

NUTRIGENOMIKA: INTERAKCIJE MED GENSKIMI POLIMORFIZMI IN SESTAVINAMI HRANE

NUTRIGENOMICS: INTERACTION BETWEEN CERTAIN GENETIC POLYMORPHISMS AND A DIET

Tamara Poklar Vatovec¹, Mojca Bizjak¹, Zala Jenko Pražnikar¹

Prispelo: 6. 11. 2009 - Sprejeto: 16. 3. 2010

Pregledni znanstveni članek
UDK 575:613

Izvleček

Meja med zdravjem in boleznijo je pogojena s kompleksnim ravnotežjem dveh elementov, genetike na eni strani in načinom življenja na drugi. Nutrigenomika je pristop, s katerim lahko prehranjevanje prilagodimo posamezniku, oziroma posamezniku priporočimo posamezna živila glede na njegov genetski ustroj. Namen preglednega članka je predstaviti posamezne interakcije in povezave med genskimi polimorfizmi in sestavinami hrane ter povečanim tveganjem za razvoj tako bolezni srca in ožilja kot rakavih obolenj. Poznamo namreč kar nekaj bioaktivnih sestavin v hrani, ki lahko pozitivno ali negativno vplivajo tako na potek ateroskleroze, kot tudi na pojav rakavega obolenja.

Moramo pa se zavedati, da čas individualizirane prehrane še ni napočil, potrebne so številne ponovitve obetajočih rezultatov na različnih populacijah. Preiti moramo tudi iz osnovnega, enostavnega eksperimenta (ena sestavina hrane, enojni nukleotidni polimorfizem, dejavnik tveganja) na resnične razmere, ki vključujejo medsebojno vplivanje številnih genov, sestavin hrane in dejavnikov tveganja. Če povzamemo, potrebne so večje populacijske in dobro standardizirane študije.

Ključne besede: nutrigenomika, bolezni srca in ožilja, rak, večkratnenasičene maščobne kisline, vprašalnik o pogostosti uživanja hrane

Review article
UDC 575:613

Abstract

The boundary between health and disease is often defined by a complex equilibrium between two elements, genetics and lifestyle. The aim of nutrigenomics is to personalize nutrition and its effects on health by tailoring food to the individual genotype. The purpose of this review was to present the interaction between certain genetic polymorphisms and a diet, on the one hand, and increased cardiovascular or cancer risk, on the other. It is well-known that a large number of bioactive food components may provide protection against or increase risk for atherosclerosis and cancer processes.

However, these findings are not yet applicable to the clinical environment. The results need to be replicated in various populations, and based on a higher-level scientific evidence. Moreover, the relatively simple scenarios used today (i.e. a single dietary component, a single nucleotide polymorphism and one risk factor) will have to be replaced by more realistic situations involving interactions between multiple genes, dietary components, and risk factors. In summary, well-standardized studies in larger populations will have to be undertaken in the future.

Key words: nutrigenomics, cardiovascular disease, cancer, polyunsaturated fatty acids, food frequency questionnaire

