 dana hranjeni sa ~ 1,600 mg/kg tm/dn DEHP i došlo je do smanjenja epididimalnog masnog tkiva (74% u odnosu na kontrolu) i lumbalnog masnog tkiva (67% u odnosu na kontrolu). DEHP takođe je izazvao smanjenje telesne mase. Adipociti izolovani iz uzoraka epididimalnog i lumbalnog masnog tkiva bili su manji u prečniku i zapremini u odnosu na kontrolne životinje i imali su manji sadržaj triglicerida. Autori su želeli da utvrde da li su ovi efekti nastali kao posledica pojačane mobilnosti lipida posmatranjem bazalne i noradrenalin stimulisane lipolize i aktivnosti adipocitne lipoprotein lipaze koja katalizuje hidrolitičko cepanje masnih kiselina od triglicerida u hilomikronima, VLDL i LDL-holesterolu. Međutim ni jedan od

ovih parametara nije pogođen DEHP tretmanom, tako da nije jasno koji biološki procesi mogu dovesti do ovih efekata. Takođe je primećen negativan bilans azota kod životinja tretiranih sa 2% DEHP [154].

Rezultati i drugih animalnih studija sprovedenih na mužjacima pacova, gde su praćeni kratkoročni efekti 9 ftalatnih diestera (DEHP, DBP, DnOP, DEP, BBzP, DMP, DIDP, DUP, DINP) i 5 monoestera (MEHP, MMP, MBuP, MBzP i MEP) na metaboličke poremećaje tokom dve nedelje, ukazali su na statistički značajno sniženje vrednosti ukupnog holesterola kod DEHP i DIDP tretiranih pacova, a povećanje vrednosti triglicerida kod DINP, MEHP i MnBP tretiranih pacova, dok nije postojala statistički značajna razlika u novou HDL između grupa [133]. To bi se moglo objasniti činjenicom da DEHP bi mogao da utiče na steroidogeni akutni regulatorni protein (StAR protein-*engl. Steroidogenic acute regulatory protein*) koji ima važnu ulogu u regulaciji metabolizma holesterola, kao i u steroidogenezi [155], učestvuje u prenosu holesterola iz intracelularnih depoa u mitohondrije, a takođe se može objasniti i preko aktivacije PPAR $\alpha$ .

Korelaciona analiza povezanosti MEHP-a sa lipidima i lipoproteinima seruma sprovedena u svih ispitanika s pozitivnim MEHP-om nije ukazala na statistički značajnu povezanost sa ukupnim holesterolom, trigliceridima, HDL holesterolom, LDL holesterolom, IA i RF (Tabela 64), što nije u saglasnosti sa rezultatima Olsena i saradnika [150].

Multivarijantna analiza varijanse i diskriminativna analiza u našem istraživanju potvrdile su postojanje statističke značajnosti razlika po lipidima i lipoproteinima između podgrupa MEHP pozitivnih ispitanika kod RF, dok nije uočena značajna razlika između pojedinih podgrupa kod: ukupnog holesterola, TG, HDL, LDL, IA (Tabela 65).

Na osnovu karakteristika i homogenosti grupa (Tabela 66), možemo tvrditi da je podgrupa DM tip 2 MEHP pozitivni su imala statistički značajno veće vrednosti ukupnog holesterola od kontrolne podgrupe MEHP pozitivnih, i statistički značajno veće vrednosti RF u odnosu na ostale dve podgrupe, što je slično rezultatima i drugih studija [135].

### **7.5.2.1. Analiza razlika u lipidima i lipoproteinima između podgrupa gojazni MEHP pozitivnih i MEHP negativnih**

U našem istraživanju nije uočena statistički značajna razlika u lipidima i lipoproteinima seruma između podgrupa MEHP pozitivnih i MEHP negativnih gojaznih ispitanika. Koeficijent diskriminacije upućuje da je razlika najveća kod IA (0.107), a najmanja za trigliceride (0.006) (Tabela 68). Što može da se objasni činjenicom da su i drugi mehanizmi uključeni u metabolizam lipida kod gojaznih. Patofiziologija povezanosti gojaznosti i poremećaja metabolizma lipida ogleda se kroz ulogu enzima lipoproteinske lipaze (LPL) u masnom tkivu. S povećanjem volumena adipocita povećava se i njena aktivnost, što ima za posledicu povećano izdvajanje triglicerida iz VLDL čestica [156]. Od posebnog je značaja povećanje mase intraabdominalnog masnog tkiva i promena volumena adipocita u masnom tkivu tog regiona. U jetri postoji povećan priliv slobodnih masnih kiselina i povećavaju sintezu VLDL čestica. Kasnije sa razvojem insulinske rezistencije smanjuje se delovanje insulina na LPL i dolazi do smanjivanja katabolizma VLDL čestica, što doprinosi hipertrigliceridemiji [156].

Ako gojaznost prati i hipertrigliceridemija, nastaju promene i u veličini LDL čestica- nastaju male, guste i izuzetno aterogene LDL čestice. Koncentracija malih, gustih LDL čestica signifikantno korelira sa povišenim nivoom triglicerida, sniženim HDL holesterolom, hipertenzijom i poremećajem glikozne tolerancije.

Takođe, veličina LDL čestice pokazuje značajnu povezanost sa nivoom insulinemije, proinsulina i odnosom proinsulin/insulin. Kod gojaznih je smanjena aktivnost LDL receptora, što dovodi do porasta aterogenog LDL holesterola. Pored toga, primećena je i povećana sinteza apoproteina B, što uz povećanu konverziju VLDL u LDL čestice, daje porast nivoa LDL holesterola. U gojaznosti je povećana i sinteza holesterola u jetri i masnom tkivu. Nivo HDL holesterola se snižava usled povećanog katabolizma od strane uvećane mase masnog tkiva. Utvrđeno je da je najveće sniženje na račun HDL2 subfrakcije. Insulinska rezistencija uzrokuje sniženje HDL holesterola na nekoliko načina. Zbog sniženja aktivnosti lipoproteinske lipaze dolazi do transfera triglicerida iz trigliceridima bogatih hilomikrona i VLDL partikula u zamenu za este holesterola iz HDL partikula, i na taj način snižavanja njegovog nivoa.

Takođe zbog snižene aktivnosti lecitin-holesterol-acil-transferaze (LCAT) ili povećane aktivnosti holesterol-estar-transfer-proteina (CETP), može doći do snižavanja HDL-holesterola. Hidroliza hilomikrona iz triglicerida u stanjima sa insulinskom rezistencijom može da bude snižena usled izmenjene aktivnosti LPL [157].

#### **7.5.2.2. Analiza razlika u lipidima i lipoproteinima između podgrupa DM tip 2 MEHP pozitivnih i MEHP negativnih**

U našem istraživanju nije uočena statistički značajna razlika u lipidima i lipoproteinima između podgrupa MEHP pozitivnih i MEHP negativnih ispitanika s DM tip 2. Koeficijent diskriminacije upućuje da je najveća razlika između podgrupa MEHP pozitivnih i MEHP negativnih dijabetesnih ispitanika bila za IA (0.245), a najmanja za HDL holesterol (0.014) (Tabela 70). Što može da se objasni činjenicom da su i drugim mehanizmi uključeni u metabolizam lipida kod obolelih od DM tip 2, kao što je gore opisana insulinska rezistencija i defekt sekrecije insulina.

Takođe, većina bolesnika koji boluju od tipa 2 šećerne bolesti su osobe sa predominantnom visceralnom gojaznošću, tako da se smatra da masno tkivo ima ključnu ulogu u patogenezi tipa 2 šećerne bolesti. Zbog rezistencije na normalne supresivne efekte insulina u perifernim tkivima i ubrzane lipolize u masnom tkivu dolazi do povećanja nivo slobodnih masnih kiselina.

To dovodi do povećanja hepatične produkcije glikoze, povećanja lipidske oksidacije i smanjenja glikozne oksidacije. Smanjena glikozna oksidacija nastaje zbog kompetencije između masnih kiselina i glikoze. Naime, acil-CoA nastao oksidacijom masnih kiselina usporava proces fosforilacije u glikolitičkom putu razgradnje glikoze. Perzistentna hiperinzulinemija dovodi do poremećaja lipida i lipoproteina: povećane sekrecije triglicerida i VLDL čestica bogatih trigliceridima, sinteza masnih kiselina i holesterola, i na kraju izmena aktivnosti enzima LPL.



### **7.5.2.3. Analiza razlika u lipidima i lipoproteinima između podgrupa kontrola MEHP pozitivnih i MEHP negativnih**

U našem istraživanju nije uočena statistički značajna razlika u lipidima i lipoproteinima seruma, niti IA i RF između podgrupa MEHP pozitivnih i MEHP negativnih ispitanika kontrolne grupe. Koeficijent diskriminacije upućuje da je najveća razlika bila za IA (0.094), a najmanja za RF (0.000) i HDL holesterol (0.000.) (Tabela 72).

Korelaciona analiza povezanosti MEHP-a sa lipidima i lipoproteinima seruma sprovedena kod MEHP pozitivnih kontrolne podgrupe je ukazala na statistički značajnu negativnu korelaciju sa HDL holesterolom ( $R=-0.729$  ;  $p=0.001$ ), što odgovara i rezultatima Olsena i saradnika gde je uočena negativna korelacija MEHP i HDL holesterola, ali bez statističke značajnosti [150]. Međutim, nije uočena statistički značajna povezanost sa ukupnim holesterolom, trigliceridima, LDL holesterolom, IA i RF (Tabela 73).

Hines i saradnici (2009.) verifikovali pozitivnu korelaciju između MEHP, MECPP, MEHHP i MEOHP i triglicerida kod žena u periodu laktacije [158]. Isto istvraživanje je ukazalo da se ftalatni metaboliti najčešće detektuju u urinu ( $\geq 85\%$  uzoraka je detektovano sedam od deset metabolita), ređe su detektovani u serumu (3-22% osim MECPP koji je detektovan u  $>80\%$  uzoraka seruma), mleku ( $<10\%$  uzoraka) i pljuvački.

Griffiths i saradnici su in vitro proučavali protein-vezujuće karakteristike DEHP i njegovog metabolita MEHP. Asocijacija DEHP i lipoproteina je proporcionalno zavisna od koncentracije lipida u serumu. Izgleda da je više od polovine serumskog DEHP vezano za proteine sa gustinom većom od 1.21g/mL kada je koncentracija holesterola ispod 300mg/dl, odnosno kada je ukupna koncentracija holesterola i triglicerida manja od 600mg/dl. Kod povećanja koncentracije holesterola i triglicerida procenat DEHP vezan za VLDL, IDL i LDL se povećava. MEHP je vezan pre svega za ne-lipoproteinske sastojke seruma i distribucija ne zavisi od koncentracije lipida [159].

Lind i saradnici [160] su objavili rezultate ispitivanja, koristeći podatke PIVUS studije na 1016 ispitanika starijih od 70 godina, kojim su verifikovali povezanost MMP sa karotidnim plakom u vidu obrnutog U oblika. Visok nivo MiBP i MMP su povezani sa ehogenitetom intima-media i plakom, dok su visoki nivoi MEHP povezani sa ehogenitetom intima-media i plakom nakon podešavanja, što nam ukazuje na ulogu hemikalija u razvoju ateroskleroze. Formiranje aterosklerotskih lezija kod ljudi se može objasniti preko PPAR $\gamma$  koji ima ulogu u promovisanju makrofagne diferencijacije i formiranje aterosklerotičnih lezija.

