

Koncentracije matriks metaloproteinaza 3 (MMP3) u pretilo djece

Govorko, Matea

Undergraduate thesis / Završni rad

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split / Sveučilište u Splitu**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:176:540195>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-03**

Repository / Repozitorij:



Sveučilišni odjel zdravstvenih studija
SVEUČILIŠTE U SPLITU

[Repository of the University Department for Health Studies, University of Split](#)



UNIVERSITY OF SPLIT



DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE U SPLITU

Podružnica

SVEUČILIŠNI ODJEL ZDRAVSTVENIH STUDIJA

PREDDIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ

MEDICINSKO LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA

Matea Govorko

**Koncentracije matriks metaloproteinaze 3 (MMP-3) u pretilo
djece**

Završni rad

Mentor:

Dr.sc. Daniela Šupe-Domić

Split, 2018.

SVEUČILIŠTE U SPLITU

Podružnica

SVEUČILIŠNI ODJEL ZDRAVSTVENIH STUDIJA

PREDDIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ

MEDICINSKO LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA

Matea Govorko

**Koncentracije matriks metaloproteinaze 3 (MMP-3) u pretilo
djece**

**Concentrations of matrix metalloproteinase 3 (MMP-3) in obese
children**

Završni rad/Bachelor's Thesis

Mentor:

Dr.sc. Daniela Šupe-Domić

Split, 2018.

Zahvala:

Zahvaljujem mentorici dr.sc. Danieli Šupe-Domić na strpljenju, svoj stručnoj pomoći i svom ukazanom povjerenju.

Posebna zahvala mojoj cijeloj obitelji, dečku i prijateljima na svojoj pruženoj potpori tokom školovanja.

Matea Govorko

SADRŽAJ

1. UVOD.....	5
1.1. Pretilost.....	5
1.2. Patofiziologija pretilosti	2
1.3. Dijagnostika pretilosti kod djece	3
1.4. Matriks metaloproteinaze	7
1.5. Klasifikacija matriks metaloproteinaza.....	8
1.6. Uloga tkivnih inhibitora metaloproteinaza u regulaciji ekstracelularne matriks proteolize.....	11
1.7. Povezanost polimorfizma matriks metaloproteinaza sa indeksom tjelesne mase u djece.....	13
2. CILJ	13
3. MATERIJALI I METODE.....	15
3.1 Ispitanici	15
3.2. Metode	15
3.2.1. Antropometrijska mjerenja	15
3.2.2. Laboratorijska mjerenja	16
3.2.3. Imunokemijska metoda.....	17
3.2.4. Statističke metode	18
4. REZULTATI.....	19
5. RASPRAVA	22
6. ZAKLJUČAK	22
7. SAŽETCI.....	24
7.1 Sažetak.....	24
7.2. Summary	26
8. LITERATURA.....	28
9. ŽIVOTOPIS.....	30

1.UVOD

1.1. Pretilost

Pretilost te prekomjernu težinu definiramo kao pretjerano nakupljanje masti koje narušava zdravlje. Indeks tjelesne mase (ITM) je jednostavan indeks kojeg koristimo kao parametar za klasifikaciju prekomjerne težine, odnosno pretilosti kod odraslih osoba. ITM se definira kao težina u kilogramima podijeljena sa visinom u metrima kvadratnim. Za odrasle, Svjetska zdravstvena organizacija (SZO) postavlja kriterije tako da; ako je ITM 25 ili više, to definiramo kao prekomjernu težinu, a ako je ITM 30 ili više, to definiramo kao pretilost. ITM pruža najkorisniju mjeru za pretilost i prekomjernu težinu jer su isti kriteriji za oba spola i za svu dob kod odraslih. Međutim, ne možemo ga smatrati univerzalnom i jedinom mjerom, jer postoji mogućnost da dobijemo lažno jednake rezultate za različite pojedince (1). Iz tih razloga uz ITM dodatno mjerimo i antropometrijske parametre (opseg struka i bokova, tjelesna visina i masa, sistolički i dijastolički arterijski tlak) i metaboličke parametre (glukoza, inzulin, kolesterol, trigliceridi, lipoproteini niske gustoće – LDL (odeng.Low Density Cholesterol- LDL) i lipoproteini visoke gustoće (od eng.High Density Cholesterol -HDL).

Poseban problem svjetskih razmjera predstavlja pretilost kod djece. Kod njih, uz spomenuti ITM treba uzeti u obzir dob prilikom definiranja kriterija za razlikovanje prekomjerne težine te pretilosti (Tablica 1.2) (1).

Istraživanja koja je provodila SZO pokazala su da je u 2016. godini 41 milijun djece ispod 5 godina starosti ili pretilo ili prekomjerne težine, a u dobi od 5-19 godina čak preko 340 milijuna djece bilo je pretilo ili prekomjerne težine. Kad to usporedimo sa rezultatima iz 1975. godine kad je samo 1% djece bilo u kategoriji pretilosti, dolazimo do zaključka da se u 41 godinu taj broj porastao za 6-8%, odnosno 124 milijuna više (1).

U Hrvatskoj, nisu rađena sustavna nacionalna istraživanjima, ali prema podacima iz Hrvatskog Zavoda za Javno Zdravstvo u djece dobi od 7 do 14 godina, služeći se indeksom tjelesne mase (ITM) u razdoblju od 2000. do 2005. godine, prekomjernu tjelesnu masu imalo je 23% ispitanika, a 7.2% je bilo pretilo(2). Prema Antičić-Degač i sur., prekomjernu težinu

u dobi od 7 do 15 godina u Hrvatskoj je imalo 11.2% dječaka i 9.8% djevojčica, dok je bilo pretilo 5.7% dječaka i 5.4% djevojčica (3). Prema studiji iz 2010. godine provedenoj na 2564 djeteta u dobi od 1 do 6 godina, 23.1% ispitanika imali su rizik za razvoj debljine, a 10.7% je bilo pretilo. U toj studiji nisu uočene značajne razlike između kontinentalnog i priobalnog dijela zemlje (4).

Prevalencija prekomjerne težine i pretilosti se povećava kod djece naročito u adolescenata u razvijenim državama, u toj mjeri da preko 20% pojedinaca u dobi od 19 godina ima povećan indeks tjelesne težine, i to preko 25 (5). Dječja pretilost, osim što značajno može utjecati na dječje fizičko zdravlje, socijalizaciju i emocionalno blagostanje kao i samopoštovanje, ima dugoročno dalekosežne posljedice. Spomenute posljedice se očituju u daljnjem razvoju i odrasloj dobi, tako da imamo pacijente sa metaboličkim, srčano-žilnim, ortopedskim, neurološkim, plućnim, bubrežnim i drugim poremećajima (6).

1.2. Patofiziologija pretilosti

Energetska neravnoteža, s unosom većim od potrošnje, osnova je porasta tjelesne mase. Regulacija teka, energetskog unosa i potrošnje rezultat je uzajamnog djelovanja neuroendokrinih posrednika povezanih u regulacijski sustav u središnjem živčanom sistemu (SŽS) (7).

Tek sprječavaju neki hormoni (peptid YY - PYY; glukagonu slični peptid - GLP-1; kolecistekinin – CCK, leptin), a pobuđuje grelin. Grelin je peptidni hormon koji se izlučuje iz želuca. Sastoji od 28 aminokiselina i jedini je probavni hormon koji potiče unos hrane u sisavaca. Naziva se još i „hormon gladi“ (8). Izlučivanje grelina se povećava u gladovanju a koči unosom hrane, djelujući na taj način suprotno leptinu (LEP). Leptin se smatra fiziološkim "lipostatom" koji djeluje sukladno zalihama masti u organizmu. Leptin se otpušta iz masnih stanica i veže na receptore (LEPR) neurona u ARE hipotalamusa. Veza LEP-LEPR utječe na mršavljenje potiskujući tek i povećavajući termogenezu i potrošak energije. Gen za leptin je smješten na kromosomu 7q3- 1.3, a na njegov izražaj utječe niz čimbenika. Uočeno je da su razine leptina u djece povezane s količinom potkožnog masnog tkiva, pa pretila djeca imaju više razine leptina nego djeca normalno uhranjena za svoju dob i spol. Leptin djeluje i na niz endokrinih procesa (stimulacija reproduktivnog sustava, osjetljivost na inzulin, regulacija rasta stimuliranjem lučenja hormona rasta), a stimulirajući je čimbenik započinjanja puberteta u djevojčica (9). Leptinu sinergičan hormon, s kojim dijeli slično djelovanje i

ostvaruje komplementarne aktivnosti, je adiponektin koji regulira brojne metaboličke procese, uključujući regulaciju razine glukoze i oksidacije masnih kiselina. Adiponektin ima utjecaj na senzitivizaciju inzulina kroz više mehanizama, inhibira glukoneogenezu u jetri te povećava transport glukoze u adipocite i mišićne stanice (10).