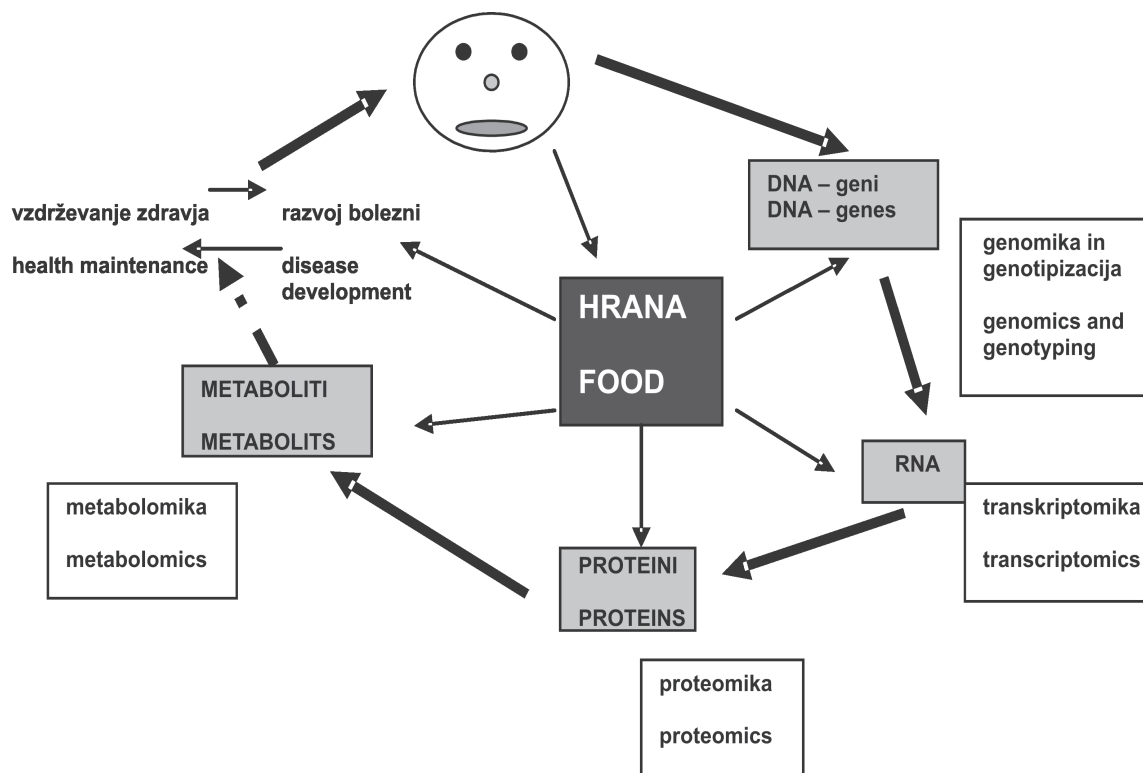
1 Uvod

V zadnjih dveh stoletjih smo ugotovili, kako poteka metabolizem osnovnih hranil. Vemo, da človeški organizem dobiva energijo pri oksidativni razgradnji ogljikovih hidratov, beljakovin in maščob. Sproščena energija se nato porabi za različne biokemijske procese, ki potekajo v celicah. Poznamo tudi izvor sestavin hrane, vemo kako poteka izmenjava energije (1) in na kakšen način hranila uravnavajo homeostazo organizma (2). Poleg tega poznamo tudi vlogo mikrohranil, še posebej mineralov in vitaminov (3, 4). Poznamo pa tudi vpliv ogljikovih hidratov in maščob na različna bolezenska stanja, npr. diabetes in aterosklerozo (5). Kljub temu pa mehanizem, preko katerega hranila vplivajo na bolezenska stanja, ostaja nejasen. Zakaj se lahko posamezniki prehranjujejo z mastno hrano, pa kljub temu nimajo znakov ateroskleroze in nimajo težav z debelostjo? Izkazalo se je, da so nekateri posamezniki praktično neobčutljivi na prehrano, drugi pa pretirano občutljivi na vnos posameznih hranil. Vprašamo se, kako je to

možno? Vsekakor se strinjamo, da obstajajo določene genetske razlike med posamezniki, kljub temu pa še nismo prišli do razjasnitve celičnega, molekularnega in genetskega mehanizma, da bi razumeli medsebojno vplivanje med geni in hranili.

Razvoj novih orodij na molekularni ravni je v zadnjem času spodbudil znanstvenike k postavljanju novih hipotez in izvajanju raziskav za razumevanje medsebojnega vplivanja genov in hranil. Tako se je razvilo novo področje - nutrigenomika. Je porajajoča se veda, ki povezuje genomiko, transkriptomiko, proteomiko in metabolomiko s prehrano (Slika 1), zlasti v povezavi med prehrano in zdravjem. Ukvarja se s prehranjevanjem in zdravjem ljudi, pri čemer upošteva genetske razlike posameznika pri njegovem odgovoru na hrano, raziskuje pa tudi, kako hrana vpliva na gensko izražanje, biokemijo in presnovo posameznika (6).

Tako osnova nutrigenomike temelji na posameznih konceptih: (a) prehrana je pomemben dejavnik tveganja za vrsto bolezni; (b) sestavine hrane lahko neposredno ali posredno interagirajo z genomom, tako da vplivajo



Slika 1. Nutrigenomika je veda, ki povezuje genomiko, transkriptomiko, proteomiko in metabolomiko s prehrano, zlasti povezanih med prehrano in zdravjema.