Muczynski i saradnici [161] su u in-vitro kulturama fetusnih muških i ženskih gonada dokazali da izlaganje MEHP tokom 72h dovodi do ushodne regulacije LXR $\alpha$  (Liver X receptor alpha), a preko transkripcionog faktora SREBP (SREBP2-Sterol Regulatory Element-Binding Protein 2 i SREBP1c-Sterol Regulatory Element-Binding Protein 1c) mRNK kontrolišu sintezu holesterola odnosno triglicerida i fosfolipida. Međutim, apoptoza germinativnih ćelija je ograničena za muške gonade.

Posle 72h od izlaganja MEHP, geni uključeni u metabolizam lipida, kao što su Sterol Regulatory Element-Binding Protein 1c –SREBP1c, koji reguliše puteve masnih kiselina, enzimi Sterol-CoA-desaturaza 1 (SCD1) i masne kiseline sintetaza (FASN) su ushodno regulisani u fetalnim testisima.

Slično tome, ekspresija gena uključenih u sintezu holesterola, kao što su Sterol Regulatory Element-Binding Protein 2 –SREBP2, 3-hidroksi-3-metilglutaril-CoA reduktaza (HMGCR) i Squalene Epoxydase (SQLE), su povećani 1.4, 1.3 i 1.7 puta u odnosu na kontrolu. Slično tome, u fetalnim jajnicima je došlo do povećanja nivoa mRNK SREBP1c i SREBP2 i enzima SCD1, FASH, HMGCR i SQLE (od 1.2 do 2.2 puta u odnosu na kontrolu).

Nivo mRNK PPAR/gama i NGFIB (engl. nerve growth factor IB) je značajno smanjen za 30% i 20%, dok LXR $\alpha$  je pokazao povećanje do 30%. Slično ovome u jajnicima je došlo do porasta mRNK LXR $\alpha$  za 40% u odnosu na kontrolu, a transkripcioni nivo PPAR/gama i NGFIB u jajnicima nije modifikovan. Već je napomenjeno da su fetalni agonisti PPAR, kroz koji regulišu Translokator proteina (TSPO) koji je uključen u mitohondrijalnu respiraciju, formiranje steroida

i ćelijsku proliferaciju. On se povećava tokom diferencijacije, a smanjuje tokom sazrevanja mišijih adipocita.

U istraživanju Campioli i saradnika [162] posle 4 dana tretmana sa 10  $\mu$ M MEHP primećene su promene u transkripciji acil-CoA karboksilaze alfa, adenzin trifosfat citrate liaze, GLUT 1 i 4, S100 kalcijum vezujući protein B, koji su marker preadipocitne diferencijacije, to se poklapalo sa smanjenjem ćelijske proliferacije, bez uticaja na ćelijski sadržaj triglicerida. MEHP je bio u mogućnosti da privremeno poveća nivo TSPO mRNK kroz PPAR- $\alpha$  i  $\beta$  puteve. Ovi naučnici su pratili ekspresiju gena poznatih markera preadipocitne diferencijacije u kulturama ćelija tokom 4,8 i 12 dana. Nivo C/EBP- $\alpha$  (engl. enhancer binding protein alpha) se povećao 5 puta, 7.5 odnosno 12 puta. Nivo GLUT-4 mRNK se povećao za oko 3.5 puta, i 3 puta u 8 i 12 dana od početka diferencijacije, a nivo S100B mRNK je smanjen za 73% i 72%. Nivo PPAR $\alpha$  mRNK je pokazao povećanje tokom vremena od približno 1.5 puta, 2 puta i 2.6 puta, dok nivo PPAR  $\beta$  mRNK je porastao oko 1.7 puta, 1.6 puta i 2.2 puta tokom vremena. U 4 danu posle početka diferencijacije, nivo PPAR-gama mRNK se povećao za oko 1.5 puta a potom se smanjio postepeno, što je u suprotnosti u odnosu na mišije 3T3-L1 preadipocite, gde je PPAR-gama mRNK pokazao progresivno povećanje. Takođe je primećeno povećanje 1.6 puta TSPO nivoa mRNK posle 12 dana diferencijacije.

## **7. 6. Povezanost između MEP-a i MEHP-a i parametara glikoregulacije**

### **7.6.1.Povezanost MEP-a sa glikemijom, insulinemijom i insulinskom rezistencijom**

U animalnoj studiji Kwack i saradnika [133] gde su praćeni kratkoročni efekti ftalatnih diestera i monoestera na pacovima tokom dve nedelje, tretman DEP (500mg/kg/dn) i njegovim metabolitom MEP (250mg/kg/dn) nije rezultiralo statistički značajnim razlikama u odnosu na kontrolu prema vrednostima glikemije.

U epidemiološkim studijama nailazimo na različite podatke o povezanosti MEP-a sa parametrima glikoregulacije [10,134, 163].

U našoj studiji sprovedene korelacione analize povezanosti između MEP-a sa parametrima glikoregulacije kod MEP pozitivnih ispitanika, su ukazale na statistički značajnu pozitivnu korelaciju MEP-a i HOMA-IRI ( $R= 0.124$ ;  $p=.099$ ), što odgovara i drugim studijama [10,134], dok nije verifikovana povezanost između MEP-a i glikemije našte i insulinemije, što je prikazano u tabeli 74. Multivarijantna analiza varijanse i diskriminativna analiza potvrdili su postojanje statistički značajnih razlika prema vrednostima glikoregulacije između podgrupa MEP pozitivnih kod: glikemije, insulinemije i HOMA-IRI (Tabela 75). Na osnovu karakteristika i homogenosti grupa (Tabela 76), možemo tvrditi da su gojazni MEP pozitivni ispitanici imali statistički značajno veće vrednosti insulinemije u odnosu na ostale dve podgrupe, a statistički značajno veće vrednosti HOMA-IRI u odnosu na podgrupu kontrola MEP pozitivni. Podgrupa DM tip 2 MEP pozitivni su imali statistički značajno veće vrednosti HOMA-IRI u odnosu na kontrolnu podgrupu MEP pozitivnih, a statistički značajno veće vrednosti glikemije u odnosu na ostale dve podgrupe, što je slično i u drugim studijama [134]. To bi se moglo objasniti činjenicom da MEP u sadejstvu sa ostalim faktorima može uticati na parametre glikoregulacije.

Povezanost pojedinih ftalatnih metabolita sa parametrima glikoregulacije dokumentovano je i u drugim studijama. U evaluaciji muških učesnika u istraživanju NHANES od 1999.-2002. godine visok nivo MBP, MBzP i MEP je povezan sa insulinskom rezistencijom [10]. HOMA-IR se povećala od 1.3-1.4 i to: MBP (1.3), MEP (1.3) i MBzP (1.4).

Postoji veza između ftalata i rizika od razvoja dijabetesa među seniorima. Čak i skromno povećanje cirkulišućeg nivoa ftalata, udvostručuje rizik od razvoja dijabetesa. Ova je zaključak od strane istraživača na Univerzitetu u Upsali (Švedska) koji je objavljen u časopisu *Diabetes Care* 2012. Oni su analizirali rezultate PIVUS studije (*Prospective investigation of the vasculature in Uppsala senior*) koja je obuhvatila preko 1000 ispitanika starosti preko 70 godina. Kod preko 96% ispitanika detektovana su četiri ftalatna metabolita iznad limita detekcije (MMP, MEP, MiBP i MEHP), utvrđena je povezanost MMP i MEP sa insulinskom rezistencijom (HOMA-IR), a MiBP je povezan sa smanjenom sekrecijom insulina [134].

Visok nivo MMP, MEP i MiBP, su povezani sa povećanom prevalencom DM, ali nisu utvrdili povezanost nivoa MEHP sa povećanom incidencom DM. Srednji nivo MMP-a je kod dijabetesnih ispitanika bio veći u odnosu na nedijabetesne ispitanike (1.7ng/ml vs 1.5ng/ml), kao

i MEP-a (12.2ng/ml vs 11.4ng/ml), MEHP-a (4.9ng/ml vs 4.5ng/ml) i MiBP-a (16.2ng/ml vs 13.3ng/ml).

Međutim, u studiji Huang i saradnika (2014) [163] nije utvrđena statistički značajna povezanost MEP-a sa parametrima glikoregulacije. Olsen i saradnici (2012) su utvrdili statistički značajnu pozitivnu korelaciju MiBP sa glikemijom našte, kao i pozitivnu korelaciju MEHP, MMP i MEP sa glikemijom, ali bez statističke značajnosti [150].

#### **7.6.1.1. Analiza razlika po glikemiji, insulinemiji i insulinskoj rezistenciji između podgrupa gojazni MEP pozitivnih i MEP negativnih**

U našem istraživanju nije uočena statistički značajna razlika u posmatranim parametrima glikoregulacije između podgrupa MEP pozitivnih i MEP negativnih gojaznih ispitanika (Tabela 78). Koeficijent diskriminacije upućuje da je razlika bila najveća kod insulinemije (0.091), zatim kod HOMA-IRI (0.069), a najmanja kod glikemije (0.005) (Tabela 78).

To bi se moglo objasniti činjenicom da su drugi mehanizmi uključeni u glikoregulaciju kod gojaznih, kao što je insulinska rezistencija. Insulinska rezistencija u masnom tkivu odnosi se na transport glikoze i antilipolitičke efekte insulina koji su poremećeni. Visceralno masno tkivo je metabolički mnogo aktivnije i slobodne masne kiseline se direktno oslobađaju u venu porte i dolaze u jetru. Insulinska rezistencija u mišićima se razvija relativno brzo, a pored poremećaja metabolizma ugljenih-hidrata u njima postoji i poremećaj u metabolizmu lipida sa porastom slobodnih masnih kiselina i triglicerida u plazmi i u samim mišićima. Kao krajni rezultat nastaje smanjen ulazak glikoze u ćelije skeletnih mišića (smanjen glikozni *uptake*). U jetri je dokazana povećana hepatična produkcija glikoze uz smanjeno dejstvo insulina. Istovremeno, na hepatocitima postoji smanjen broj receptora za insulin. Takođe, hepatični klirens za insulin je smanjen [157].

### **7.6.1.2. Analiza razlika po glikemiji, insulinemiji i insulinskoj rezistenciji između podgrupa DM tip 2 MEP pozitivnih i MEP negativnih**

U našem istraživanju uočena je statistički značajna razlika između podgrupa MEP pozitivnih i MEP negativnih dijabetesnih bolesnika za insulinemiju ( $p=0.046$ ) i insulinску rezistenciju (HOMA-IRI) ( $p=0.041$ ), a razlika u nivou glikemije nije bile statistički značajna (Tabela 80). Koeficijent diskriminacije upućuje da je najveći doprinos diskriminaciji između podgrupa MEP pozitivnih i MEP negativnih dijabetesnih ispitanika bio kod insulinemije (IRI) (7.760), a najmanji kod insulinske rezistencije (HOMA-IRI) (0.004) (Tabela 80). Diskriminativna analiza ( $p=0.000$ ) je ukazala na jasno definisanu granicu između podgrupa MEP pozitivnih i MEP negativnih dijabetesnih ispitanika, odnosno moguće je odrediti karakteristike svake podgrupe. Ispitanici s DM tip 2 MEP negativni su imali statistički značajno veće vrednosti insulinemije ( $p=0.043$ ) i HOMA-IRI ( $p=0.037$ ) od podgrupe DM tip 2 MEP pozitivnih, dok nije uočena statistički značajna razlika u odnosu na glikemiju između navedenih podgrupa (Tabela 81). Ove razlike u prosečnim vrednostima IRI i HOMA-IRI između MEP negativnih i MEP pozitivnih dijabetesnih ispitanika verovatno su posledica male grupe.