Dio ulaznog kraka ovog regulacijskog sustava je i inzulin koji smanjuje unos energije djelujući izravno na odgovarajuće neurone. Njegovo djelovanje sinergično je s djelovanjem leptina, i u čijoj sekreciji sudjeluje. Ipak, konačni učinak ovih hormona značajno se razlikuje. Inzulin potiče nakupljanje masnog tkiva, a u slučaju njegovog nedostatka debljanje nije moguće ni onda kad se hranom u organizam unose velike količine energije. Središnju ulogu u regulaciji teka i energetske ravnoteže ima ARE hipotalamusa. Čine ga arkuatne (Arc), ventromedijalne, paraventrikularne, dorzomedijalne jezgre i lateralni dio, a utječe na unos energije i ponašanje vezano za hranjenje. Sustav regulacije hranjenja sastoji se od dva dijela: oreksigeni (anabolički) i anoreksigeni (katabolički). Najznačajniji posrednici oreksigenog sustava su NPY (od *engl. orexigenis neuropeptid Y*) i AGRP (od *engl. agouti-related protein*). Pobuda NPY/AGRP neurona u neuronima *lat. nukleusa arcuatusa* ima anabolički učinak zbog poticanja teka i smanjenog utroška energije, uz djelovanje na niz endokrinih funkcija: potiče se početak puberteta, regulira lučenje gonadotropina i osjetljivost hipotalamo-hipofizno-adrenalnog sustava. Signali se šire aksonima, u lateralnom hipotalamusu stvara se neuropeptid melanin koncentrirajući hormon (od *eng. Melanine concentrating hormone, MCH*), koji je daljnji prijenosnik signala i poticajno djeluje na želju za jelom. Prirođeni nedostatak MCH daje mršavi fenotip. AGRP je istovremeno i antagonist anoreksičnog učinka MC3R (od *engl. melanocortin-3 receptor*) i MC4R (od *engl. melanocortin-4 receptor*) (7).

1.3. Dijagnostika pretilosti kod djece

Kad govorimo o samoj dijagnostici pretilosti teško je razviti jedan jednostavni indeks za mjerenje prekomjerne težine i pretilosti kod djece i adolescenata.

Pojmovi koje koristimo pri definiranju pretilosti i prekomjerne težine su već spomenuti indeks tjelesne težine (ITM), percentili, z vrijednosti, te mjerenje opsega struka.

ITM, od engleskog *body mass index* (BMI) izračunava se dijeljenjem tjelesne težine izražene u kilogramima s kvadratom visine izražene u metrima. Na temelju dobivenog rezultata ispitanik se svrstava u određenu kategoriju.

$$\text{ITM} = \frac{\text{Težina (kg)}}{\text{visina (m)} \cdot \text{visina (m)}} \text{ (kg/m}^2\text{)}$$

Kod djece i adolescenata stupanj uhranjenosti određuje se s obzirom na percentilne krivulje ITM-a po dobi i spolu. Cole i sur. su dali preporuke prema kojima, prekomjernu tjelesnu težinu imaju djeca čiji je ITM između 85. i 95. percentile, a pretila su ona s ITM većim od 95 percentila za dob (Slika 1.1. i Slika 1.2.)(11).

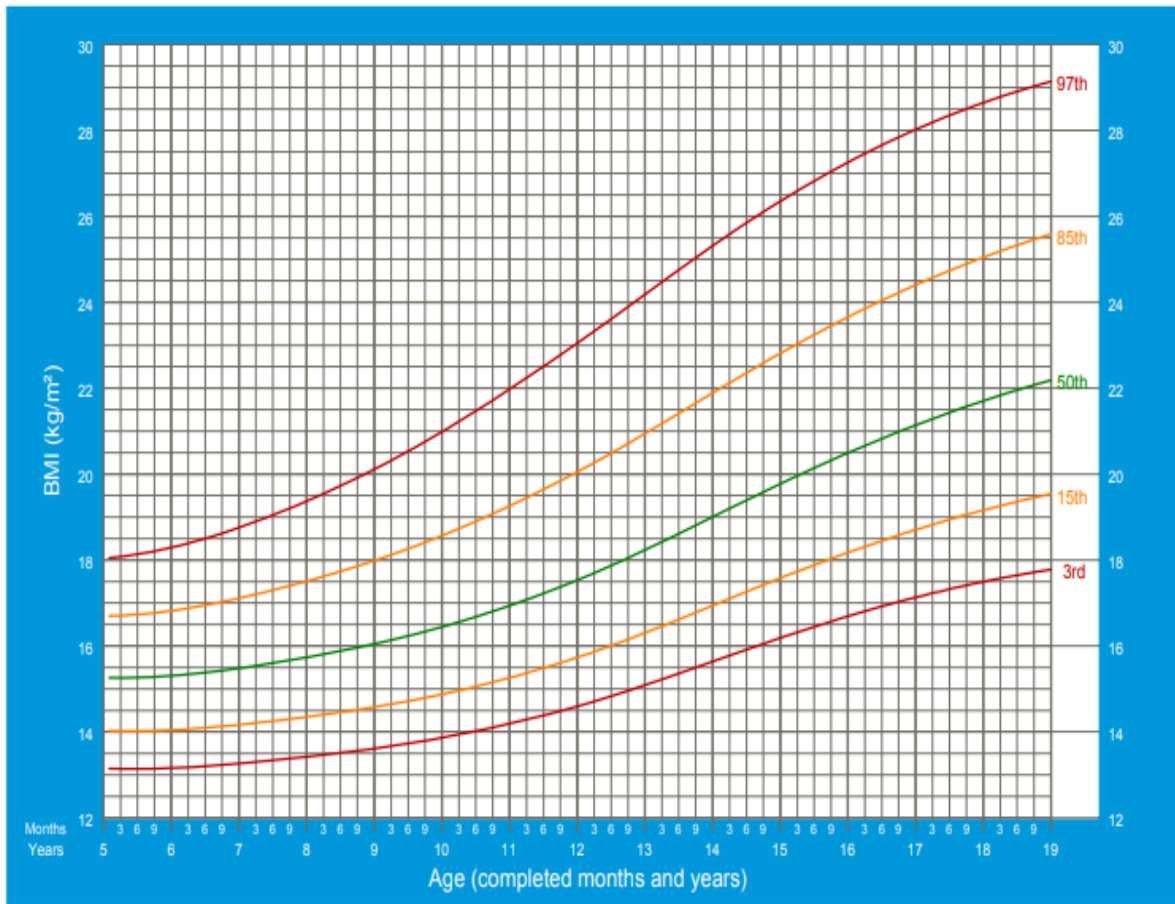
Z- vrijednost nam služi kao broj standardnih odstupanja udaljenih od medijana populacije koja se smatra zdravom i ima normalnu distribuciju.