Figure 1. Nutrigenomics, the science linking genomics, transcriptomics, proteomics and metabolomics to nutrition, especially in the contexts of nutrition and health.

na spremembo v izraženosti posameznega gena; (c) zaradi različne genske zasnove lahko pri posamezniku s prehrano vplivamo na njegovo zdravstveno stanje; (d) določene gene lahko s prehrano uravnavamo, ti pa imajo pomembno vlogo pri pojavnosti in napredovanju posameznih kroničnih bolezni; (e) personalizirana prehrana lahko kronične bolezni omili ali celo prepreči (7).

Zaenkrat se vse nutrigenomske študije ukvarjajo z vplivom genetskega zapisa za različne proteine, ki sodelujejo pri presnovi in prenosu posameznega hranila na sam učinek hranila. Ne smemo pa pozabiti, da se v končni učinek posameznega hranila poleg genetskih dejavnikov vpletajo tudi vplivi okolja in številne druge lastnosti posameznika, med katerimi so izjemno pomembni tudi številni psihološki dejavniki (8). Sestavni del te kompleksnosti je tudi zelo različen odziv na posamezno hranilo.

V članku predstavljamo posamezne medsebojne vplive med geni in maščobami, pri čemer del pregleda posvečamo tudi oceni prehranskega vnosa, ki igra odločilno vlogo pri sposobnosti ocenjevanja povezave med prehranskim vnosom in boleznijo. Visoka kakovost informacij o tem, kaj človek poje, kako pogosto neko hrano uživa in kako hrano pripravi, je ključnega pomena pri nutrigenomiki. Šibka točka študij o sovplivanju med geni in hranili so prav pomanjkljivi podatki o prehranjevanju (9).

2 Sovplivanje med geni in sestavinami hrane

Kako lahko posamezna sestavina hrane (npr. večkratnenasičena maščobna kislina) ali neka druga kemična snov preko specifične interakcije vpliva na izražanje gena? Najenostavnejši mehanizem komunikacije med večkratnenasičenimi maščobnimi kisljinami in geni je preko specifičnega transkripcijskega faktorja, ki uravnava gensko transkripcijo. Receptor, aktiviran s proliferatorjem peroksisomov (PPAR), je najboljše poznan receptor, ki ga uravnava večkratnenasičene in druge maščobne kisline (10-13). Maščobne kisline se namreč po vstopu v celico prenesejo do jedra s pomočjo vezavnega proteina, ki jim olajša interakcijo s PPAR, nato pa se slednji lahko veže na specifično zaporedje molekule DNA, ki se nahaja v promotorskem območju določenih genov in tako vpliva na njihovo izražanje (12, 14).

Predstavljena je enostavna interakcija med eno sestavino hrane in geni, vendar pa ponavadi zaužijemo jed iz raznolikih sestavin in lahko si predstavljamo, da

je tak primer izjemno kompleksen. Različne sestavine hrane bodo namreč vplivale na genski odgovor, ključni pa so tudi polimorfizmi posameznih nukleotidov v promotorskem območju genov, ki so vključeni v celoten proces. Torej moramo v bolj kompleksnem primeru poznati različne sestavine hrane ter njihov vpliv na določene gene in njihove polimorfizme. V nadaljevanju je predstavljeno predvsem sovplivanje med maščobami, zlasti maščobnimi kisljinami, in geni, zato je podrobneje predstavljena ta vrsta hranil.

2.1 Sestavine hrane – maščobe in maščobne kisline

Maščobe so energijska hranilna snov. Z njimi zagotavljamo od 20 do 30 % dnevnih potreb po energiji. Telesu zagotovimo tudi ustrezno količino v maščobah topnih vitaminov (A, D, E, K) ter esencialne maščobne kisline. Poznamo prave maščobe ali lipide ter maščobam podobne snovi ali lipoide, med katere sodijo fosfolipidi, holesterol, ergosterol, žolčne kisline in karotenoidi.

Lipidi so estri glicerola in višjih maščobnih kislin. V molekulah trigliceridov imajo največji masni delež maščobne kisline, ki tudi najbolj vplivajo na njihove lastnosti. Maščobne kisline predstavljajo reaktivni del trigliceridov, zato je poznavanje fizikalno-kemijskih lastnosti maščobnih kislin zelo pomembno za razumevanje lastnosti teh molekul. V naravnih oljih in masteh je zastopano zelo veliko število maščobnih kislin. Prevladujejo maščobne kisline z ravno verigo in skoraj praviloma s parnim številom ogljikovih atomov z eno karboksilno skupino. Te maščobne kisline se medsebojno razlikujejo na osnovi števila ogljikovih atomov v molekuli, nasičenosti oziroma nenasičenosti ogljikovih atomov in na osnovi števila ter položajev dvojnih vezi.