Kada se analiziraju MEP pozitivni dijabetesni ispitanici korelaciona analiza je ukazala na pozitivnu korelaciju između MEP-a i parametara glikoregulacije (Tabela 82). Međutim, ova korelacija je bila statistički značajna samo za MEP i HOMA-IRI ( $R=0.643$ ,  $p=0.018$ ), koja je u saglasnosti sa drugim studijama [134].

### **7.6.1.3. Analiza razlika po glikemiji, insulinemiji i insulinskoj rezistenciji između podgrupa kontrola MEP pozitivnih i MEP negativnih**

U našem istraživanju nije uočena statistički značajna razlika u parametrima glikoregulacije između podgrupa MEP pozitivnih i MEP negativnih ispitanika kontrolne grupe (Tabela 84), s obzirom da su to zdravi ispitanici sa zadovoljavajućom glikoregulacijom.

### 7.6.2. Povezanost MEHP-a sa glikemijom, insulinemijom i insulinskom rezistencijom

Povezanost između pojedinih ftalata i dijabetes melitusa utvrđeno je u eksperimentima na životinjama gde je primećeno, da kada se trudnica i dojilja pacova tretira sa DEHP, njihovo potomstvo razvija abnormalnosti beta ćelija pankreasa. U odraslom dobu, ženski potomci su imali visok nivo glikoze u krvi, poremećaj tolerancije glikoze i poremećaj insulina. Odrasli muškarci su povećano lučili insuli. Ovi rezultati pokazuju da izlaganje ftalatima u razvojnem periodu može dovesti do disfunkcije beta ćelija i glukozne abnormalnosti, a to je potencijalni faktor rizika za razvoj dijabetesa (Lin i sar. 2011) [108]. Ova studija je pokazala da je ekspresija ključnih gena uključenih u endokrini razvoj pankreasa i funkciju  $\beta$  ćelija pankreasa promenjena kod potomaka DEHP tretiranih pacova. Gen koji reguliše rani razvoj endokrinog pankreasa i formiranje ostrvaca (Pdx-1, pancreatic and duodenal homeobox-1) je značajno nishodno regulisan u potomaka DEHP izloženih pacova.

Smanjenje Pdx-1 utiče na mitohondrijalnu funkciju, što dovodi do smanjenog lučenja insulina. Ucp-2 gen (uncoupling protein 2, razdvajajući protein 2), koji je uključen u smanjenje efikasnosti mitohondrijalne ATP proizvodnje, bio je značajno ushodno regulisan. Pošto beta-ćelije zahtevaju velike količine ATP za lučenje insulina, abnormalna ekspresija Ucp-2 delimično rezultira  $\beta$ -ćelijskom disfunkcijom kod ženskih potomaka kasnije u životu. Ultrastrukturalna analiza je pokazala hipertrofiju zrnastog endoplazmatskog retikuluma u  $\beta$ -ćelijama potomaka oba pola DEHP-izloženih pacova.

Mnoge studije sugerišu da mitohondrijalna disfunkcija ima kritičnu ulogu u patogenezi insulinske rezistencije (IR) [164,165]. Kao i u metabolizmu glikoze tako i lipidni putevi zavise od mitohondrijalne proizvodnje energije, a kada je mitohondrijalna disfunkcija prisutna, ATP proizvodnja i potrošnja kiseonika su oštećeni i proizvodnja slobodnih radikala je povećana, a to dovodi do IR.

Na osnovu činjenice da proizvodnja MDA nastaje oksidacijom ćelijske membrane, a oksidativna fosforilacija insulinskih receptora na površini ćelije indukuje IR [165] možemo

prihvatiti hipotezu da izloženost ftalatima dovodi do mitohondrijalne disfunkcije i indukuje oksidativni stres.

Da MEHP može da izazove oksidativni stres pokazali su i rezultati na miševima Wang i saradnika (2012) [166]. Podaci pokazuju da MEHP inhibira ekspresiju i aktivnost antioksidativnih enzima-bakar/cink superoksid dismutaze (SOD1) i glutation peroksidaze (GPKS), ne inhibira ekspresiju katalaze (CAT).

Druge animalne studije [133] sprovedene na mužjacima pacova, u kojima je praćen kratkoročni efekat devet ftalatih diestera i pet monoestera, su ukazale na značajno povećanje nivoa glikoze u krvi kod DEHP, MEHP i MBzP tretiranih pacova. Nivoi jetrenih enzima AST su značajno povećani u DBP, DuDP, MBP i MBeP grupe, dok nivoi ALT su značajno povećani samo u DEHP i MEHP tretiranih grupa, a nivo serumskog LDH su bili značajno veći kod pacova tretiranih DEHP i DEP u odnosu na kontrolu.

Takođe i u drugim animalnim studijama [167] primećeno je da su pacovi tretirani sa DEHP razvili visok nivo šećera u krvi, insulinsku rezistenciju, ali DEHP plus antioksidant vitamin E i C međutim nije razvio ove poremećaje. To se može objasniti činjenicom da DEHP izaziva porast nivoa H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> i hidroksi radikala, kao i lipidnu peroksidaciju u masnom tkivu. DEHP oštećuje ekspresiju insulinskih signalnih molekula i njihove fosforilisane puteve što umanjuje nivo GLUT4, a nivo glukoze u krvi je povišen. Znači da DEHP indukuje ROS i lipidnu peroksidaciju, remete insulinski prenos signala u masnom tkivu i favorizuju glikoznu intoleranciju. Uprkos nagomilanim dokazima iz studija na životinjama, dokazi među ljudima za udruženost ftalata sa DM tip 2 su ograničeni na studije preseka, sa različitim nalazima.

U našem istraživanju korelaciona analiza nije ukazala na statistički značajnu povezanost MEHP-a sa glikemijom ( $R=0.122$ ;  $p=0.629$ ), insulinemijom ( $R= -0.103$ ;  $p=0.729$ ) i HOMA-IRI ( $R= -0.057$ ;  $p=0.874$ ) kada su u pitanju svi ispitanici koji su imali MEHP u urinu, što je slično sa drugim studijama pošto MEHP je slabije aktivan u odnosu na oksidisane metabolite DEHP-a [10] (Tabela 85). Multivarijantna analiza varijanse i diskriminativna analiza potvrdili su postojanje statistički značajne razlike prema vrednostima glikoregulacije između podgrupa



MEHP pozitivnih kod: glikemije, insulinemije i HOMA-IRI, kao i da postojanju razlike najviše doprinosi glikemija (0.192), HOMA-IRI (0.125) i insulinemija (0.115) (Tabela 86).

Na osnovu karakteristika i homogenosti grupa (Tabela 87), možemo tvrditi da su gojazni MEHP pozitivni imali statistički značajno veće vrednosti glikemije, HOMA-IRI i insulinemije od podgrupe kontrola MEHP pozitivni. Podgrupa DM tip 2 MEHP pozitivni su imali statistički značajno veće vrednosti glikemije i HOMA-IRI u odnosu na ostale dve podgrupe, dok su vrednosti insulinemije bile statistički značajno veće samo u odnosu na kontrolnu podgrupu, što je slično sa drugim studijama [134].

Kim i saradnici (2013) su objavili podatke KEEP studije (*The Korean Elderly Environmental Panel*) na uzorku od 560 odraslih ispitanika ( $\geq 60$  godine), koji su praćeni od 2008. do 2010. godine, ispitanici su pet puta pregledani (dva puta 2008., jednom 2009., a dva puta 2010.). Uzorci urina su prikupljeni pri svakoj poseti, a uzorci krvi tri puta. Molski zbir MEHHP i MEOHP ( $\Sigma$ DEHP) su značajno povezani sa HOMA-IRI ( $p=0.040$ ), a povezanost je očigledna među učesnicima sa istorijom DM ( $p=0.037$ ) i kod žena ( $p=0.037$ ). Međutim odnos između MnBP i HOMA-IRI nije pronađen. Kada su ocenjivali da li je oksidativni stres uključen u povećanje HOMA-IRI i  $\Sigma$ DEHP, nivo MDA (malonilaldehid) je značajno povezan sa povećanjem  $\Sigma$ DEHP ( $p<0.001$ ) i HOMA-IRI ( $p=0.049$ ). Srednji nivo ftalatnih metabolita je bio za MEHHP  $31.99\mu\text{g/l}$ , za MEOHP  $26.15\mu\text{g/l}$  a za MnBP  $74.41\mu\text{g/l}$ . Rezultati ovog istraživanja sugerišu da izloženost DEHP u starijoj populaciji povećava IR, koja je u vezi sa oksidativnim stresom, a učesnici sa DM i žene su više podložni DEHP izlaganju. Za oba metabolita DEHP i MnBP je pronađena dobra korelacija između pojedinačnih merenja urina i prosečnih-pet uzoraka [168].

Huang i saradnici (2014) [163] su koristeći podatke CDC iz NHANES (2001.-2008.) na 3086 ispitanika od 12-80 godina koji nisu imali dijabetes, pratili povezanost 8 urinarnih metabolita ftalata (MEP, MnBP, MiBP, MBzP, MEHP, MEOHP, MEHHP, MCP) sa glikemijom, insulinemijom i insulinskom rezistencijom (HOMA-IRI). Urinarni nivo nekoliko ftalatnih metabolita, MnBP, MiBP, MCP i  $\Sigma$ DEHP su pokazalo značajnu pozitivnu povezanost sa glikemijom, insulinemijom i HOMA-IRI, a MBzP pozitivnu povezanost sa insulinemijom i HOMA-IRI, dok nije utvrđena statistički značajna povezanost MEP-a sa parametrima

glikoregulacije. Žene su imale jaču povezanost MiBP i MBzP sa insulinemijom, a muškarci  $\Sigma$ DEHP sa glikemijom i MCPP sa HOMA-IRI. Žene su imale veće nivoe svih ispitivanih metabolita ftalata (MEP 181.9 $\mu$ g/gkreatinina; MBzP 13.4 $\mu$ g/gkreatinina; MnBP 22.3 $\mu$ g/gkreatinina; MiBP 4.9 $\mu$ g/gkreatinina, MCPP 2.3 $\mu$ g/gkreatinina;  $\Sigma$ DEHP 11.5 $\mu$ mol/100gkreatinina) od muškaraca (MEP 125.3 $\mu$ g/gkreatinina; MBzP 10.4 $\mu$ g/gkreatinina; MnBP 13.6 $\mu$ g/gkreatinina; MiBP 3.8 $\mu$ g/gkreatinina; MCPP 2.0 $\mu$ g/gkreatinina;  $\Sigma$ DEHP 9.5 $\mu$ mol/100gkreatinina). Postojala je i rasna razlika. Crnci su imali veće nivoe MEP (190.4 $\mu$ g/gkreatinina), MBzP (13.1 $\mu$ g/gkreatinina), MnBP (18.4 $\mu$ g/gkreatinina), MiBP (5.0 $\mu$ g/gkreatinina) i  $\Sigma$ DEHP (11.4 $\mu$ mol/100gkreatinina), a belci MCPP (2.3 $\mu$ g/gkreatinina). Meksički-Amerikanci su imali više koncentracije MnBP (17.4 $\mu$ g/gkreatinina) i MiBP (4.6 $\mu$ g/gkreatinina) od belaca. Meksički-Amerikanci i crnci imali su jače veze doza-odgovor za MnBP, MiBP, MCPP i  $\Sigma$ DEHP u odnosu na belce.