Tablica 1. Klasifikacija debljine prema standardima SZO djece interpretirane prema z vrijednosti

	PREKOMJERNA TEŽINA	PRETILOST
0-5 godina	Indeks tjelesne težine 2 standardna odstupanja od medijana standarda SZO-a	Indeks tjelesne težine 3 standardna odstupanja od medijana standarda SZO-a
5-19 godina	Indeks tjelesne težine veći od 1 standardnog odstupanja od medijana standarda SZO-a	Indeks tjelesne težine 2 standardna odstupanja od medijana standarda SZO-a

BMI-for-age BOYS

5 to 19 years (percentiles)



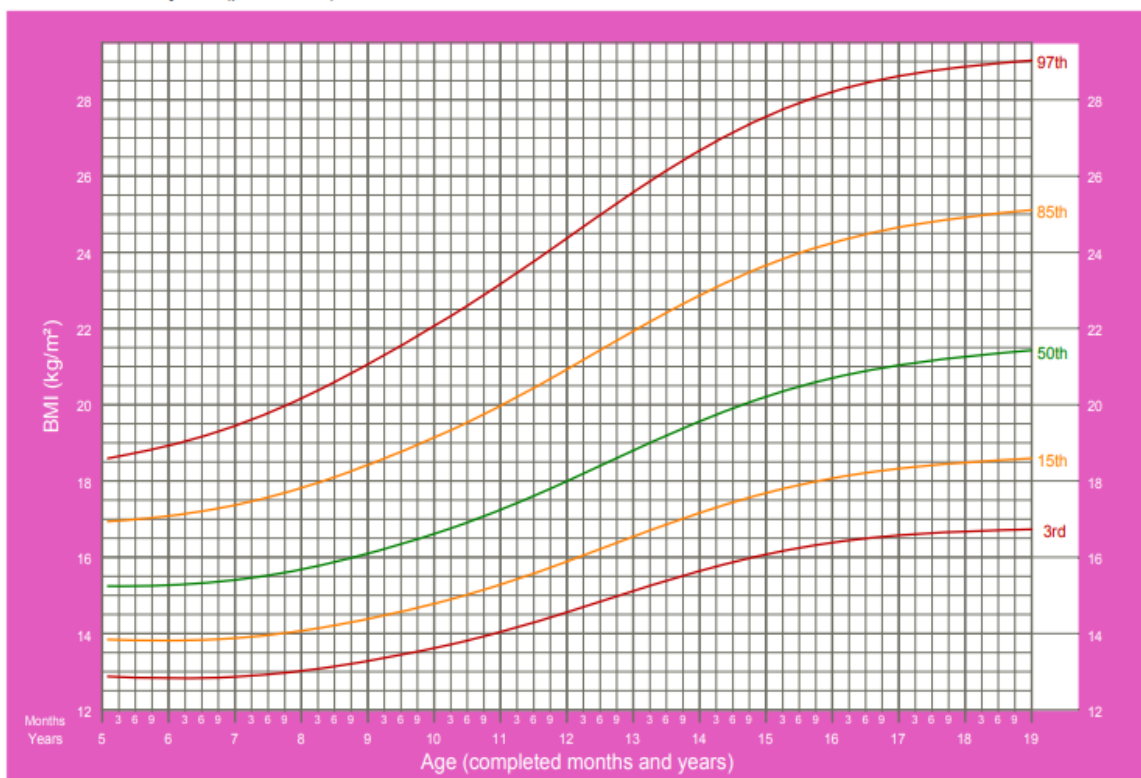
2007 WHO Reference

Slika 1.1. Percentili za mušku djecu 5-19 godina

(http://www.who.int/growthref/c0ht_bmf_boys_perc_5_19years.pdf?ua=1, 5.7.2018.)

BMI-for-age GIRLS

5 to 19 years (percentiles)



2007 WHO Reference

Slika 1.2. Percentili za žensku djecu 5-19 godina

(http://www.who.int/growthref/cht_bmifa_girls_perc_5_19years.pdf?ua=1, 5.7.2018.)

1.4. Matriks metaloproteinaze

Izvanstanični matriks (od *eng. Extracellular Matrix, ECM*) možemo objasniti kao složenu mrežu makromolekula, koje imaju strukturalnu i funkcionalnu ulogu u stanici. Matriks metaloproteinaze (MMP) obuhvaćaju pojam porodice enzima sličnih endoproteinaza, točnije proteolitičkih peptidaza koje kidaju veze neterminalnih aminokiselina, (12) ukratko razgrađuju izvanstanični matriks.

Strukturno su slične po tome što sadrže cink te su ovisne o kalciju. Luče se u neaktivnom obliku koji se naziva zimogen, odnosno pro-MMP. Otkriveno je oko 20-ak MMP-ova do sad, koji se međusobno razlikuju po specifičnosti njihovog supstrata te funkciji. Prema tome se dijele na: gelatinaze, kolagenaze, stromelizine (MMP-3) te druge. Njihova aktivnost je pod visokom kontrolom čimbenika rasta, fizikalnim stresom, citokinima i slično, stoga u normalnim uvjetima, tkiva ne bi trebala pohranjivati MMP (12).

Iako su se MMP-ovi dugo smatrali kao vrsta prototipa za razgradnju matriks proteaza, proteklih godina, korištenjem inženjersko-genetičkih modela, pokazalo se da funkcioniraju više kao procesuirajući enzimi koji kontroliraju velik broj različitih procesa u stanici. Uistinu, pri cijepanju molekula citokina, kemokina, antimikrobnih peptida i proteina sa površine stanice, MMP proteoliza uvelike utječe sa strogo kontrolirane funkcijama, povezane sa imunitetom, popravkom oštećenog tkiva, diferencijacijom i transformacijom stanica. Štoviše, neki od MMP-ova mogu imati funkcije koje su neovisne o njihovoj katalitičkoj aktivnosti, kao što su hemopeksin domena MMP-12 koja ima unutarnju antimikrobnu aktivnost te MMP-14 i MMP-16 koji imaju važnu ulogu u metabolizmu kolagen matriksa kosti (13).

Pretpostavlja se da MMP-ovi sudjeluju samo u procesu katabolizma, i to pri većim oštećenjima i izrazito destruktivnom katabolizmu izvanstaničnog matriksa kod preraspodjele tkiva tijekom patofizioloških stanja. Temeljeno na takvim generalnim pretpostavkama čini se da je glavna fiziološka funkcija MMP-ova razgradnja tkiva. Takve pretpostavke su se dodatno potvrdile rezultatima novijih istraživanja u kojima su se molekule MMP istraživale u patogenezi nastanka različitih bolesti, kao što su upalna stanja ili maligne bolesti. Međutim postoje određena istraživanja čiji su rezultati kontradiktorni sa do sada navedenim, vezano za fiziološku funkciju razgradnje. Kod kralježnjaka, prva matriks metaloproteinaza, kojoj je funkcija razgradnja, bila je otkrivena u važnom morogenetičkom procesu, koji je uključivao i

uklanjanje zakržljalog repa i peraje u punoglavaca (što je omogućilo prijelaz u život na kopnu). Bez ovog enzima, punoglavci bi bili doslovce mrtvi u vodi (13).

1.5. Klasifikacija matriks metaloproteinaza

MMP-3, ili stromelizin-1, je bio prvi put opisan 1985 kao 51-kDa protein izoliran iz zečijih fibroblasta. MMP-3 se razlikuje od ostalih kolagenaza po nemogućnosti razgradnje tip 1 kolagena. Skoro pa istovremeno je proteaza imenovana tranzin opisana kod promijenjenih stanica štakora, što se poslije pokazalo da odgovara MMP-3. Stromelizini imaju osnovnu strukturu matriks metaloproteinaza sa domenom poput hemoksina. Specifičnost supstrata MMP-3 je raznolika te se MMP-3 opisuje kao protein koji razgrađuje mnogo ECM proteina, poput fibronektina, gelatina, laminina. MMP-3 ne može razgraditi trostruko spiralni kolagen, ali može rascijepati globularni dio kolagena tipa 4. MMP-3 je također uključen u aktivacijsku kaskadu gelatinaza i MMP-13. Fiziološka funkcija MMP-3 nije toliko dobro opisana u literaturi, ali je pretpostavka da je uglavnom povezana s prometom izvanstaničnog matriksa. MMP-3 je dobro reguliran u tkivu sisavaca tijekom involucije, nakon laktacijskog perioda, ima i pro-apoptotički efekt. Dobro opisan supstrat MMP-3 je inhibitor aktivatora plazminogena tip 1 (PAI-1). ProMMP-3 također može formirati kompleks sa tkivnim aktivatorom plazminogena, što povećava njegovu aktivnost. Ova otkrića mogu indicirati važnu regulatornu funkciju MMP-3 u fibrinolitičkom putu. Također je opisan i kao važan faktor u razvoju artritisa, astme, aneurizme, zacjeljivanju većih otvorenih rana, Alzheimerovoj bolesti te raznim tumorima (14).