Pri normalnih nasičenih maščobnih kisljinah je radikal enostavna parafinska veriga, pri čemer je vsak ogljikov atom nasičen. V naravnih oljih in masteh so najpogosteje zastopane nasičene maščobne kisline s 4 do 22 ogljikovimi atomi. Maščobne kisline s 24 in 26 ogljikovimi atomi se nahajajo predvsem v voskih. V rastlinskih in živalskih maščobah so najbolj razširjene: lavrinska, miristinska, palmitinska in stearinska maščobna kislina. V mlečnih maščobah prevladujejo nižje maščobne kisline C4 - C10. Nasičene maščobne kisline z neparnim številom ogljikovih atomov so v naravnih maščobah prisotne le v sledovih.

Maščobne kisline se v odvisnosti od števila dvojnih vezi delijo na enkrat- in večkratnenasičene. V masteh in oljih se v glavnem nahajajo nenasičene maščobne

kislina s parnim številom ogljikovih atomov. Izjema so mlečne maščobe, ki vsebujejo nižje enkratnenasičene maščobne kisline z neparnim številom ogljikovih atomov. Najpogosteje so prisotne nenasičene maščobne kisline z 18 ogljikovimi atomi, in sicer z eno, z dvema ali s tremi dvojnimi vezmi. Reaktivnost maščobnih kislin je odvisna od števila in položaja dvojnih vezi v molekulah.

Oleinska kislina je najbolj razširjena enkratnenasičena maščobna kislina in se nahaja praktično v vseh oljih in masteh. V nekaterih jedilnih oljih in masteh je njen delež celo višji od 50 %. Palmitoleinska kislina je prav tako razširjena v naravnih maščobah, nekatere druge pa se nahajajo samo v določenih maščobah: vakcenska kislina v maslu in loju, gadoleinska kislina v gorčičnem olju, olju oljne ogrščice in v ribjih oljih, petroselininska v olju peteršilja in eruična kislina v gorčičnem olju in olju oljne ogrščice (15).

Med večkrat-nenasičenimi maščobnimi kislinami sta najpomembnejša predstavnika esencialna linolna (LA) in alfa-linolenska kislina (ALA). Prisotni sta v vseh oljih in masteh, da njuni deleži pa variirajo v zelo širokih mejah (15, 16, 17). Tako arahidonsko kislino kot dokozaheksaenojsko kislino (DHA) lahko sintetiziramo iz obeh esencialnih maščobnih kislin

(16). Vse omenjene maščobne kisline spadajo med pomembne večkratnenasičene maščobne kisline in so prikazane v Tabeli 1.

Priporočljiv energijski delež n-6 esencialnih maščobnih kislin naj bi predstavljal pri mladostnikih in odraslih 2,5 % dnevnih energijskih potreb, n-3 esencialnih maščobnih kislin pa 0,5-odstotni delež (18).

Če odrasla oseba uživa do 30 % skupne prehranske energije v obliki maščob, naj bi delež nasičenih maščobnih kislin z dolgimi verigami znašal največ tretjino v obliki maščob vnesene energije, kar ustreza 10 % skupne energije. Večkratnenasičene maščobne kisline naj bi predstavljale 7 % prehranske energije oziroma do 10 %, če vnos nasičenih maščobnih kislin presega 10 % skupne energije, da bi preprečili povišanje koncentracije holesterola v plazmi (19).

Holesterol v prehrani sicer v povprečju le malo zvišuje koncentracijo holesterola v plazmi, vendar od osebe do osebe v različni meri (20). Tudi koncentracija holesterola LDL v krvi se zaradi prehranskega holesterola v primerjavi z nasičenimi maščobnimi kislinami le malo poviša (19), vendar pa lahko okrepi neželen odziv serumskega holesterola na nasičene maščobne kisline (20). Zato naj vnos holesterola s hrano ne bi bistveno presegal 300 mg/dan (18).

Tabela 1. Pregled prehransko pomembnih večkratnenasičenih maščobnih kislin (15).

Table 1. Overview of major dietary polyunsaturated fatty acids (15).