Ova studija je pokazala sličnu povezanost kao i nedavno istraživanje odraslih žena iz NHANES 2001.-2008. [169], gde je utvrđena pozitivna veza MiBP i  $\Sigma$ DEHP sa insulinskom rezistencijom. Međutim, MnBP i MCPP nisu bili povezani sa glikemijom našte ili HOMA-IRI, verovatno zbog ograničenja ove studije veličinom uzorka.

Polne razlike u povezanosti pojedinih ftalatnih metabolita sa parametrima glikoregulacije, može se objasniti razlikom u distribuciji masti indukovano ftalatnoj izloženosti i naknadna rezistencija na insulin može da varira u zavisnosti od pola.

U tom istraživanju James Todda i saradnika [169] koje je obuhvatilo 2350 žena između 20 i 79 godina, a učestvovala su u NHANES studiji (2001.-2008.) pratili su povezanost MEP, MnBP, MiBP, MBzP, MCPP, i  $\Sigma$ DEHP sa parametrima glikoregulacije. Žene sa najvišim nivoima MnBP, MiBP, MBzP, MCPP i zbir tri metabolita DEHP (MEHP, MEHHP i MEOHHP) imale su povećanu verovatnoću dijabetesa u poređenju sa ženama sa najnižim nivoom ovih ftalata. Žene sa najvišim kvartalima za MBzP i MiBP su imale skoro duplu verovatnoću dijabetesa. Postojala je inverzna povezanost MBzP sa glikemijom (u najvišem kvartalu glikemija je za 2.27mg/dl niža od najnižeg kvartala), ali ova povezanost nije dostigla statističku značajnost. Sa druge strane MiBP je pokazao pozitivnu povezanost sa glikemijom. Žene sa najvećim kvartalom MiBP su imale za 5.68mg/dl veće vrednosti u poređenju sa ženama u najnižem

kvartalu. Žene sa višim nivoima MiBP imale su više nivoe HOMA-IRI, ali ovo udruženje nije linearno. Isto tako  $\Sigma$ DEHP je imao nemonotonu pozitivnu vezu sa HOMA-IRI, dok veza za ostale metabolite ftalata nisu bile prisutne.

Rasne razlike između povezanosti pojedinih metabolita ftalata sa parametrima glikoregulacije može se objasniti pomoću genske varijacije, kao što su Pro12Ala PPAR-gama gen koji je povezan sa dijabetes melitusom tip 2 [170,171], koji može da varira u zavisnosti od rasne/etničke pripadnosti [172]. Supstitucija prolina u alanin u kodonu 12 doprinosi modulaciji transkripcijske aktivnosti. Ova supstitucija se nalazi uz NH<sub>2</sub>-terminalni kraj proteina u domeni nezavisnoj o ligandu, a aktivnost se pojačava preko fosforilacije insulinom. Zamena aminokiselina Pro12Ala može uticati na strukturu i posledično funkciju proteina jer alanin favorizira formaciju  $\alpha$ -heliksa dok prolin to sprečava.

U prospektivnoj studiji koja je sprovedena među američkim medicinskim sestrama [135], utvrđena je pozitivna asocijacija urinarnih koncentracija ukupnih ftalatnih metabolita sa incidencom DM tip 2 među sredovečnim ženama, ali ne i među starijim koleginicama. Takođe, sumirano metaboliti butil ftalata (MBP, MiBP, MBzP) ili DEHP (MEHP, MEHHP, MECPP i MEOHP) su značajno povezani sa DM tip 2 samo među sredovečnim ženama.

U studiji na meksičkim ženama potvrđano je da nivo ftalatnih metabolita veći kod žena obolelih od dijabetesa, nego bez šećerne bolesti. Ti rezultati ukazuju da ftalati mogu da imaju uticaj na razvoj dijabetesa [111]. Studijsku grupu je predstavljala 221 žena, pri čemu su sve žene bile sličnih godina (54 $\pm$ 5 godina razlike). Žene sa dijabetesom su same otkrile bolest, tj. bolest je otkrivena pre studije i takvih žena je bilo 39 (17,4%) i one su bile značajno starije, manje obrazovane i gojaznije u odnosu na žene bez dijabetesa. U sakupljenim uzorcima urina su određivane koncentracije 9 ftalatnih metabolita. Kod žena sa dijabetesom su pronađene značajno više koncentracije DEHP metabolita: MEHHP, MEOHP i MECPP, ali je pronađena niža koncentracija MBzP (metabolit benzil-butil ftalata) u poređenju sa ženama bez dijabetesa. U ovoj studiji  $\Sigma$ DEHP je bio povezan sa insulinskom rezistencijom kod žena koje nisu prijavile dijagnozu dijabetesa. Jer otpornost na insulin često prethodi dijabetes melitusu tip 2, a ovaj nalaz sugeriše da DEHP može uticati na rizik za dijabetes melitus tip 2 putem insulinske rezistencije. Postoji nekoliko činjenica u vezi date studije koje se moraju razmotriti.

Neke žene koje su bile u pre-dijabetesnom stanju ili već imale dijabetes su možda klasifikovane kao osobe bez dijabetesa, jer se do odgovora o postojanju bolesti dolazilo samo na osnovu upitnika. Mali broj uzoraka je onemogućio pronalaženje preciznijeg statističkog proračuna. Ftalati su određivani iz samo jednog uzorka urina, što i ne može predstavljati najrealniju sliku izloženosti uticaju ftalata i zato mnoge studije ukazuju na važnost jednomesečnog praćenja nivoa koncentracije nivoa ftalata u urinu. Takođe treba uzeti u obzir i to da se ftalati izlučuju i drugim putevima (mleko, saliva, feces), a da njihova koncentracija u urinu zavisi i od dnevnih aktivnosti osobe, načina ishrane, upotrebe kozmetike i drugih faktora. Uprkos ograničenjima u toku izvođenja studije, njeni rezultati predstavljaju važne smernice u daljim istraživanjima. Naredne longitudinalne epidemiološke studije bi trebalo da rade testiranja nivoa ftalata u urinu više puta u toku 1-3 meseca, da bi se dobila preciznija procena izloženosti uticaju ftalata.

Takođe u studiji koju su sproveli Hines i saradnici [158] kod žena u periodu laktacije u SAD-u, majke sa gestacijskim dijabetesom su imale veće koncentracije MECPP u serumu i urinu od majki bez dijabetesa (serum 6.8ng/ml vs. 1.9ng/ml; urin 212.9ng/ml vs. 59.8ng/ml). Nekoliko urinarnih metabolita DEHP (MECPP, MEHP, MEHHP i MEOHP) su imali pozitivnu korelaciju sa serumskom glikozom. Međutim, u rezultatima PIVUS studije [134] istraživači nisu utvrdili povezanost nivoa MEHP sa povećanom incidencom DM, kao ni sa parametrima glikoregulacije.

U studiji sprovedenoj na američkim muškarcima u istraživanju NHANES od 1999.-2002. [10] među metabolitima DEHP, MEHP je pokazao znatno slabiju povezanost sa parametrima glikoregulacije u poređenju sa oksidisanim metabolitima MEHHP i MEOHP.

### **7.6.2.1. Analiza razlika po glikemiji, insulinemiji i insulinskoj rezistenciji između podgrupa gojaznih MEHP pozitivnih i MEHP negativnih**

Naše istraživanje nije utvrdilo statistički značajnu razliku u parametrima glikoregulacije između podgrupa MEHP negativnih i MEHP pozitivnih gojaznih ispitanika u pogledu glikemije, insulinemije i insulinske rezistencije (Tabela 89). Koeficijent diskriminacije upućuje da je razlika koja je postojala bila najveća kod: IRI (0.377), a najmanja kod glikemije (0.016) (Tabela 89). To bi se moglo objasniti činjenicom da su i dugi mehanizmi uključeni u glikoregulaciju kod gojaznih, a opisano je gore u poglavlju Analiza razlika po glikemiji, insulinemiji i insulinskoj rezistenciji između podgrupa gojazni MEP pozitivni i MEP negativni.

### **7.6.2.2. Analiza razlika po glikemiji, insulinemiji i insulinskoj rezistenciji između podgrupa DM tip 2 MEHP pozitivnih i MEHP negativnih**

U našem istraživanju nije potvrđeno postojanje statistički značajne razlike u parametrima glikoregulacije između podgrupa MEHP pozitivnih i MEHP negativnih dijabetičkih bolesnika. Koeficijent diskriminacije ukazuje da je razlika koja je postojala bila najveća kod: IRI(1.243), a najmanja kod HOMA-IRI (0.009) (Tabela 91).

Korelaciona analiza je ukazala na statistički značajnu pozitivnu korelaciju MEHP-a sa glikemijom ( $R=0.404$ ;  $p=0.030$ ) kada su u pitanju MEHP pozitivni sa DM tip 2. Za ostale parametre glikoregulacije korelacije nisu značajne (Tabela 92).

Hao i saradnici [137] su u istraživanju na miševima pokazali da perinatalna izloženost MEHP povećava nivo glikoze za približno 79% u muških potomaka, dok u ženskih potomaka tretman MEHP nije značajno menjao nivo glikoze.

Druge animalne studije, Kwack i saradnika [133], gde su praćeni kratkoročni efekti fetalnih diestera i monoestera kod mužjaka pacova su pokazale da je nivo glikoze u DEHP, MEHP i MBeP grupama značajno veći u poređenju sa kontrolom.

### **7.6.2.3. Analiza razlika po glikemiji, insulinemiji i insulinskoj rezistenciji između podgrupa kontrola MEHP pozitivnih i MEHP negativnih**

U našem istraživanju nije uočena statistički značajna razlika u parametrima glikoregulacije između podgrupa MEHP pozitivnih i MEHP negativnih ispitanika kontrolne grupe u pogledu parametara glikoregulacije (Tabela 94), što je i očekivano s obzirom da su to zdravi ispitanici sa zadovoljavajućom glikoregulacijom. Koeficijent diskriminacije upućuje da je razlika koja je postojala bila najveća kod HOMA-IRI (0.001), a najmanja kod glikemije (0.000) (Tabela 94).

Činilo bi mogli uticati na razvoj dijabetesa na više načina. Vezivanjem za PPAR-gama, ushodno regulišu adipogene gene koji dovode do povećanja gojaznosti u okruženju gde postoji višak kalorija (Grun i Blumberg ) [89]. Ovo može dovesti do rezistencije na insulin i povećanog rizika za dijabetes. Drugi potencijalni put je sposobnost da se vežu za PPAR-alfa (Feige i sar. 2010) [101], koji učestvuju u procesu oksidacije masnih kiselina i kontroli nivoa glikoze u cirkulaciji.