MMP-1 pripada u obitelj kolagenaza. To je enzim koji sadrži domenu poput hemopeksina potrebnu za degradaciju trostruko-spinalnog kolagena. Mogući je prognostički marker za klasifikaciju plaka kod ateroskleroze, iako postoji problem kod diferencijacije kalcificiranog od ne-kalcificiranog plaka (14).

MMP-8 je neutrofilna kolagenaza. Ima jak afinitet prema kolagenu tip 1. Bitan je kod embriogeneze te postporođajne preraspodjele tkiva maternice. Također se njegova uloga spominje i kod upalnih procesa (14).

MMP-13 je specifičan po tome što cijepa kolagen tipa 2. Ima ulogu u patogenezi u raznim malignim procesima kao što su rak dojke, tumori vrata/glave, melanom. Nadalje, kako služi

za cijepanje kolagena tipa 2, očekivano može biti povezan sa bolestima kostiju, kao što su reuma i osteoartritis (14).

MMP-2 pripada porodici gelatinoza, i specifična je po razgradnji kolagena tip 4. Osim sposobnosti razgradnje kolagena u žilno bazalnoj membrani, gelatinoze su uključene i u neovaskularizaciju (nenormalno urastanje novih krvnih žila), kako u fiziološkim uvjetima, tako i u patološkim, kao što su metastaze tumora (14).

MMP-9 također spada pod skupinu gelatinoza. Najvažnija mu je fiziološka funkcija da otpušta biološki aktivnu formu žilno endotelnog faktora rasta koji ima veliku ulogu u angiogenezi. Stoga se pretpostavlja da MMP-3 ima važnu ulogu u formaciji novih krvnih žila (14).

MMP-10 drugo ime mu je stromelizin 2, ima 82% homolognih sekvenca sa MMP-3 . Slabo objašnjen, ali katalitička aktivnost mu je usmjerena prema kolagenu tipa 3,4,5 (14).

MMP-11 treći ljudski stromelizin, povezan s mnogim fiziološkim procesima gdje se dešavapregradnja izvanstaničnog matriksa, u procesima embrionalnog razvoja, sudjeluje u regulaciji ženskog reproduktivnog ciklusa, te zacijeljivanju rana (14).

MMP-14 služi za proteolitičku razgradnju kolagena tip 1,2 i 3. Važna je intersticijalna kolagenaza, a osim kolagenaze služi za razgradnju nekih manjih komponenti izvanstaničnog matriksa, kao što su: fibronektin, vitronektin, fibrin, fibrinogen, tenaskim, nidogen, agrekan, laminin tip 5 (14).

MMP-15 smatra se da ima ulogu u pucanju folikula tokom ovulacije te generiranje tubularnih struktura tijekom angiogeneze . Također ima i antiapoptička svojstva (14).

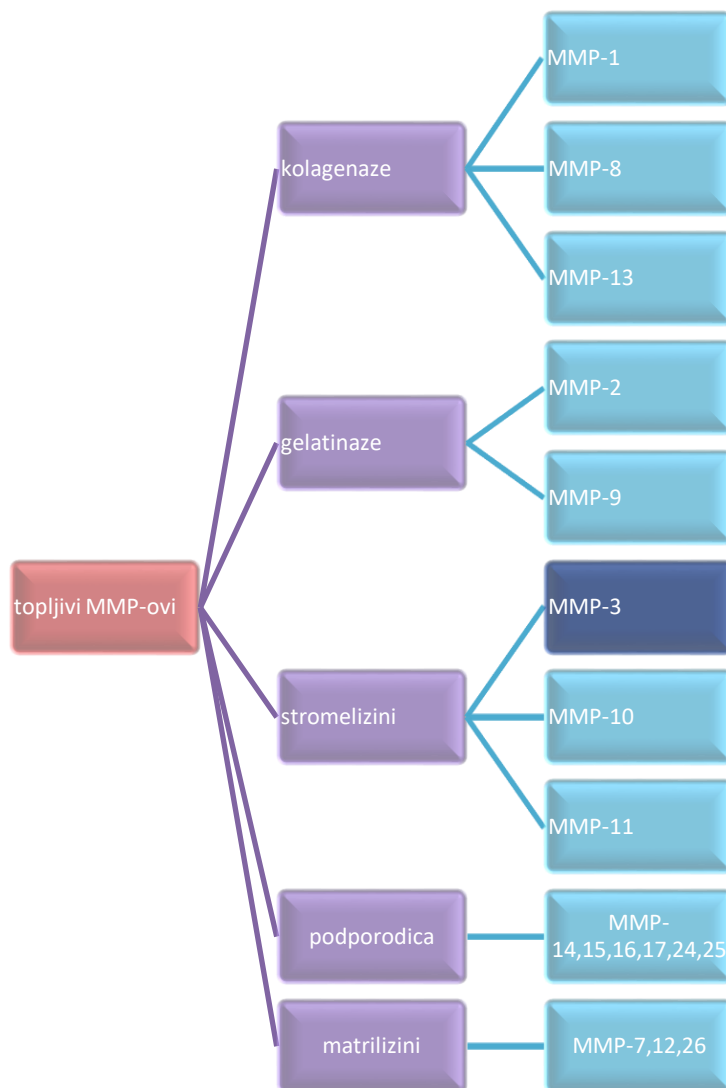
MMP-16 i MMP-24 su slabo opisani u literaturi, MMP-16 pokazuje sličnost sa MMP-14, a za MMP-24 se pretpostavlja da je uključen u procese remodeliranja kod endometrijalnih lezija i endometrioze u žena (14).

MMP-17 i MMP-25 imaju mogućnost interakcije sa lipidnim mikrostrukturama i moguće da su uključeni u internacionalizaciju i recikliranje enzima (14).

MMP-7 ili matrilizin sudjeluje u razvoju malignih bolesti budući je povezan s diobom samih kancerogenih stanica (14).

MMP-26 se prvi put identificirao u endometrijalnom tumoru, te je stoga imenovan kao MMP-26, matrilizin 2 endometaza (14).

MMP-12 (makrofag metaloelastaza) se razlikuje od ostalih MMP-ova u njegovoj ulozi kod karcinoma. Naima, on je primarno proteaza odgovorna za proteolitičko oslobađanje angiostatina iz plazminogena (14).



Slika 1.3. Podjela MMP-ova

1.6. Uloga tkivnih inhibitora metaloproteinazau regulaciji ekstracelularne matriks proteolize

Tkivni inhibitori metaloproteinaza (TIMP-ovi) su tkivno specifični, endogeni inhibitori metaloproteinaze, uključujući matriks metaloproteinaze (MMP-ovi). Početni dokaz o ulozi TIMP-ova u proteolizi izvanstaničnog matriksa (od *eng. Extracellular Matrix, ECM*) bilo je otkriće njihove sposobnosti da inhibiraju različite MMP-ove *in vitro*, kao i povezanost između povećane ekspresije TIMP-ova sa nakupljanjem matriksa, uočeno u fibrozi pluća. Naposljetku, rezultati ovih istraživanja naveli su na zaključak da je odnos, točnije balans između MMP-ova

te TIMP-ova odgovoran za razgradnju ECM-a. Odnosno, kada je ravnoteža pomaknuta na stranu ravnoteže u korist TIMP-a, to je znak sačuvanosti ECM-a. Treba naglasiti da spomenuta ravnoteža koncentracija između ECM-a i TIMP-ova jako bitna te da ne utječe samo na proteolizu ECM, štoviše rezultati studija na miševima koji su genetski modificirani na genima za metaloproteinaze i TIMP-ove su pokazale da metaloproteinaze procesuiraju mnoge biološki aktivne proteine, uključujući citokine, kemokine, proteine s površine stanice. Nadalje, moramo spomenuti i promijenjen transformirajući faktor rasta (TGF) β koji signalizira upalu te broj stanica poput miofibroblasta. Navedeni potencijalno potječu iz ECM metabolizma, odnosno odlaganja ECM-a, što naravno kontroliraju TIMP-ovi. Iz toga zaključujemo da TIMP-ovi mogu i inhibirati proteolizu ECM kao i indirektno kontrolirati metabolizam ECM-a (15).