Okrajšava Abbreviation	Kemijsko ime Chemical name	Trivialno ime Trivial name
18:3n-3	<i>cis</i> -9,12,15-oktadekatrienojska kislina <i>cis</i> -9,12,15-octadecatrienoic acid	alfa-linolenska kislina (ALA) alpha linolenic acid (ALA)
20:5n-3	<i>cis</i> -5,8,11,14,17-eikozapentaenojska kislina <i>cis</i> -5,8,11,14,17-eicosapentaenoic acid	eikozanopentaenojske kisline (EPA) eicosapentaenoic acid (EPA)
22:6n-3	<i>cis</i> -4,7,10,13,16,19-dokozaheksaenojska kislina <i>cis</i> -4,7,10,13,16,19-docosahexaenoic acid	dokozaheksaenojske kisline (DHA) docosahexaenoic acid (DHA)
18:2n-6	<i>cis</i> -9,12-oktadekadienojska kislina <i>cis</i> -9,12-octadecadienoic acid	linolna kislina (LA) linoleic acid (LA)
18:3n-6	<i>cis</i> -9,12,12-oktadekatrienojska kislina <i>cis</i> -9,12,12-octadecatrienoic acid	gama-linolenska kislina gamma linolenic acid
20:3n-6	<i>cis</i> -8,11,14-eikozatrienojska kislina <i>cis</i> -8,11,14-eicosatrienoic acid	dihomo-gama-linolenska kislina dihomo gamma linolenic acid
20:4n-6	<i>cis</i> -5,8,11,14-eikozatetraenojska kislina <i>cis</i> -5,8,11,14-eicosatetraenoic acid	arahidonska kislina (AA) arachidonic acid (AA)
22:4n-6	<i>cis</i> -7,10,13,16-dokoza-tetraenojska kislina <i>cis</i> -7,10,13,16-docosatetraenoic acid	adrenska kislina adrenic acid

2.1.1 Funkcionalna živila

Čeprav je funkcionalna hrana nov trend v prehranski industriji, jo kitajska tradicionalna medicina pozna že od leta 1000 pr. n. št. Dandanes največ funkcionalne hrane pridelajo na Japonskem, kjer obstaja tudi zakonska regulativa za tovrstne izdelke. Zamisel o funkcionalni hrani so na Japonskem prvič predstavili leta 1984, medtem ko je v Evropi od sredine devetdesetih let na tem področju vodilna Finska.

Funkcionalna hrana je posebna kategorija živil, ki ji pripisujejo nekaj več kot tradicionalnim živilom. To je hrana, ki oskrbuje organizem z osnovnimi hranili, poleg tega pa preprečuje bolezni in prispeva k boljšemu zdravstvenemu stanju. Roberfroid (21) navaja, da je živilo funkcionalno, če vsebuje sestavine, ki pozitivno učinkujejo na eno ali več funkcij organizma, Pariza (22) pa predlaga novo definicijo, in sicer, da je funkcionalno živilo proizvedeno živilo, za katerega je znanstveno dokazano, da ima pozitiven vpliv na zdravje. Že leta 1995 je na trg prišla margarina Benecol s fitosterolnimi estri, za katere so v finski populaciji dokazali, da zniža holesterol HDL za 14 % (23). V zadnjem času je prodajno najbolj uspešen mlečni proizvod z rastlinskimi steroli z imenom Danacol, katerega proizvajalec trdi, da ob rednem uživanju lahko privede do znižanja vsebnosti holesterola v krvi do 10 %, če ga uživamo neprekinjeno najmanj 3 tedne.

Teorija funkcionalnega živila se danes ukvarja z dvema vidikoma odkrivanja funkcionalnosti. Prvi je vezan na ugotavljanje učinkovitosti posamezne sestavine, ki ima tako imenovano biološko aktivnost, medtem ko drugi koncept vidi učinek v interaktivni dejavnosti živila kot celote. Cilji obeh pristopov so osredotočeni na ključne probleme sedanjega človeka, ki je dovolj premožen, da se lahko prepusti številnim priporočilom marketinško večjih proizvajalcev, ki včasih ne znajo odgovoriti na vsa vprašanja o metabolni poti funkcionalnega živila, pač pa odmevno izluščiti tiste pozitivne strani, ki obetajo največji dobiček, a žal ne vedno potrošniku (23).