## 8. ZAKLJUČCI

Analizom rezultata sprovedenog ispitivanja definisali smo sledeće zaključke:

- U urinu naših ispitanika prisutan je jedan ili više metabolita ftalata kod polovine ispitanika, što ukazuje na izloženost našeg stanovništva ftalatima.
- Najčešći ftalatni metaboliti u urinima naših ispitanika su MEHP i MEP, dok su ostali analizirani metaboliti ftalata (MMP, MPP, MnBP, MiAP, MnAP, MCHP, MBzP, MOP) prisutni u malom procentu. To ukazuje na ekspoziciju našeg stanovništva DEHP i DEP, kao najčešće korišćenim ftalatima.
- MEP je najčešće prisutan u grupi gojaznih ispitanika, a MEHP u grupi bolesnika sa DM tip 2 u odnosu na zdrave ispitanike.
- Više prosečne vrednosti MEP-a su kod gojaznih i obolelih od dijabetes melitusa tip 2, a MEHP u zdravih ispitanika. Najsličniji po vrednostima MEP-a i MEHP-a su gojazni i oboleli od DM tip 2.
- Sve tri grupe ispitanika imaju više nivoe srednjih vrednosti MEP-a i MEHP-a u urinu u poređenju s podacima iz drugih studija. To ukazuje na veću ekspoziciju naše populacije DEP i DEHP.
- U odnosu na antropometrijske parametere, kada su analizirani svi MEP pozitivni ispitanici nije potvrđena značajna povezanost MEP sa BMI i obimom struka. Gojazni MEP pozitivni u odnosu na MEP pozitivne dijabetesne ispitanike i podgrupu zdravih imaju statistički značajno veće vrednosti obima struka i BMI. Podgrupa MEP pozitivnih pacijenata s DM tip 2 imaju stataistički značajno veće vrednosti obima struka i BMI u odnosu na podgrupu zdravih.

U odnosu na antropometrijske parametre, kada su analizirani svi MEHP pozitivni ispitanici, nije verifikovana značajna povezanost MEHP-a i BMI i obima struka.

Gojazni MEHP pozitivni ispitanici imaju statistički značajno veće vrednosti obima struka i BMI u odnosu na ostale dve MEHP pozitivne podgrupe. Podgrupa MEHP pozitivnih DM tip 2 imaju statistički značajno veće vrednosti obima struka i BMI u odnosu na zdrave ispitanike. Kod MEHP pozitivnih zdravih ispitanika postoji pozitivna povezanost između MEHP i BMI i obima struka. Ona je statistički značajna s obimom struka, što sugeriše na mogući uticaj DEHP na ovaj antropometrijski parametar.

- U odnosu na lipidske i lipoproteinske parametre, kada su analizirani svi MEP pozitivni ispitanici, verifikovana je statistički značajna negativna korelacija MEP-a i HDL holesterola, a nije uočena statistički značajna korelacija sa ostalim lipidima i lipoproteinima seruma. Međutim, kada smo analizirali podgrupe MEP pozitivnih ispitanika samo u grupi gojaznih postoji statistički značajna pozitivna korelacija MEP-a i to s trigliceridima.
- Nije uočena statistički značajna povezanost MEHP-a sa lipidima i lipoproteinima seruma, kada smo analizirali sve MEHP pozitivne ispitanike. Međutim, kada smo analizirali samo podgrupe MEHP pozitivnih ispitanika samo je u podgrupi zdravih ispitanika verifikovana statistički značajna negativna korelacija MEHP-a s HDL holesterolom.
- U odnosu na pokazatelje glikoregulacije, kada su analizirani svi MEP pozitivni ispitanici, verifikovana je statistički značajna pozitivna korelacija MEP-a i HOMA-IRI što sugeriše na moguću vezu DEP-a i rizika od razvoja dijabetesa. Povezanost između MEP-a i glikemije i insulinemije našte nije bila značajna ni u svih MEP pozitivnih ispitanika niti u podgrupama MEP pozitivnih ispitanika.
- U odnosu na pokazatelje glikoregulacije, kada su analizirani svi MEHP pozitivni ispitanici, nije verifikovana statistički značajna povezanost MEHP-a sa glikemijom,



insulinemijom i HOMA-IRI. Ali kada su se analizirale podgrupe MEHP pozitivnih ispitanika samo kod onih s DM tip 2 postoji značajna pozitivna veza između MEHP i glikemije naše.

- Dobijeni rezultati potvrđuju ekspoziciju naše populacije najčešće korišćenim ftalatima-DEP-u i DEHP-u i to mnoge više nego u drugim ispitivanim sredinama. Za ove ftalate postoje dokazi da predstavljaju EDC. Najveća sličnost u pogledu vrednosti ovih ftalatnih metabolite je u gojaznih i dijabetesnih ispitanika, te postojanje značajne povezanosti u pojedinim pogrupama, ne samo gojaznih i dijabetesnih bolesnika, već i zdravih ispitanika, između MEP-a i MEHP-a i posmatranih antropometrijskih parametara, serumskih lipida i lipoproteina, te glikemije i pokazatelja insulinske rezistencije, sugerise da DEP i DEHP mogu imati ulogu u razvoju metaboličkog sindroma i u našoj sredini. Dalja longitudinalna ispitivanja na većem broju ispitanika će doprineti boljem rasvetljavanju uloge DEP i DEHP u nastanku metaboličkih poremećaja.

## 9. SPISAK SKRAĆENICA

DM TIP 2-dijabetes melitus tip 2

KP-arterijski krvni pritisak

SKP-sistolni krvni pritisak

DKP-dijastolni krvni pritisak

OS-obim struka

BMI-*Body mass index*

IDF-međunarodno udruženje za dijabetes

IRI-insulinska rezistencija

HDL-lipoproteini velike gustine

LDL-lipoproteini male gustine

VLDL-lipoproteini vrlo male gustine

TG-trigliceridi

SMK-slobodne masne kiseline

PPAR- $\gamma$  receptor aktiviran proliferatorom peroksizoma gama

PPAR- $\alpha$  receptor aktiviran proliferatorom peroksizoma alfa

GPDH (glicerol-3-fosfat dehidrogenaza)

aP2 (adipocyte-specific fatty acid binding protein)

FAS (fatty acid synthase)

IL-6 Interleukin 6

TNF tumor nekrotizirajući faktor

CETP holesterol ester transfer protein

LCAT lecitin-holesterol-acil-tranferaza

HOMA-IRI- homeostasis model assessment of insulin resistance

MMP- Mono-methyl phthalate/mono-metil ftalat

MEP- Mono-ethyl phthalate/mono-etil ftalat

MBzP- Mono-benzyl phthalate /mono-benzil ftalat

MnBP- Mono-n-butyl phthalate/mono-n-butil ftalat

MiBP- Mono-iso-butyl phthalate/mono-izo-butil ftalat

MiAP- Mono-iso-amyl phthalate/mono-izo-amil ftalat

MnAP- Mono-n-amyl phthalate/mono-n-amil-ftalat

MCHP- Mono-cyclohexyl phthalate/mono-cikloheksil ftalat

MEHP- Mono-2-ethylhexyl phthalate/mono-2 etilheksil ftalat

MEHHP Mono(2-ethyl-5-hydroxyhexyl) phthalate/mono( 2-etil-5 hidroksiheksil) ftalat

MEOHP Mono(2-ethyl-5-oxohexyl) phthalate/mono(2-etil-5 oksoheksil)ftalat

MECPP Mono-(2-ethyl-5-carboxypentyl) phthalate/mono(2-etil-5-karboksipentil)ftalat

MCNP- Mono-carboxynonyl- phthalate/mono-karboksinonil ftalat

MiNP- Mono-iso-nonyl phthalate/mono-izo-nonil ftalat

MCOP- Mono-carboxyoctyl- phthalate/mono-carboksioktil ftalat

M CPP- Mono-(3-carboxypropyl) phthalate/mono-3 karboksipropil ftalat

MOP- Mono-n-octyl phthalate/mono-n-oktil ftalat

MPP- Mono-n-propyl phthalate/mono-n-propil ftalat

DMP- Di-methyl- phthalate/ di-metil ftalat

DEP- Di-ethyl –phthalate/ di-etil ftalat  
DBP- Di- n-buthyl- phthalate/ di-n-butil ftalat  
DINP-Di-iso nonyl phthalate/ di-izo-nonil ftalat  
BBzP- Butyl-benzyl- phthalate/ butil- benzyl ftalat  
DEHP- Di-2-ethyl-hexyl phthalate/di-2 etil-heksil ftalat  
DiBP di-iso butyl phthalate/di-izo butyl ftalat  
DnBP di-n-butyl phthalate/di-n-butil ftalat  
DNOP- Di–n-octyl- phthalate/ di-n-oktil ftalat  
DiDP-Di-isodecil-phthalate/di-izodecil ftalat  
DnAP-Di-n-amyl- phthalate/di-n-amil-ftalat  
DiAP-Di-iso-amyl- phthalate/di-izo-amil –ftalat  
DPP- Di-n-propyl –phthalate/ di-n-propil ftalat  
DCHP- Di-ciklohexyl- phthalate /di-cikloheksil ftalat  
EFSA- European Food Safety Authority  
US EPA –US Environmental Protection Agency  
MRA-magnetna rezonanca  
DXA- dvostruka apsorpcija X-zracima

## 10. LITERATURA

1. Newbold RR. Impact of environmental endocrine disrupting chemicals on the development of obesity. *Hormones (Athens)* 2010;9(3):206-17
2. Baillie-Hamilton PF. Chemical toxins: a hypothesis to explain the global obesity epidemic. *J Altern Complement Med* 2002;8:185-92
3. Blount BC, Silva MJ, Caudill SP, Needham LL, Pirkle JL, Sampson EJ, et al. Levels of seven urinary phthalate metabolites in a human reference population. *Environ Health Perspect* 2000;108(10):979-82
4. Koo JW, Parham F, Kohn MC, Masten SA, Brock JW, Needham LL, et al. The association between biomarker-based exposure estimates for phthalates and demographic factors in a human reference population. *Environ Health Perspect* 2002 Apr;110(4):405-10.
5. Silva MJ, Barr DB, Reidy JA, Malek NA, Hodge CC, Caudill SP et al. Urinary levels of seven phthalate metabolites in the U.S. population from the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 1999-2000. *Environ Health Perspect* 2004;112:331-38
6. ECHC. Denmark prepared restriction report on: Four classified phthalates (DEHP, BBP, DBP and DIBP). 2011. <http://www.echa.europa.eu>
7. ATSDR 2002. Toxicological Profile for Di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP). Atlanta: Agency for Toxic Substances and Disease Registry. <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles>
8. Feige JN, Gelman L, Rossi D, Zoete V, Metivier R, Tudor C, et al. The endocrine disruptor monoethyl-hexyl-phthalate is a selective peroxisome proliferator-activated receptor gamma modulator that promotes adipogenesis. *J Biol Chem* 2007;282:19152-66