Tkivni inhibitor metaloproteinaza 1 (TIMP-1)

Mnoga patološka stanja poput; zacjeljivanja rana, plućne fibroze i dijabetičke nefropatije su povezana sa pretjeranim odlaganjem ECM komponenti, što posljedično dovodi do fibroze. Zanimljivo je da je ekspresija TIMP-1 povećana profibrotičkim okolišom, što bi trebalo dovesti do zaključka o ulozi TIMP-1 u direktnoj inhibiciji procesa proteolize ECM-a. Postoji i indirektna koja potvrđuje ulogu TIMP-ova u ograničavanju upala, kao i ECM akumulaciji, tj. fibrozi koja slijedi ozljedu (15).

Tkivni inhibitor metaloproteinaza 2 (TIMP-2)

Što se tiče njegove direktne inhibicije, mnoge studije pokazuju i potvrđuju njegovu ulogu u inhibiciji proteolize ECM-a kod nekih tkiva. Spominje se kod zaštite ECM-a kod zacjeljivanju fraktura, keloida, oštećenja tkiva jetre i bubrega. Kod indirektno inhibicije, pronađena je njegova uloga u aktiviranju MMP-2 u sinergiji s MMP-14. Naime, povećanje MMP-2 je povezano sa povećanom fibrozom koja je posljedica upale u rekurentnim stanjima ozljede pluća (15).

Tkivni inhibitor metaloproteinaza 3 (TIMP-3)

Rezultati novijih istraživanja navode na zaključak da je TIMP-3 ključni inhibitor pregradnje proteina izvanstaničnog matriksa. Primjerice, razgradnja proteina izvanstaničnog matriksa MMP-ovima neophodna je tijekom procesa embrio implantacije. Indirektna inhibicija

istražena je na genetički modificiranim miševima bez sinteze proteina TIMP-3. Rezultati tih istraživanja pokazali su uznapredovale fibrotičke procese u miševa, ukazujući na činjenicu da je prisutnost TIMP-3 neophodna za razgradnju proteina izvanstaničnog matriksa i zaustavljanje procesa fibroze (15).

Tkivni inhibitor metaloproteinaza 4 (TIMP-4)

Inhibitori metaloproteinaze tip 4 zadnji su otkriveni, stoga nema puno publikacija i radova o ulozi TIMP-4 u regulaciji proteolize ECM-a. Istraživanja koja su provedena do sada ukazuju na moguću ulogu TIMP-4 u restrikciji proteolize ECM-a kod razvoja pluća, ženskog reproduktivnog trakta, očiju uslijed embriogeneze odbacivanja transplantiranog tkiva. Kod indirektnih inhibicija, TIMP-4 također inhibira proces fibroze (15).

1.7. Povezanost polimorfizma matriks metaloproteinaza sa indeksom tjelesne mase u djece

Istraživanje IDEFICS (od eng. *Identification and prevention of dietary-and lifestyle-induced health effects In children and infants*) je multicentrična populacijska studija koja se provodila u osam zemalja Europske unije (Belgija, Cipar, Estonija, Njemačka, Mađarska, Italija, Španjolska, Švedska), a bavi se pitanjem dječje pretilosti. Cilj je bio ispitati vezu između polimorfizma matriks metaloproteinaze 3 (MMP-3) i indeksa debljine u europske djece. U studiju je bilo uključeno 16 224 djece bijele rase (2-9 godina), od čega je 4540 djece bilo nasumično odabrano za genetičke studije (T0), a 3283 djece je bilo ponovno ispitivano nakon dvije godine (T1). Antropometrijske mjere su bile izmjerene po standardiziranim protokolima i u prvom i u drugom mjerenju. Rezultati genotipiziranih šest varijanti MMP-3 pokazali su da ispitanici homozigoti za varijantu A alela rs646910 i H3 haplotipa imaju statistički značajno veći opseg bokova kod T0. Kod skupine T1, ispitanici koji nose A/A genotip alela rs646910 ili H3/H3 diplotip su pokazali statistički značajno veće vrijednosti indeksa tjelesne mase, obujma struka i bokova, te sumu tricipitalnog i subskapularnog kožnog nabora. Iz navedenih rezultata ovog istraživanja može se zaključiti da se po prvi put dokazala povezanost između alela MMP-3 rs646910 te indeksa tjelesne mase u europske djece, što zasigurno potvrđuje fiziološku funkciju metaloproteinaza u pregradnji masnog tkiva te rasta (16).

2. CILJ

Temeljem dosadašnjih spoznaja o fiziološkoj funkciji MMP-3u razgradnji izvanstaničnog matriksa za pretpostaviti je da je u pretilih odraslih, ali i u pretile djece i adolescenata koncentracija MMP3 u krvi povećana.

Cilj ovog istraživanja bio je istražiti povezanost koncentracija MMP-3 i antropometrijskih (opsega struka i bokova, tjelesna visina i masa, ITM, sistolički i dijastolički arterijski tlak) i metaboličkih parametara (glukoza, inzulin, kolesterol, trigliceridi, HDL i LDL)u pretile djece u usporedbi s djecom koja su primjereno uhranjena za svoju dob i spol.

Naime, hipoteza kojom smo se vodili tokom ovog rada je, da povećana koncentracija MMP-3 djeluje na preuređenje izvanstaničnog matriksa i to konkretno da je u tome najaktivnija podgrupa stromelizina (stromelizin 1), čiji je supstrat kolagen tip 2, 4, 9, 10, 11 i gelatin (15).

3.MATERIJALI I METODE

3.1 Ispitanici

Ovo istraživanje predstavlja presječno istraživanje koncentracija matriks metaloproteinaze 3 u pretilo djece ili djece s prekomjernom težinom (N=30) kao i u kontrolnoj skupini djece (N=30, normalno uhranjena djeca). Provođenje istraživanja odobreno je na sjednici Etičkog povjerenstva Kliničkog bolničkog centra Split. Roditelji svih maloljetnih sudionika su potpisali informirani pristanak za sudjelovanje, dok su sami sudionici bili upoznati s protokolom istraživanja.

Ispitanici su djeca i adolescenti u dobi od 10 do 17 godina (N=30), koji su se liječili na Klinici za dječje bolesti KBC Split zbog prekomjerne težine i/ili pretilosti, a udovoljavaju sljedećim uvjetima: ITM iznad 90. percentile za dob i spol po smjernicama Hrvatskog pedijatrijskog društva te ne boluju od drugih kroničnih bolesti (poput dijabetesa, primarnog hipotirodizma) te da njihova pretilost nije sindromska kao kod Downovog ili Prader-Wilijevog sindroma, te da općenito ne boluju ni od kakvih endokrinoloških poremećaja.

Kontrolnu skupinu čine djeca i adolescenti u dobi 10 do 17 godina, približno jednako raspodijeljeni po spolu kao i u ispitivanoj skupini, koji ne boluju ni od kakvih endokrinih, kardiovaskularnih, gastrointestinalnih i renalnih kroničnih bolesti te imaju ITM između 5. i 90. percentile za dob i spol po smjernicama Hrvatskog pedijatrijskog društva.

3.2. Metode

Prije antropometrijskih mjerenja i venepunkcije, izvršen je fizikalni pregled sudionika i uzeta detaljna osobna i obiteljska anamneza.

3.2.1. Antropometrijska mjerenja

Ispitanicima se izmjerila visina na Harpenden stadiometru, a kao konačna vrijednost uzeta je aritmetička sredina triju mjerenja u razmaku od pet minuta. Vrijednost tjelesne mase dobivene

u laganoj odjeći i bez obuće na analognoj vagi preciznosti 0.1 kg. Indeks tjelesne mase izračunat je po standardnoj formuli omjera tjelesne težine u kilogramima i visine u metrima na kvadrat te percentilima i korigiran z - vrijednošću. Obujam struka i bokova izmjeren je neelastičnom metarskom vrpcom neposredno iznad gornje ilijačne kriste i pubične simfize. Sistolički i dijastolički krvni tlak prikazani su kao srednja vrijednost triju uzastopnih mjerenja u trima položajima: ležećem, sjedećem i stojećem. Sva mjerenja izvršena su na Klinici za dječje bolesti KBC-a Split.