2.2 Merjenje interakcij med geni in sestavinami hrane

Metode, ki se uporabljajo v genetiki in epidemiologiji za proučevanje sovpiljanj med geni in sestavinami hrane, se neprestano razvijajo, pri čemer interakcije med geni in sestavinami hrane vedno temeljijo na določitvi statistične značilnosti posameznih interakcij. Poznamo tako retrospektivne kot prospektivne študije. Najboljšo oceno o prehranskem vnosu predstavljajo prospektivne metode, izvedene pod strogimi pogoji, vendar so take

metode drage, logistično precej omejene, kar se odraža v majhnem analiziranem vzorcu (9). V drugem primeru imamo bistveno večje vzorce, vendar pa so lahko problematični vprašalniki, na katere udeleženci študije odgovarjajo nenatančno, kar seveda zmanjša zanesljivost rezultata. Vsekakor smo znaten delež našega znanja o prehranskem vnosu in obolevnosti pridobili z retrospektivnimi metodami: beleženjem prehrane za nazaj, zgodovino prehranjevanja, jedilnikom prejšnjega dne ali vprašalnikom o pogostosti uživanja hrane. Vsaka metoda ima svoje prednosti in slabosti. Vprašalnik o pogostosti uživanja hrane je bil najbolj pogosto uporabljena metoda v večini študij, vendar pogosto vprašljiva. Pomembno vprašanje pri prehranskih epidemioloških študijah je, katera prehranska informacija je najbolj ustrezna. Ali bodo podatki ustrežnejši, če uporabimo živila, hranila ali prehranjevalne navade?

Različni načini priprave jedi in različne oblike toplotne obdelave živil lahko bistveno vplivajo na končno vsebnost hranil v pripravljenih jedeh (9). Živila vsebujejo na tisoče specifičnih kemijskih sestavin, nekatere so dobro poznane in določljive, druge pa skopo karakterizirane, nekatere zelo geografsko in sezonsko nihajo ali pa jih celo ne poznamo. Jacobs in Steffen (24) predlagata celovito raziskovalno metodo, s katero lahko zajamemo živila in posamezna hranila, ki jih ta vsebujejo, ter prehranjevalne navade.

Za celovito oceno prehranskega vnosa je torej pomemben podatek o receptu, pripravi jedi in postopku priprave jedi. Pomembno je na primer, koliko olja uporabimo, kdaj dodamo olje, kakšni so toplotni postopki in temperature pri pripravi jedi. Po toplotni obdelavi maščob pride do oksidacije, sovpiljanja med maščobami in beljakovinami, tvorijo se hidroperoksidi, aldehidi, epoksidi, oksidirani holesterol, *trans*maščobne kisline in drugi produkti (25). Količina nastalih spojin je odvisna od temperature, prisotnosti kisika in trajanja postopka (26). Posledica toplotnih postopkov je spremenjena sestava vhodnih živil, na kar moramo biti izredno pozorni. Problem v Sloveniji so tudi pomanjkljivi podatki o sestavi živil, saj še ni zakonsko obvezno navajati podatkov o prehranski vrednosti živil. Pogosto so podane vrednosti makrohranil (ogljikovi hidrati, maščoba in beljakovine), redko pa vrednosti mikrohranil (vitamini, minerali, esencialne maščobne kisline in esencialne aminokisline).

Za dobro oceno prehranskega vnosa je potrebno izdelati vprašalnik, kar je tehnično zahtevna naloga (27). Ta zahteva pet pomembnih korakov. Prvi korak je opredelitev ciljne populacije in namena vprašalnika. Drugi korak je navajanje vira informacij

o sestavi živil. Tretji korak je natančen izbor živil, ki predstavljajo vir obravnavanega hranila. Četrti korak je podatek o velikosti, oziroma izbor kvantitativne ali

semikvantitativne metode. Peti, zadnji korak je dodeliti vsebnost hranil posameznim živilom, ki jih uporabljamo za končni izračun.

VPRAŠALNIK O POGOSTOSTI UŽIVANJA HRANE
FOOD FREQUENCY QUESTIONNAIRE

DATUM: _____
DATE: _____

Kako ste v zadnjih štirih tednih običajno zabelili solato? (Označite ustrezno živilo.)

- S hladno stisnjeno oljčnim oljem, z oljčnim oljem, z rastlinskim oljem, s sončničnim oljem, z repičnim oljem, s sojinim oljem, z bučnim oljem, z arašidovim oljem, z oljem koruznih kalčkov, z oljem makadamije, z mandljevim oljem, s sezamovim oljem, z lanenim oljem, z drugim oljem: _____ (Vpišite ustrezna živila).