9. Hatch EE, Nelson JW, Qureshi MM, Weinberg J, Moore LL, Singer M, et al. Association of urinary phthalate metabolite concentrations with body mass index and waist circumference: a cross-sectional study of NHANES data, 1999–2002. *Environ Health* 2008; 7:27
10. Stahlhut RW, Wijngaarden E, Dye TD, Cook S, Swan SH. Concentrations of Urinary Phthalate Metabolites Are Associated with Increased Waist Circumference and Insulin Resistance in Adult U.S. Males. *Environ Health Perspect* 2007; 115(6):876-82
11. ECHA. Evaluation of new scientific evidence concerning the restrictions contained in Annex XVII to regulation (EC) No 1907/2006 (REACH) <http://www.echa.europa.eu>
12. Pravilnik o ograničenjima i zabranama proizvodnje, stavljanja u promet i korišćenjav hemikalija koje predstavljaju neprihvatljiv rizik po zdravlje ljudi i životnu sredinu. 2011; <http://www.cis.org.rs/propisi>
13. COMMISSION DIRECTIVE 2004/93/EC of 21 September 2004 amending Council Directive 76/768/EEC for the purpose of adapting its Annexes II and III to technical progress [http:// www.dehp-facts.com/upload/](http://www.dehp-facts.com/upload/)
14. Shaw JE, Sicree R, Zimmet PZ. Global estimates of the prevalence of diabetes from 2010 and 2030. *Diabetes Atlas. Diabetes Res Clin Pract* 2010;4-14.
15. Incidencija i mortalitet od dijabetesa u Srbiji 2010. Registar za dijabetes u Srbiji. Institut za javno zdravlje Srbije; Beograd, <http://www.batut.org.rs>
16. Ministarstvo zdravlja Republike Srbije. Istraživanje zdravlja stanovnika Republike Srbije, 2006. godina. Osnovni rezultati. Ministarstvo zdravlja Republike Srbije; Beograd, 2007; 18-24 <http://batut.org.rs>
17. Kelley KE, Hernández-Díaz S, Chaplin EL, Hauser R, Mitchell AA. Identification of Phthalates in Medication and Dietary Supplement Formulations in the U.S and Canada. *Environ Health Perspect* 2012; 120(3): 379–84
18. Latini G. Monitoring phthalate exposure in humans. *Clin Chim Acta* 2005; 361(1-2):20-9
19. Peijnenburg WJGM, Struijs J. Occurrence of phthalates esters in the

environment of the Netherlands. *Ecotox Environ Safety* 2006; 204-15

20. Phthalates

<http://en.wikipedia.org/wiki/Phthalate>

21. Phthalates and Cumulative Risk

Assessment: The Task, National Academies

Press, Washington, D.C. 20001

<http://nationalacademies.org/best>

22. Koo HJ, Lee BM. Estimated exposure to phthalates in cosmetics and risk assessment. *J Toxicol Environ Health A* 2004; 67:1901-14

23. Buckley JP, Palmieri RT, Matuszewski JM, Herring AH, Baird DD, Hartmann KE, et al. Consumer product exposures associated with urinary phthalate levels in pregnant women. *J Expo Sci Environ Epidemiol* 2012 Sep; 22(5):468-75

24. Colacino JA, Harris TR, Schechter A. Dietary intake is associated with phthalate body burden in a nationally representative sample. *Environ Health Perspect* 2010; 118(7):998-1003

25. Suzuki T, Yaguchi K, Suzuki S. Monitoring of Phthalic Acid Monoesters in River Water by Solid-Phase Extraction and

GC-MS Determination. *Environ Sci Technol* 2001; 35:3757-63

26. Balafas D, Skaw KJ, Whitfield FB. Phthalate and adipate esters in Australian packaging materials. *Food Chem* 1999; 65:279-87

27. Earls AO, Axford IP, Braybrook JH. Gas chromatography-mass spectrometry determination of the migration of phthalate plasticisers from polyvinyl chloride toys and childcare articles. *J Chromatogr A* 2003; 983:237-46

28. Bošnjir J, Puntarić D, Galić A, Škes I, Dijanić T, Klarić M, et al. Migration of phthalates from plastic containers into soft drinks and mineral water. *Food Technol Biotechnol* 2007; 45:91-5

29. Calafat AM, Slakman AR, Silva MJ, Herbert AR, Needham LL. Automated solid phase extraction and quantitative analysis of human milk for 13 phthalate metabolites. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2004; 805:49-56

30. Silva MJ, Slakman AR, Reidy JA, Preau JL, Herbert AR, Samandar E, Needham LL, Calafat AM. Analysis of human urine for fifteen phthalates metabolites using automated

solid-phase extraction. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2004;805:161-7

31. Fromme H, Lahrz T, Piloty M, et al. Occurrence of phthalates and musk fragrances in indoor air and dust from apartments and kindergartens in Berlin (Germany). *Indoor Air* 2004; 14:188-95

32. CDC (Centers for Disease Control and Prevention) Third National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals, Department of Health and Human Services. 2005; <http://www.jhsph.edu>

33. Chang BV, Yang CM, Cheng CH, Yuan SY. Biodegradation of phthalate esters by two bacteria strains. *Chemosphere* 2004; 55:533–38

34. Liang DW, Zhung T, Fang HHP. Phthalates biodegradation in the environment. *Appl Microbiol Biotechnol* 2008;80:183-98

35. World Health Organization (WHO). Guidelines for Drinking Water Quality. Chapter 8:Chemical Aspects. 4<sup>th</sup> ed

Geneva:World Health Organization; 2011. <http://whqlibdoc.who.int>

36. US Environmental Protection Agency. Water:Basic Information about Regulated Drinking Water Contaminants. [http://water.epa.gov/drink/contaminats/basicinformation/di\\_2\\_ethylhexyl\\_phthalate.cfm](http://water.epa.gov/drink/contaminats/basicinformation/di_2_ethylhexyl_phthalate.cfm)

37. Bornehag CG, Sundell J, Weschler CJ, Sigsgaard T, Lundgren B, Hasselgren M et al. The Association between Phthalates in Dust and Allergic Diseases among Bulgarian Children. *Environ Health Perspect* 2008; 116:98–103

38. Schettler T. Human exposure to phthalates via consumer products. *Inter J Androl* 2006;134-39

39. Elsis AE, Carter DE, Sipes IG. Dermal absorption of phthalate diesters in rats. *Fundam Appl Toxicol* 1989;12:70–7

40. Leitz J, Kuballa T, Rehm J, Lachenmeier DW. Chemical analysis and risk assessment of diethyl phthalate in alcoholic beverages with special regard to unrecorded alcohol. *PloS ONE* 2009;4:e8127

41. Caldwell DJ. Review of mononuclear cell leukemia in F-344 rat bioassays and its significance to human cancer risk: A case



study using alkyl phthalates. Regul Toxicol Pharmacol. 1999 Aug;30(1):45-53

42. Survey and Health Assessment of the exposure of 2 year-olds to chemical substances in Consumer Product. Survey of Chemical Substances in Consumer Products. Danish Ministry of the Environment, Environmental Protection Agency, No. 102, 2009

43. CDC (Centers for Disease Control and Prevention) Fourth National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals, Updates Tables.2011.  
<http://www.cdc.gov/exposurereport/>

44. ATSDR 2002. Toxicological Profile for Di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP). Atlanta:Agency for Toxic Substances and Disease Registry.  
<http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles>

45. Bang DY, Lee IK, Lee BM. Toxicological Characterization of Phthalic Acid. Toxicol Res 2011;27(4):191-203

46. Zhu J, Phillips SP, Feng YL, Yang X. Phthalate Esters in Human Milk: Concentration Variations over a 6-Month

Postpartum Time. Environ Sci Tehnol 2006; 40(17):5276-81

47. Frederiksen H, Skakkebaek NE, Andersson AM. Metabolism of phthalates in humans. Mol Nutritio Food Research 2007; 51(7):899-91

48. Wittassek M, Angerer J. Phthalates: metabolism and exposure. Inter J Androl 2008; 31: 131-38

49. Koch HM, Bolt HM, Angerer J. Di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP)metabolites in human urine and serum after a single oral dose of deuterium-labeled DEHP. Arch Toxicol 2004;78(3):123-30

50. Koch HM, Bolt HM, Preuss R, Angerer J. New metabolites of di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP)metabolites in human urine and serum after single oral dose of deuterium-labeled DEHP. Arch Toxicol 2005; 79(7):367-76

51. Koch HM, Angerer J. Di-iso nonylphthalate (DINP) metabolites in human urine after a single oral dose of deuterium-labelled DINP. Int J Hyg Environ Health 2007; 210 (1):9-19

52. Walter J, Crinnion ND. Toxic Effects of the Easily Avoidable phthalates and parabens. *Altern Med Rev* 2010; 15(3):190-96
53. Tabb MM, Blumberg B. New modes of action for endocrine-disrupting chemicals. *Molecular Endocrinology* 2006; 20(3): 475–82
54. Swednberg E, Rüegg J, Mäkelä S, Pongratz I. Endocrine disruptive chemicals: mechanisms of action and involvement in metabolic disorders. *J Mol Endocrinol* 2009;43(1):1-10
55. Nakamura R, Teshima R, Sawada J. Effect of dialkylphthalates on the degranulation and Ca<sup>2+</sup> response of RBL-2H3 mast cell. *Immunol Lett* 2002 Feb 1;80(2):119-24
56. Vetrano AM, Laskin DL, Archer F, Syed K, Gray JP, Laskin JD, et al. Inflammatory effects of phthalates in neonatal neutrophils. *Pediatric Res* 2010 Aug; 68(2):134-9
57. Koike E, Yanagisawa R, Sadakane K, Inoue K, Ichinose T, Takano H. Effects of diisononyl phthalate on atopic dermatitis in vivo and immunologic responses in vitro. *Environ Health Perspect* 2010 Apr; 118(4):472-8
58. Hoppin JA, Ulmer R, London SJ. Phthalate exposure and pulmonary function. *Environ Health Perspect* 2004 Apr;112(5):571-4
59. Ait Bamai Y, Shibata E, Saito I, Araki A, Kanazawa A, Morimoto K, et al. Exposure to house dust phthalates in relation to asthma and allergies in both children and adults. *Sci Total Environ* 2014 Jul; 1:485-86
60. Bornehag CG, Sundell J, Weschler CJ, Sigsgaard T, Lundgren B, Hasselgren M, Hägerhed-Engman L. The association between asthma and allergic symptoms in children and phthalates in house dust: a nested case-control study. *Environ Health Perspect* 2004 Oct;112(14):1393-7
61. Magliozzi R, Nardacci R, Scarsella G, Di Carlo V, Stefanini S. Effects of the plasticiser DEHP on lung of newborn rats: catalase immunocytochemistry and morphometric analysis. *Histochem Cell Biologi* 2003;120 (1):41-9

62. Latini G, Felice CD, Presta G, Rosati E, Vacca P. Minimal handling and bronchopulmonary dysplasia in extremely low-birth-weight infants. *Eur J Pediatr* 2003;162:227-29
63. Swan SH, Liu F, Hines M, Kruse RL, Calafat AM, Wiess B. Prenatal phthalate exposure and reduced masculine play in boys. *Int J Androl* 2010;33(2):259-69
64. Li C, Guango-tao Y, Dan W, Na-na G, Shu-mao D. A Study on DNA Beaks in Brain Gold Crucian Carp Induced by Di (2-ethylhexyl) Phthalates. *Bioinform and Biomedic Engin* 2009. 3<sup>rd</sup> international Conference
65. Andrade AJ, Grande SW, Talseness CE, Grote K, Chahoud I. A dose-response study following in utero and lactational exposure to di-(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP): Non-monotonic dose-response and low effects on rat brain aromatase activity. *Toxicology* 2006 Oct;227(3):182-92
66. Bisset KM, Dhopeswarkar AS, Liao C, Nicholson RA. The G protein-coupled cannabinoid-1 (CB1) receptor of mammalian brain: Inhibition by phthalate esters in vitro. *Neurochem Int* 2011 Oct;59(5):706-13
67. DiGangi J, Schetter T, Cobbing M, Rossi M. Aggregate Exposure to Phthalates in Humans. *Health Care Without Harm* 2002;15
68. von Rettberg H, Hanman T, Subotic U, Brade J, Schaible T, Waag KL, et al. Use of Di(2-Ethylhexyl)Phthalate-Containing Infusion Systems Increases the Risk for Cholestasis. *Pediatrics* 2009;124:710-16
69. Rusyn I, Peters JM, Cunningham ML. Effects of DEHP in the liver: Modes of action and species-specific differences. *Crit Rev Toxicol* 2006 May;36(5):459-79
70. Kaufmann W, Deckardt K, McKee RH, Butala JH, Bahnemann R. Tumor induction in mouse liver: di-isonolyl phthalates acts via peroxisome proliferation. *Regul Toxicol Pharmacol* 2002 Oct;36(2):175-83
71. Seo KW, Kim KB, Kim YJ, Choi JY, Lee KT, Choi KS. Comparison of oxidative stress and changes of xenobiotic metabolizing enzymes induced by phthalates in rats. *Toxicol* 2004 Jan;42(1):107-14