3.2.2. Laboratorijska mjerenja

Laboratorijski testovi provedeni su na Zavodu za medicinsko laboratorijsku dijagnostiku KBC-a Split.

Venepunkcijom su nakon noćnog gladovanja uzeti uzorci krvi za analizu ispitivanih parametara. Odmah po prikupljanju, uzorci su centrifugirani. Zatim je iz njih izdvojen serum u kojem su određene koncentracije: glukoze natašte, ukupnog kolesterola, LDL - a, HDL- a i triglicerida. Za određivanje spomenutih analita korištene su preporučene metode prema dokumentu „Harmonizacija laboratorijskih nalaza u području opće, specijalne i visokodiferentne medicinske biokemije“(dokument izdala Hrvatska komora medicinskih biokemičara, Medicinska naklada, Zagreb 2007).

Metode određivanja pojedinih analita:

Glukoza – fotometrija UV s heksokinazom

Kolesterol – fotometrija s kolesterol-oksidadom

HDL – homogena enzimsko metoda s modificiranim polietilenglikolom (PEG) i alfa-ciklodekstran-sulfatom.

LDL – računski prema Friedewaldu ako je koncentracija triglicerida manja od 4,6 mmol/L i ako nisu prisutni hilomikroni: $LDL = \text{kolesterol} - \text{trigliceridi} / 2,2 - HDL$

Trigliceridi – fotometrija UV Trigliceridi – Fotometrijska UV metoda.

Inzulin natašte mjeren je elektokemiluminescentnom imunokemijskom metodom „ECLIA“ na uređaju Cobas e601 tvrtke Roche s reagensima istog proizvođača.

3.2.3. Imunokemijska metoda

Cilj je bio izmjeriti koncentraciju MMP-3 u 60 dječjih uzoraka, od kojih je 30 kontrolna skupina, a 30 ispitanici, pomoću BG MMP-3 ELISA kita, za kvantitativno određivanje humanog MMP-3. Kit koji je korišten rabi se samo za svrhu istraživanja. Princip rada ELISA sastoji se od takozvane "sendvič" enzimske imunoanalize koja se temelji na reakciji antigen-protutijelo.

Krv za određivanje MMP-3 uzorkovana je u standardnu biokemijsku epruvetu bez antikoagulansa. Nakon 1 h stajanja, slijedi centrifugiranje na 3000 rpm, 15 minuta. Svi uzorci seruma alikvotirani su i pohranjeni do analize na -20°C (17).

Postupak kalibracije s komercijalno dostupnim standardima točno poznatih koncentracija potrebno je izvršiti uz svaku seriju određivanja, kao i postupak provođenja unutarnje kontrole kvalitete s komercijalno dostupnim uzorcima. U jažicama mikrotitarske pločice nalaze se monoklonalna protutijela specifična za MMP-3. Uzorci se dodaju u jažice na mikrotitarsku pločicu, te ukoliko je MMP-3 prisutan u uzorku, vezati će se na specifično protutijelo. Kako bi mogli kvantitativno odrediti koncentraciju MMP-3 u svakom pojedinačnom uzorku, u svaku jažicu dodaje se još jedno protutijelo obilježeno peroksidazom iz hrena, to je konjugirano poliklonalno protutijelo, također specifično za MMP-3. Vezanje ovog obilježenog sekundarnog protutijela tijekom inkubacije omogućuje stvaranje kompleksa protutijelo-antigen-protutijelo („sendvič efekt“). Nakon inkubacije jažice se ispiru u cilju uklanjanja nevezanog obilježenog protutijela. Idući korak obuhvaća dodavanje supstrata u svaku jažicu. Time se omogućuje enzimu peroksidazi i supstratu da reagiraju nakon kratke inkubacije. Enzim - supstrat reakcija prestaje dodatkom sumporne kiseline, a promjena boje se mjeri spektrofotometrijski na valnoj duljini od 450 nm. Promjena boje u jažicama proporcionalna je koncentraciji MMP-3 koja je vezana na enzimom obilježeno protutijelo. Na temelju standarda poznatih koncentracija određuje se standardna krivulja, te iz nje očitavamo koncentraciju MMP-3 u svakom pojedinačnom uzorku seruma.

3.2.4. Statističke metode

Nakon izvršenih mjerenja, dobiveni rezultati su obrađeni statistički, koristeći T-test.

T-test je statistički postupak za testiranje značajnosti razlike između dva uzorka, odnosno za usporedbu njihovih aritmetičkih sredina. T-test kao statistički alat služi za provjeru nul-hipoteze koju postavljamo prilikom formiranja nacrtu istraživanja. Ako nam rezultati obrade rezultata T-testom pokažu da razlika među aritmetičkim sredinama nije statistički značajna, onda smo potvrdili nul-hipotezu, a ako je razlika statistički značajna, oborili smo nul-hipotezu (18).

Statističke analize provedene su koristeći statistički paket MedCalc za Windows, verzija 11.5.1.0 (MedCalc Software, Mariakerke, Belgija).

4. REZULTATI

Tablica 4.1 Rezultati antropometrijskih mjerenja ispitivane i kontrolne skupine djece i adolescenata

Varijabla	Ispitivanaskupina (N =30)	Kontrolnaskupina (N =30)	<i>P</i>
Dob (god/dec)	12,75 ± 2.33	12,76 ± 2.90	0,986
ITM [§] (kg/m ²)	30,2 ± 4,6	19,1 ± 2,8	< 0,001
ITM [§] (percentile)	96,9 ± 4,1	53,6 ± 23,2	< 0,001
ITM [§] (z- vrijednost)	2,1 ± 0.5	0,1 ± 0,7	< 0,001
Opsegstruka (cm)	96,9 ± 9,5	68,0 ± 7,3	< 0,001
Opsegbokova (cm)	109,7 ± 10,7	83,3 ± 10,6	< 0,001
Opseg struka / Opseg boka	0,87 ± 0,08	0,82 ± 0,06	0,008
Tjelesna masa (kg)	80,5 ± 16,7	51,6 ± 15,9	< 0,001
Tjelesna visina (cm)	162,9 ± 10,3	161,8 ± 17,1	0,775
Sistoličkiarterijski tlak (mmHg)	120,0 ± 10,8	103,7 ± 10,1	< 0,001
Dijastoličkiarterijski tlak (mmHg)	68,3 ± 9,4	70,6 ± 13,1	0,451
Spol (m/ž)	Dječaci 14 (46,7%) Djevojčice 16 (53,3%)	Dječaci 15 (50,0%) Djevojčice 15 (50,0%)	0,798

**P* < 0.05 se smatra statistički značajno.

‡ Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost ± standardna devijacija.

§ ITM – indeks tjelesne mase

Svi rezultati prikazani su kao apsolutne vrijednosti, odnosno, srednja vrijednost +/- standardna devijacija, a $P < 0.05$ smatra se statistički značajnim

U tablici 4.1, dob i spol ispitivane i kontrolne skupine je sukladna i ravnomjerno raspoređena. P vrijednost 0.986 ukazuje kako nema statistički značajne razlike u dobi između kontrolne skupine i ispitanika. Isto tako, u istraživanju se nije utvrdila statistički značajna razlika između ispitanika i kontrolne skupine uspolu ($P = 0.798$), dijastoličkom arterijskom tlaku ($P = 0.451$) i tjelesnoj visini ($P = 0.775$)

Sukladno očekivanom, postoji statistički značajna razlika između ispitanika i kontrolne skupine u tjelesnoj težini, opsegu struka i bokova, ITM vrijednostima i sistoličkom arterijskom tlaku.