Kako pogosto ste uporabili označena olja? Ustrezno označite v tabeli.

Ali ste v zadnjih štirih tednih zabelili solato z jogurtovim prelivom? Ali je bil preliv sestavljen iz jogurta iz polnomastnega mleka ali jogurta iz delno posnetega mleka? Katere sestavine so bile še v prelivu: _____ (Vpišite ustrezna živila).

Kako pogosto ste uporabili jogurtov preliv? Ustrezno označite v tabeli.

Ali ste v zadnjih štirih tednih zabelili solato z majoneznim prelivom? Ali je bil preliv sestavljen iz navadne majoneze ali lahke majoneze? Katere sestavine so bile še v prelivu: _____ (Vpišite ustrezna živila).

Kako pogosto ste uporabili majonezni preliv? Ustrezno označite v tabeli.

Označite v tabeli običajno velikost porcije (majha (S), srednja (M), velika (L)).

Če v zadnjih štirih tednih niste uživali omenjenih živil, označite »nikoli«.

Over the past 4 weeks, how did you eat your salad with? Mark correct food.

- With extra virgin olive oil - cold pressed, olive oil, vegetable oil, sunflower oil, rapeseed oil, soybean oil, pumpkin seed oil, peanut oil, corn germ oil, macadamia nut oil, almond oil, sesame oil, linseed oil, other oil: _____.

How often did you eat your salad like this? Mark the box under the correct heading.

Over the past 4 weeks, how often did you eat your salad with yogurt dressing? It was normal or low fat yogurt?

Which were the other ingredients: _____.

Over the past 4 weeks, how often did you eat your salad with mayonnaise dressing? It was normal or low fat mayonnaise?

Which were the other ingredients: _____.

Indicate whether you think your usual serving size is small (S), medium (M) or large (L) by marking the correct serving size box.

If you have not eaten this food in the past 4 weeks, mark »none«.

Živilo Food	Nikoli None	S = 10g	M = 20g	L = 30g	Enkrat na mesec Once a month	Manj kot enkrat na teden Less than once a week	1-2 krat na teden 1-2 times a week	3-4 krat na teden 3-4 times a week	5-6 krat na teden 5-6 times a week	Vsak dan 1x Daily	Večkrat na dan More than once a day
Olje: <u>hladno stisnjeno oljčno olje</u> Oil: <u>extra virgin olive oil - cold pressed</u>			X							X	
Olje: <u>bučno olje</u> Oil: <u>pumpkin seed oil</u>			X			X					
Jogurtov preliv Yogurt dressing	X										
Majonezni preliv Mayonnaise dressing	X										
Ocvirki Cracklings	X										
Drugo (opišite sestavo in postopek priprave solate): Other (describe composition and procedure of preparation of your salads):											
Opombe: Note:											

Legenda:
S = majhna porcija, 10g je ena velika polna žlica
M = srednja porcija, 20g sta dve veliki polni žlici
L = velika porcija, 30g so tri velike polne žlice

Legend:
S = small serving, 10g is one tablespoonful
M = medium serving, 20g are two tablespoonful
L = large serving, 30g are three tablespoonful

Slika 2. Primer kvantitativnega vprašalnika za celovito oceno prehranskega vnosa. Prerejeno po (27).
Figure 2. An example of a quantitative food frequency questionnaire. Adapted from (27).

Zaradi problematičnih vprašalnikov je predstavljen del vprašalnika, ki zajema vnos maščob (Slika 2). Predstavljen je kvantitativni vprašalnik o pogostosti uživanju maščob, ki je namenjen odrasli populaciji, za določitev dietnih navodil glede na gensko zasnovu. Vir informacij o sestavi živil zajema zbirko podatkov, ki je dostopna preko spleta na naslovu <http://optijed.ijs.si/optijed/>. Vprašalnik namreč mora biti pripravljen tako, da predvideva tipične prehranjevalne navade. Vemo, da se v Sloveniji kljub majhnosti prehranjevalne navade med pokrajinami zelo razlikujejo, razlike pa obstajajo tudi med spoloma. Pozorni moramo biti na slabe prehranjevalne navade Slovencev, predvsem pa tiste, ki povečujejo vnos maščob v celodnevni prehrani.