72. Warren JR, Lalwani ND, Reddy JK. Phthalate esters as peroxisome proliferator carcinogens. *Envir Health Perspect* 1982;45:35-40
73. Kim IY, Han SY, Moon A. Phthalates Inhibit Tamoxifen-Induced Apoptosis in MCF-7 Human Breast Cancer Cell. *J Toxicol Environ Health A* 2004; 67(23-24):2025-35
74. Kleinsasser NH, Harreus UA, Kastenbauer ER, Wallner BC, Sassen AW, Staudenmaier R, et al. Mono(2-ethylhexyl)phthalate exhibits genotoxic effects in human lymphocytes and mucosal cells of the upper aerodigestive tract in the comet assay. *Toxico Lett* 2004 May;148(1-2):83-90
75. Fisher JS. Are all EDC effects mediated via steroid hormone receptors? *Toxicol Sci* 2004 Dec;205(1-2):33-41
76. Keith LH. Environmental endocrine disruptors. *Pure Appl Chem* 1998; 70(12): 2319-26
77. McLachlan JA. Environmental signaling: what embryos and evolution teach us about endocrine disrupting chemicals. *Endocr Rev* 2001;22:319-41
78. Guillette LJ Jr. Endocrine disrupting contaminants – Beyond the dogma. *Environ Health Perspect* 2006;114(1): 9-12
79. Diamanti-Kandarakis E, Bourguignon JP, Giudice LC, Hauser R, Prins GS, Soto AM, Thomas Zoeller RT, et al. Endocrine-Disrupting Chemicals: An Endocrine Society Scientific Statement. *Endocr Rev* 2009; 30(4):293–342
80. Sheehan DM, Willingham EJ, Bergeron JM, Osborn CT, Crews D. No threshold dose for estradiol-induced sex reversal of turtle embryos: how little is too much? *Environ Health Perspect* 1999;107:155–59
81. vom Saal FS, Akingbemi BT, Belcher SM, Birnbaum LS, Crain DA, Eriksen M, et al. Chapel Hill bisphenol A expert panel consensus statement: integration of mechanisms, effects in animals and potential to impact human health at current levels of exposure. *Reprod Toxicol* 2007;24(2):131–38

82. Swan SH, Main KM, Liu F, Stewart SL, Kruse RL, Calafat AM, et al. Decrease in anogenital distance among male infants with prenatal phthalate exposure. *Environ Health Perspect* 2005;113:1056-61
83. Upson K, Sathyanarayana S, De Roos AJ, Thompson ML, Scholes D, Dills R, Holt VL. Phthalates and risk of endometriosis. *Environ Res.* 2013 Oct;126:91-7
84. Huang PC, Tsai EM, Li WF, Liao PC, Chung MC, Wang YH, et al. Association between phthalate exposure and glutathione S-transferase M1 polymorphism in adenomyosis, leiomyoma and endometriosis. *Hum Reprod* 2010;25(4):986-94
85. Howarth JA, Price SC, Dobrota M, Kentish PA, Hinton RH. Effects on male rats of di-(2-ethylhexyl) phthalate and di-n-hexylphthalate administered alone or in combination. *Toxicol Lett* 2001 Apr 8;121(1):35-43
86. Gayathri NS, Dhanya CR, Indu AR, Kurup PA. Changes in some hormones by low doses of di (2-ethyl hexyl) phthalate (DEHP), a commonly used plasticizer in PVC blood storage bags & medical tubing. *Indian J Med Res* 2004 Apr;119(4):139-44
87. Meeker JD, Ferguson KK. Relationship between urinary phthalate and bisphenol A concentrations and serum thyroid measures in U.S. adults and adolescents from the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2007-2008. *Environ Health Perspect* 2011 Oct;119(10):1396-402
88. Ebbeling CB, Pawlak DB, Ludwig DS. Childhood obesity: public-health crisis, common sense cure. *Lancet.* 2002;360:473-482
89. Grun F, Blumberg B. Environmental obesogens: organotins and endocrine disruption via nuclear receptor signaling. *Endocrinology* 2006;147:50-55
90. Heindel JJ. Endocrine disruptors and the obesity epidemic. *Toxicol Sci* 2003;76:247-49

91. Kuenzli S, Saurat JH. Peroxisome proliferator-activated receptors in cutaneous biology. *Br J Dermatol* 2003;149(2):229-36
92. Ferre P. The biology of peroxisome proliferator-activated receptors: relationship with lipid metabolism and insulin sensitivity. *Diabetes* 2004;53:43-50
93. Rosen ED, Sarraf P, Troy AE, Bradwin G, Moore K, Milstone DS, Spiegelman BM, Mortensen RM. PPAR gamma is required for the differentiation of adipose tissue in vivo and in vitro. *Mol Cell* 1999;4:611-7
94. Vergotine Z, Yako YY, Kengne AP, Erasmus RT, Matsha TE. Proliferator-activated receptor gamma Pro12Ala interacts with the insulin receptor substrate 1 Gly972Arg and increase the risk of insulin resistance and diabetes in the mixed ancestry population from South Africa. *BMC Genet* 2014 Jan 21;15:10
95. Gacka M, Adamiec R. Mutations of peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARgamma): clinical implications. *Postepy Hig Med Dosw* 2004;58:483-9
96. Goldberg RB. The new clinical trials with thiazolidinediones--DREAM, ADOPT, and CHICAGO: promises fulfilled? *Curr Opin Lipidol* 2007;18:435-42
97. Wang YX. PPARs: Diverse Regulators in Energy Metabolism and Metabolic Diseases. *Cell Res* 2010; 20(2):124-37
98. Seo KW, Kim KB, Kim YJ, Choi JY, Lee KT, Choi KS. Comparison of oxidative stress and changes of xenobiotic metabolizing enzymes induced by phthalates in rats. *Food Chem Toxicol* 2004;42(1):107-14
99. Barrett JR. To each his own: DEHP yields species-specific metabolic phenotypes. *Environ Health Perspect* 2010 Feb;118(2):A81
100. Sakurai T, Miyazawa S, Hashimoto T. Effects of di-(2-ethylhexyl)phthalate

administration on carbohydrate and fatty acid metabolism in rat liver. *J Biochem* 1978; 83: 313-20

101. Feige J, Gerber A, Casals-Casas C, Yang Q, Winkler C, Bedu E, et al. The pollutant diethylhexyl phthalate regulates hepatic energy metabolism via species-specific PPARalpha-dependent mechanisms. *Environ Health Perspect* 2010;118:234-41

102. Gray LE Jr, Ostby J, Furr J, Price M, Veeramachaneni DN, Parks L. Perinatal exposure to the phthalates DEHP, BBP, and DINP, but not DEP, DMP, or DOTP, alters sexual differentiation of the male rat. *Toxicol Sci* 2000;58:350-65

103. Levin BE. Metabolic imprinting: critical impact of the perinatal environment on the regulation of energy homeostasis. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2006;361:1107-21

104. Bjorntorp P. Body fat distribution, insulin resistance, and metabolic diseases. *Nutrition* 1997;13(9):795-803

105. Hatch EE, Nelson JW, Stahlhut EW, Webster TF. Association of endocrine disruptors and obesity: perspectives from epidemiological studies. *Int J Androl* 2010;33(2):324-32

106. Masuo Y, Ishido M, Morita M, Oka S. Effects of neonatal treatment with 6-hydroxydopamine and endocrine disruptors on motor activity and gene expression in rats. *Neural Plast* 2004;11:59-76

107. Ye X, Pierik FH, Hauser R, et al. Urinary metabolite concentrations of organophosphorous pesticides, bisphenol A and phthalates among pregnant women in Rotterdam, the Netherlands: The Generation R Study. *Environ Res* 2008;108:260-67

108. Lin Y, Wei J, Li Y, Chen J, Zhou Z, Song L, et al. Developmental exposure to di(2-ethylhexyl) phthalate impairs endocrine pancreas and leads to long-term adverse effects on glucose homeostasis in the rat. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2011 Sep;301(3):E527-38

109. Martineli MI, Mocchiutti NO, Bernal CA. Dietary di(2-ethylhexyl)phthalate-impaired glucose metabolism in experimental animals. *Hum Exp Toxicol* 2006;25(9):531-8

110. Boberg J, Metzdorff S, Wortziger R, Axelstad M, Brokken L, Vinggaard A M. et al. Impact of diisobutyl phthalate and other PPAR agonists on steroidogenesis and plasma insulin and leptin levels in fetal rats. *Toxicology* 2008;250:75-81
111. Svensson K, Hernández-Ramírez RU, Garcia AB, Cebrian ME, Calafat AM, Needham LL et al. Phthalate exposure associated with self-reported diabetes among Mexican women. *Env Res* 2011; 111(6):792-96
112. Waist Circumference and Waist-Hip Ratio. Report of a WHO Expert Consultation. Geneva:2008;20-30
113. Diabetes mellitus: Nacionalni vodič kliničke prakse. Radna grupa za dijabetes:Lalić N i sar. Beograd, 2002
114. Hagstromer M, Oja P, Sjastrom M. The International Physical Activity Questionnaire (IPAQ): a study of concurrent and construct validity. *Public Health Nutr* 2006 Sep;9(6):755-62
115. DiPietro L. Physical activity in the prevention of obesity: current evidence and research issues. *Med Sci Sports Exerc* 1999; 31(11):S542–6.
116. Lynch J, Helmrich SP, Lakka TA, Kaplan GA, Cohen RD, Salonen R, et al. Moderately intense physical activities and high levels of cardiorespiratory fitness reduce the risk of non-insulin-dependent diabetes mellitus in middle-aged men. *Arch Inter Med* 1996; 156(12):1307–14
117. Venditti EM. Efficacy of lifestyle behavior change programs in diabetes. *Curr Diab Rep* 2007; 7(2):123–7
118. *WHO*. Prevalence of insufficient physical activity. [http://www.who.int/gho/ncd/risk\\_factors/physical\\_activity\\_text/en](http://www.who.int/gho/ncd/risk_factors/physical_activity_text/en)
119. Ananthappan M, Nair MRR, Balaji H. An insight into diabetes – A short review. *Int J Med Sci Public Health* 2014;3(4):387-89
120. Caglayan E, Blaschke F, Takata Y, Hsueh WA. Metabolic syndrome- interdependence of the cardiovascular and metabolic pathways. *Curr Opin Pharmacol* 2005; 5:135-42