Tablica 4.2 Rezultati laboratorijskih mjerenja metabolizma glukoze i lipidnog statusa ispitivane i kontrolne skupine djece i adolescenata

Varijabla	Ispitivanaskupina (N =30)	Kontrolnaskupina (N =30)	P
Glukozanatašte (mmol/L)[‡]	4,63 ± 0,50	5,14 ±0,41	< 0,001
Inzulinnatašte (mU/L)[‡]	16,83 ± 10,4	8,07 ±3,4	< 0,001
Ukupnikolesterol (mmol/L)[‡]	3,79 ±0,74	4,05 ± 0,91	0,230
LDL ^{**}(mmol/L)[‡]	2,05 ± 0,56	2,16 ±0,85	0,543
HDL ^{††}(mmol/L)[‡]	1,22 ± 0,29	1,47 ± 0,35	0,003
Trigliceridi (mmol/L)[‡]	0,90 ± 0,31	0,77 ± 0,36	0,149

[‡] Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost ± standardna devijacija

^{**}LDL, lipoprotein niske gustoće

^{††} HDL, lipoprotein visoke gustoće

U tablici 4.2 prikazani su rezultati laboratorijskih mjerenja metabolizma glukoze i lipidnog statusa ispitivane skupine pretilih djece i kontrolne skupine. Pronađena je statistički značajna razlika u koncentraciji glukoze ($P < 0,001$) i inzulina ($P < 0,0001$) izmjerenih natašte te HDL-a ($P = 0,003$). U koncentracijama ukupnog kolesterola ($P = 0,230$), LDL-a ($P = 0,543$) i triglicerida ($P = 0,149$) nije pronađena statistički značajna razlika između kontrolne skupine i ispitanika

Tablica 4.3 Rezultati analize koncentracija MMP-3 ispitivane i kontrolne skupine djece i adolescenata (N = 30)

Varijabla	Ispitivanaskupina (N =30)	Kontrolnaskupina (N =30)	P
MMP-3 (pg/mL)†	3,62±3,30	5,28±3,16	0,058

† Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost ± standardna devijacija.

U tablici 4.3 prikazani su rezultati statističke obrade koncentracija MMP-3 u dvije skupine. Sa P vrijednošću od 0.058 može se utvrditi kako ne postoji statistička značajna razlika u koncentraciji MMP-3 proteina između dvije skupine, pri čemu ispitivana skupina pretilih ima niže koncentracije u odnosu na kontrolnu skupinu djece.

5.RASPRAVA

Pretilost predstavlja ozbiljan javno-zdravstveni problem. Ozbiljnost tog problema se posebno ogleda u činjenici gdje je sve veći broj djece zahvaćen tom epidemijom. Takva djeca su sklonija razvoju mnogih bolesti; od endokrinoloških do srčano-žilnih, te postoji veća vjerojatnost te rizik da će tokom odrastanja gotovo sigurno razviti neku od kroničnih bolesti. Iz navedenih razloga nastoji se što više prevenirati debljanje, te otkriti sve možebitne uzroke i posljedice koje utječu na dijete koje se smatra pretilim.

Neke od standardnih parametara za određivanje statusa i razlike između pretilosti te prekomjerne težine, prema odredbama SZO-a su; indeks tjelesne težine (ITM), percentili, z vrijednosti, te mjerenje opsega struka. Nakon provedenih mjerenja tih parametara, u našem istraživanju, nastojala se utvrditi statistički značajna razlika između navedenih parametara u pretile djece u odnosu na normalno uhranjenu djecu, te koncentracije matriks metaloproteinaze 3 kod istih. Naime, hipoteza ovog istraživanja je bila bazirana na u literaturi dobro opisanoj ulozi matriks metaloproteinaze kao enzima koji sudjeluju u razgradnji izvanstaničnog matriksa. Hipoteza je da povećana aktivnost MMP-3 djeluje na preuređenje izvanstaničnog matriksa te se nakuplja tokom debljanja, kao odgovor organizma.

Istraživanje IDEFICS-a nam služi kao dobra usporedba, jer je cilj bio istražiti polimorfizme gena MMP-3 u 4540 djece, od koje je 3283 podvrgnuto ponovnom mjerenju nakon 2 godine. Zaključak istraživanja je bio da se po prvi put dokazala povezanost između MMP3 rs646910 varijante alela te indeksa debljine kod europske djece (16).

Na našem uzorku od 30 djece u ispitivanoj i 30 u kontrolnoj skupini nismo uspjeli dokazat statističku značajnost. To nikako ne znači da ona ne postoji, naime premali je uzorak u kojem bi se statistički mogla dokazat razlika između koncentracije MMP-3 u pretile djece i djece normalno uhranjene za svoju dob i spol. Rezultati ovog istraživanja trebali bi se potvrditi daljnjim detaljnijim istraživanjima, s puno većim uzorkom ispitanika.

6. ZAKLJUČAK

- Nema statistički značajne razlike u dobi, spolu, dijastoličkom arterijskom tlaku, tjelesnoj visini, trigliceridima, LDL-u, kao ni ukupnom kolesterolu između kontrolne i ispitivane skupine.
- Postoji statistički značajna razlika između ispitanika i kontrolne skupine u tjelesnoj težini, opsegu struka i bokova, ITM vrijednostima, HDL-u i sistoličkom arterijskom tlaku te vrijednostima koncentracije glukoze i inzulina.
- Sa P vrijednošću od 0,058 zaključujemo da ne postoji statistički značajna razlika u koncentraciji MMP-3 proteina između dvije skupine, što ne znači da ne postoji klinička značajnost. Budući je poznato da je patogeneza pretilosti kompleksna, potrebno je provesti daljnja istraživanja na većem broju ispitanika.

7. SAŽETCI

7.1 Sažetak

CILJ:

Osim što na pretilost gledamo kao veliki javno zdravstveni problem današnjice, višak kilograma možemo pojmiti kao ogromno opterećenje na tijelo, koje može dovesti do ozbiljnih bolesti i poremećaja. Naša pretpostavka je da tokom tog opterećivanja organizma, organizam pruža određeni odgovor i to na razini razgradnje izvanstaničnog matriksa. U vezu s tim se dovodi općenito porodica matriks metaloproteinaza. Stoga glavni cilj ovog istraživanja je izmjeriti koncentracije matriks metaloproteinaze 3 kod kontrolne skupine od tridesetero zdrave djeca i tridesetero ispitivane, pretila, djece, te prikazati je li postoji statistička značajnost.

MATERIJALI I METODE:

Nakon što su odrađena antropometrijska mjerenja, standardiziranim postupcima kao i laboratorijski testovi, koristili smo se imunokemijskom metodom koja nas je dovela do koncentracija MMP-3, metoda se zove ELISA i to BG MMP-3 ELISA kit, za kvantitativno određivanje humanog MMP-3. Kit koji je korišten rabi se samo za svrhu istraživanja. Princip rada ELISA sastoji se od takozvane "sendvič" enzimske imunoanalize, te se temelji se na reakciji antigen-protutijelo. Nakon dobivenih rezultata, slijedila je statistička obrada pomoću T tablica te hi kvadrat testa.

REZULTATI:

Dobiveni rezultati za tjelesnu težinu, opseg struka, ITM vrijednosti i sistoličkom arterijskom tlaku, HDL te vrijednosti koncentracije glukoze i inzulina, pokazuju statistički značajnu razliku u usporedbi sa kontrolnom skupinom ($P < 0.05$).

Nismo uspjeli utvrditi statistički značajnu razliku u dobi spolu, visini, trigliceridima, LDL-u, ukupnom kolesterolu, dijastoličkom tlaku kao i najbitnije ni u koncentraciji MMP-3 proteina između dvije skupine ($P > 0,05$).

ZAKLJUČAK:

Možemo zaključiti da za antropometrijske mjere, HDL, sistolički tlak, glukozu i inzulin postoji statistički značajna razlika. Za visinu, dob, spol dijastolički tlak, trigliceride, LDL, ukupni kolesterol i koncentraciju MMP-3 nismo uspjeli dokazati statistički značajnu razliku. Potrebno je uzeti veći uzorak ispitanika i provesti detaljnije istraživanje.

7.2. Summary

GOAL:

Besides interpreting obesity as one of the major public health problem, excess of kilos can also be seen as huge burden on our body, that can lead to some serious diseases and disorders. Our assumption is that during that burden, organism responds in a certain way, by degrading extracellular matrix. Matrix metalloproteinases are responsible for that. That being said, the main goal was to measure concentrations of matrix metalloproteinase 3 (MMP-3) in control group of 30 healthy children and in the examination group that consisted of 30 obese children, then see if there is statistically meaningful difference.

MATERIALS AND METHOD:

After proceeding anthropometric measurements and standardized laboratory tests, we used an immunochemistry method that led us to concentration of MMP-3. The method is called ELISA, and we used BG MMP-3 ELISA kit, for quantitative determination of Human MMP-3. Kit that was used is for research use only. The way this works is known as "sandwich method" and is based on reaction of antigen-antibody. After given results, we used T-table and chi square test to statistically process the results.

RESULTS:

Collected results for body weight, waist circumference, body mass index, High Density Cholesterol (HDL), systolic arterial pressure, as well as values of glucose and insulin, total cholesterol and triglyceride show that there is statistically meaningful difference in comparison with control group ($P < 0.05$).

We haven't been able to determine statistically meaningful difference in sex, height, Low Density Cholesterol (LDL), diastolic pressure nor in concentration of MMP-3 protein between two groups ($P > 0.05$).

CONCLUSION:

We can conclude that for anthropometric, as well as systolic pressure, glucosis, inzulin, HDL, there is meaningful statistical difference. For height, age, sex, diastolic pressure, LDL, total cholesterol and trygliceride and MMP-3 concentration, we haven't been able to determine statistically meaningful difference. Further researches are to be done.

8. LITERATURA

1. <http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>: 1.7.2018.
2. Hrvatski zdravstveno statistički ljetopis za 2006. godinu. Zagreb, HZJZ 2007;296-7.
3. Antonić-Degač K, Kaić Rak A, Mesaroš-Kanjski E, Petrović Z, Capak K. Stanje uhranjenosti i prehrambene navike školske djece u Hrvatskoj. PaediatrCroat. 2004;48:9-15.
4. Bralić I, Bralic I, Labura B, HegedusJungvirth M, etal. Pretilost predškolske djece u Hrvatskoj: rezultati multicentrične studije. PaediatrCroat. 2010;54(2):52-5. Jonathan R. I. Coleman, Eva Krapohl, Thalia C. Eley&GeromeBreen, individual and shared effects of social environment and polygenic scores on adolescent body mass indeks
6. Krushnapriya Sahoo, Bishnupriya Sahoo, Ashok Kumar Choudhury, Nighat Yasin Sofi, Raman Kumar, and Ajeet Singh Bhadoria, Childhood obesity: causes and consequences
7. Sveučilište u Splitu, medicinski fakultet; Marko Šimunović; Odrednice metaboličkog sindroma u pretilo djece i adolescenata liječenih na klinici za dječje bolesti KBC-a Split u razdoblju od 2008.-20013. godine
Izvor: Paediatr Croat 2008; 52 (Supl 1): 43-51; Geneteski čimbenici u nastanku pretilosti, Veselin Škrabić;
8. Ružica Šimić; Grelin i leptin: hormonska regulacija unosa hrane; Završni rad, Split, 2015.
9. O'Rahilly S. Leptin: defining its role in humans by the clinical study of genetic disorders. Nutr Rev 2002; 60: 20-9, 68-84, 85-7.
10. Sunčana Janković: Analiza leptina, adiponektina i polimorfizma gena za adiponektin i leptonski receptor u pretilo djece i adolescenata; Diplomski rad; Split, 2014. ; 9. <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:171:335384>; 3.7.2018
11. Z. Puharić, G. Rafaj, D. Čačić Kenjerić Uhranjenost i mogući preventabilni čimbenici utjecaja na uhranjenost učenika petih razreda na području Bjelovarsko-bilogorske županije Acta Med Croatica, 69 (2015) 439-450

12. Praktikum iz kolegija Molekularna onkologija; Nositelj kolegija: prof.dr.sc. Nada Oršolić, pripremila: Marina Kukolj, mag.bio.exp.

(<https://www.pmf.unizg.hr/download/repository/PRAKTIKUM.pdf>) ; 4.7.2018.

13. Metalloproteinases: A parade of functions in matrix biology and an outlook for the future Suneel S. Apte¹ and William C. Parks²,

14. Physiology and pathophysiology of matrix metalloprotease; T. Klein, R. Bischof

15. The role of TIMPs in regulation of extracellular matrix proteolysis Valerie Arpino^{a,d}, Michael Brocka^d and Sean E. Gill ^{a,b, c,d}

16. International Journal of Obesity (2013) 37, 1539–1544 & 2013 Macmillan Publisher limited all rights reserved 0307-0565/13 www.nature.com/ijo; Original article: Polymorphisms of matrix metalloproteinase gene and adiposity indices in European children: results of the IDEFICS study D Cugino¹ , F Gianfagna¹ , W Ahrens^{2,3}, S De Henauw⁴ , AC Koni⁵ , S Marild⁶ , D Molnar⁷ , LA Moreno⁸ , Y Pitsiladis⁵ , P Russo⁹ , A Siani⁹ , M Tornaritis¹⁰, T Veidebaum¹¹ and L Iacoviello¹ on behalf of the IDEFICS Consortium

17. Preuzeto iz knjižice s uputama za kit; Human Matrix Metalloproteinase 3 (MMP-3) Elisa kit; www.bluegene.cc; www.elisakit.cc

18. Zdravstveno veleučilište u Zagrebu Vježbe iz statistike

(https://ldap.zvu.hr/~oliverap/VjezbeIzStatistike/7_T-test%20vje%C5%BEbe.pdf):9.7.2018.

19. (<http://zaf.biol.pmf.unizg.hr/behaviour/Hi%20kvadrat%20test.pdf>): 9.7.2018

9. ŽIVOTOPIS



Životopis

OSOBNE INFORMACIJE

Govorko Matea

Orah 31, 21276 Vrgorac (Hrvatska)
 +385991959402
 matea.govorko31@hotmail.com

RADNO ISKUSTVO

Hrvatski Telekom-prodaja

OBRAZOVANJE I OSPOBLJAVANJE

2003–2011

Osnovna škola Vrgorac - Područna škola Orah, Osnovna škola Vrgorac

2011–2015

Srednja Škola Tina Ujevića- gimnazija

2015–2018

Sveučilišni odjel zdravstvenih studija, smjer Medicinsko laboratorijska dijagnostika, Split

OSOBNE VJEŠTINE

Maternski jezik Hrvatski

Strani jezici

	RAZUMJEVANJE		GOVOR		PISANJE
	Slušanje	Čitanje	Govorna interakcija	Govorna produkcija	
Engleski	C1	B2	B2	B2	B2
Španjolski	A1	A2	A1	A1	A1
Njemački	A1	A1	A1	A1	A1

Skupnjevi: A1 | A2- Početnik - B1 | B2: Samostalni korisnik - C1 | C2: Iskusni korisnik
Zajednički europski referentni okvir za jezike

Komunikacijske vještine Dobre komunikacijske vještine, zahvaljujući radnom iskustvu u Hrvatskog Telekomu. Timski nastrojena.

Organizacijske / rukovoditeljske vještine Smisao za organizaciju, nije mi strano preuzimanje inicijative ako za tim postoji potreba, u svrhu obavljanja posla kvalitetno i na vrijeme-

Digitalne vještine

SAMOPROCJENA				
Obrada informacija	Komunikacija	Stvaranje sadržaja	Sigurnost	Rješavanje problema
Samostalni korisnik	Samostalni korisnik	Samostalni korisnik	Temeljni korisnik	Samostalni korisnik

Digitalne vještine - Tablica za samoprocjenu

Također informatički pismena, vješto baratanje sa osnovnim OFFICE paket.

Ostale vještine	Članica studentskog zbora. Tokom studija pohađala i sudjelovala na 4. Kongresu Strukovnog razreda za medicinsko-laboratorijsku djelatnost, u Zagrebu. Zainteresirana za struku, napredak i konkretno svoju ulogu u istom.
Vozačka dozvola	B