121. McGarry JD. Banting lecture 2001: dysregulation of fatty acid metabolism in the etiology of type 2 diabetes. *Diabetes* 2002; 51: 7–18
122. Ordovas JM, Corella D. Metabolic syndrome pathophysiology: the role of adipose tissue. *Kidney Int* 2008; 74:10-14
123. CDC (Centers for Disease Control and Prevention) Fourth National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals, Updates Tables Septembers 2013. <http://www.cdc.gov/exposurereport/>
124. Jönsson BA, Richthoff J, Rylander L, Giwercman A, Hagmar L. Urinary phthalate metabolites and biomarkers of reproductive function in young men. *Epidemiology* 2005;16(4):487-93
125. Hoppin JA, Brock JW, Davis BJ, Baird DD. Reproducibility of urinary phthalate metabolites in first morning urine samples. *Environ Health Perspect* 2002;110:515–18
126. Wittassek M, Wiesmüller GA, Koch HM, Eckard R, Dobler L, Helm D, et al. Internal phthalate exposure over the last two decades—A retrospective human biomonitoring study. *Int J Hyg Environ Health* 2007;210 (3-4): 319-33
127. Göen T, Dobler L, Koschorreck J, Müller J, Wiesmüller G A, Drexler H, et al. Trends of the internal phthalate exposure of young adults in Germany - Follow-up of a retrospective human biomonitoring study. *Int J Hyg Environ Health* 2011;215(1):36-45
128. Zota AR, Calafat AM, Woodruff TJ. Temporal Trends in Phthalate Exposures: Findings from the National Health and Nutrition Examination Survey, 2001–2010. *Environ Health Perspect* 2014;122(3):235-41
129. Campaign for Safe Cosmetics. Market Shift: The Story Of The Compact For Safe Cosmetics And The Growth In Demand For Safe Cosmetics. 2011. <http://safecosmetics.org/article.php>
130. Houlihan J, Brody C, Schwan B. Not Too Pretty: Phthalates, Beauty Products, and the FDA. Environmental Working Group. 2002
131. Serrano SE, Braun J, Trasande L, Dills R, Sathyanarayana S. Phthalates and diet: a review of the food monitoring and epidemiology data. *Environ Health* 2014 Jun 2;13(1):43

132. Tayer KA, Heindel JJ, Bucher JA, Gallo MA. Role of environmental chemicals in diabetes and obesity: a National Toxicology Program Workshop review. *Environ Health Perspect* 2012;120(6):779-89
133. Kwack SJ, Han EY, Park JS, Bac JY, Ahn IY, Lim SK et al. Comparison of the Short Term Toxicity of Phthalate Diesters and Monoesters in Sprague-Dawley Male Rats. *Toxicol Res* 2010;26(1):75-82
134. Lind PM, Zethelius B, Lind L. Circulating levels of phthalate metabolites are associated with prevalent Diabetes in the Elderly. *Diabetes Care* 2012;35(7):1519-24
135. Sun Q, Cornelis MC, Townsend MK, Tobias DK, Eliassen AH, Franke AA, Hauser R, Hu FB. Association of Urinary Concentrations of Bisphenol A and Phthalate Metabolites with Risk of Type 2 Diabetes: A Prospective Investigation in the Nurses' Health Study (NHS) and NHSII Cohorts. *Environ Health Perspect* 2014;122(6):616-23
136. Eyre H, Kahn R, Robertson RM; ACS/ADA/AHA Collaborative Writing Committee. Preventing cancer, cardiovascular disease, and diabetes: a common agenda for the American Cancer Society, the American Diabetes Association, and the American Heart Association. *CA Cancer J Clin* 2004;54(4):190-207
137. Hao C, Cheng X, Xia H, Ma X. The endocrine disruptor mono-(2-ethylhexyl) phthalate promotes adipocyte differentiation and induces obesity in mice. *Biosci Rep* 2012;32(6):619-29
138. Badman MK, Pissios P, Kennedy AR, Koukos G, Flier JS, Maratos-Flier E. Hepatic fibroblast growth factor 21 is regulated by PPARalpha and is a key mediator of hepatic lipid metabolism in ketotic states. *Cell Metab* 2007;5(6):426-37
139. Berger J, Moller DE. The mechanisms of action of PPARs. *Annu Rev Med* 2002;53: 409-35
140. Barber ED, Astill BD, Moran EJ, Schneider BF, Gray T J, Lake BG, et al. Peroxisome induction studies on seven phthalate esters. *Toxicol Ind Health* 1987;3(2): 7-24
141. Cornu MC, Lhuguenot JC, Brady AM, Moore R, Elcombe CR. Identification of the

- proximate peroxisome proliferator(s) derived from di (2-ethylhexyl) adipate and species differences in response. *Biochem Pharmacol* 1992;43(10):2129–34
142. Pereira-Fernandes A, Demaegdt H, Vandermeiren K, Hectors TL, Jorens PG, Blust R, et al. Evaluation of a screening system for obesogenic compounds: screening of endocrine disrupting compounds and evaluation of the PPAR dependency of the effect. *PLoS One* 2013;8(10):e77481
143. Desvergne B, Feige JN, Casals-Casas C. PPAR-mediated activity of phthalates: A link to the obesity epidemic? *Mol Cell Endocrinol* 2009;304(1-2):43-8
144. Campioli E, Martinez-Arguelles DB, Papadopoulos V. In utero exposure to the endocrine disruptor di-(2-ethylhexyl) phthalate promotes local adipose and systemic inflammation in adult male offspring. *Nutr Diabetes* 2014;4:e115
145. Song Y, Hauser R, Hu FB, Franke AA, Liu S, Sun Q. Urinary concentrations of bisphenol A and phthalate metabolites and weight change: a prospective investigation in US women. *Int J Obes (Lond)* 2014; 38(12):1532-7
146. Stroheker T, Cabaton N, Nourdin G, Régnier JF, Lhuguenot JC, Chagnon MC. Evaluation of anti-androgenic activity of di-(2ethylhexyl)phthalate. *Toxicology* 2005;208(1):115–21
147. Lind PM, Roos V, Rönn M, Johansson L, Ahlström H, Kullberg J, et al. Serum concentrations of phthalate metabolites are related to abdominal fat distribution two years later in elderly women. *Environ Health* 2012 Apr 2;11:21
148. Mapuskar K, Pereira C, Rao CV. Dose-dependent sub-chronic toxicity of diethyl phthalate in female Swiss mice. *Regul Toxicol Pharmacol* 2006; 45 :169–77
149. Sonde V, D'Souza A, Tarapore R, Pereira L, Khare MP, Sinkar P, et al. Simultaneous administration of diethylphthalate and ethyl alcohol and its toxicity in male Sprague Dawley rats. *Toxicology* 2000;147:23–31
150. Olsén L, Lind L, Lind PM. Associations between circulating levels of bisphenol A and phthalate metabolites and coronary risk in the elderly. *Ecotoxicol Environ Saf* 2012;80:179-83

151. Ivković-Lazar T, Lepšanović L, Babić Lj, Stokić E, Tešić D, Medić-Stojanoska M. Metabolički sindrom X-povodom četiri slučaja. *Med Pregl* 1992;5-6:210-14
152. Conroy RM, Pyörälä K, Fitzgerald AP, Sans S, Menotti A, DE Backer G, et al. Estimation of ten-year risk of fatal cardiovascular disease in Europe: the SCORE project. *Eur Heart J* 2003 Jun;24(11):987-1003
153. Bell FP, Patt CS, Brundage B, Gillies PJ, Phillips WA. Studies on lipid biosynthesis and cholesterol content of liver and serum lipoproteins in rats fed various phthalate esters. *Lipids* 1978;13(1):66-74
154. Martinelli MI, Mocchiutti NO, Bernal CA. Effect of di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) on lipolysis and lipoprotein lipase activities in adipose tissue of rats. *Hum Exp Toxicol* 2010; 29: 739-45.
155. Stocco DM. Tracking the role of a StAR in the sky of the new Millennium. *Mol Endocrinol* 2001; 15(8):1245-54
156. Ginsberg HN, Stalenhoef AF. The metabolic syndrome: targeting dyslipidemia to reduce coronary risk. *J Cardiovasc Risk* 2003;10(2):121-8
157. Stokić E. Gojaznost je bolest koja se leči. *N.Sad* 2004;35-8
158. Hines EP, Calafat AM, Silva MJ, Mendola P, Fenton SE. Concentrations of phthalate metabolites in milk, urine, saliva, and Serum of lactating North Carolina women. *Environ Health Perspect* 2009;117(1): 86–92
159. Griffiths WC, Camara PD, Saritelli A, Gentile J. The in vitro serum protein-binding characteristics of bis-(2-ethylhexyl) phthalate and its principal metabolite, mono-(2-ethylhexyl) phthalate. *Environ Health Perspect* 1988;77:151-6
160. Lind PM, Lind L. Circulating levels of bisphenol A and phthalates are related to carotid atherosclerosis in the elderly. *Atherosclerosis* 2011;218(1):207-13
161. Muczynski V, Lecureuil C, Messiaen S, Guerquin MJ, N'tumba-Byn T, Moison D, et al. Cellular and molecular effect of MEHP

Involving LXR $\alpha$  in human fetal testis and ovary. PLoS One 2012;7(10):e48266

162. Campioli E, Batarseh A, Li J, Papadopoulos V. The endocrine disruptor mono-(2-ethylhexyl) phthalate affects the differentiation of human liposarcoma cells (SW 872). PLoS One 2011;6(12):e28750

163. Huang T, Saxena AR, Isganaitis E, James-Todd T. Gender and racial/ethnic differences in the associations of urinary phthalate metabolites with markers of diabetes risk: national health and nutrition examination survey 2001-2008. Environ Health. 2014;13(1):6

164. Eckardt K, Sell H, Eckel J. Novel aspects of adipocyte-induced skeletal muscle insulin resistance. Arch Physiol Biochem 2008; 114: 287-98

165. Lim S, Cho YM, Park KS, Lee HK. Persistent organic pollutants, mitochondrial dysfunction, and metabolic syndrome. Ann N Y Acad Sci 2010; 1201: 166-76

166. Wang W, Craig ZR, Basavarajappa MS, Hafner KS, Flaws JA. Mono-(2-

ethylhexyl) phthalate induces oxidative stress and inhibits growth of mouse ovarian antral follicles. Biol Reprod 2012 Dec 27;87(6):152

167. Rajesh P, Sathish S, Srinivasan C, Selvaraj J, Balasubramanian K. Phthalate is associated with insulin resistance in adipose tissue of male rat: role of antioxidant vitamins. J Cell Biochem. 2013;114(3):558-69

168. Kim JH, Park HY, Bae S, Lim YH, Hong YC. Diethylhexyl phthalates is associated with insulin resistance via oxidative stress in the elderly: a panel study. PLoS One 2013;8(8):e71392

169. James-Todd T, Stahlhut R, Meeker JD, Powell SG, Hauser R, Huang T, et al. Urinary Phthalate Metabolite Concentrations and Diabetes among Women in the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2001-2008. Environ Health Perspect 2012; 120: 1307-13

170. Altshuler D, Hirschhorn JN, Klannemark M, Lindgren CM, Vohl MC, Nemesh J, et al. The common PPAR $\gamma$  Pro12Ala polymorphism is associated with

decreased risk of type 2 diabetes. *Nat Genet* 2000; 26:76–80

171. Lyssenko V, Jonsson A, Almgren P, Pulizzi N, Isomaa B, Tuomi T, et al. Clinical risk factors, DNA variants, and the development of type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2008; 359:2220–32

172. Gouda HN, Sagoo GS, Harding AH, Yates J, Sandhu MS, Higgins JP. The

association between the peroxisome proliferator-activated receptor-gamma2 (PPARG2) Pro12Ala gene variant and type 2 diabetes mellitus: a HuGE review and meta-analysis. *Am J Epidemiol* 2010; 171:645–55