Te so: pogosto uživanje ocvrtih in pečenih jedi, uporaba »slabih« maščob, uživanje polnomastnega mleka in polnomastnih mlečnih izdelkov ter pogosto uživanje mastnih mesnih izdelkov (28). Za najboljše ocenjevanje velikosti porcij uporabimo merska orodja, domače mere, slike, modele živil ali sama živila. Bolnika moramo vprašati o izdelku, znamki, proizvajalcu ali prodajalcu, saj je vsebnost maščob pri podobnem izdelku lahko zelo različna. Na primer fermentirana mleka in podobni izdelki lahko vsebujejo od 0,3 g do 7,9 g maščob na izdelek (Tabela 2). Vprašalnik mora izpolnjevati izkušen dietetik, ki osebo pravilno in natančno izpraša, pozna različne izdelke in pomaga bolniku pri navajanju podatkov.

Tabela 2. *Energijska in hranilna vrednost v različnih jogurtih (podatki temeljijo na označbah na embalaži živil).*

Table 2. *Energy and nutritive value of different types of yoghurt (data are converted from nutrient content claims on food labelling).*

Sadni jogurtov napitek v plastenki Fruit yoghurt drink in plastic bottle	Sadni tekoči jogurt, Mlekarna Celeia Fruit yoghurt drink, Celeia diary	Fermentirano mleko s sadjem, Dukat Fermented milk with fruit, Dukat	Jogurtov napitek s sadjem Yogsi, Dukat Fruit yoghurt drink Yogsi, Dukat	Jogurtov napitek s sadjem Fruity, Meggle Fruit yoghurt drink Fruity, Meggle	Activia jogurtov napitek s sadjem, Danone Fruit yoghurt drink Activia, Danone	Ego jogurtov napitek s sadjem Slim&Vital, Ljubljanske mlekarne Ego fruit yoghurt drink Slim&Vital, Ljubljanske mlekarne	Actimel, jogurt s sadjem, Danone Fruit yoghurt drink Actimel, Danone
Vseбина Contents	500 g	330 g	330 g	330 g	300 g	250 g	100 g
Energijska vrednost/ vsebino Energy value/ content	1670 kJ (395 kcal)	561 kJ (123 kcal)	1075,8 kJ (257,4 kcal)	1155 kcal (273,9 kcal)	987 kJ (234 kcal)	747,5 kJ (177,5 kcal)	316 kJ (75 kcal)
Beljakovine/ vsebino Protein content	13,0 g	11,2 g	10,2 g	10,9 g	8,4 g	7,5 g	2,7 g
Ogljikovi hidrati/ vsebino Carbohydrate content	69,5 g	21,1 g	44,8 g	39,9 g	38,7 g	31,5 g	11,8 g
Maščobe/ vsebino Fat content	6,5 g	0,3 g	4,2 g	7,9 g	5,1 g	2,3 g	1,5 g
Od teh nasičene maščobne kisline/ vsebino Saturated fatty acid content	ni podatka No data	ni podatka No data	ni podatka No data	ni podatka No data	2,7 g	1,8 g	1,1 g

3 Kandidatni geni, njihovi polimorfizmi in primeri statistično značilnih sovpilvanj med geni in sestavinami hrane

V nadaljevanju so predstavljeni nekateri primeri interakcij med geni in maščobami (predvsem maščobnimi kislinami), ki so pomembni dejavniki pri razvoju srčno-žilnih in rakavih obolenj. Kandidatni geni pri nutrigenomiki so predvsem tisti, ki nosijo

zapis za encime, ki sodelujejo pri presnovi hranil, in receptorje, ki sodelujejo pri vnosu in prenosu hranil (Tabela 3).

3.1 Nutrigenomika ter bolezni srca in ožilja

Bolezni srca in ožilja so posledica zapletenih medsebojnih vplivov genetskih in okoljskih dejavnikov. Različni dokazi podpirajo tezo, da gensko-okoljske interakcije vplivajo na koncentracijo maščob v plazmi in posledično tudi na tveganje za razvoj bolezni srca

Tabela 3. Kandidatni geni in polimorfizmi pri nutrigenomiki.

Table 3. Candidate genes and polymorphisms in nutrigenomics.

BELJAKOVINA PROTEIN	GEN GENE	GENOTIP GENOTYPE	NUTRIENT NUTRIENT	POMEN SIGNIFICANCE
Apolipoprotein A1	APOA1	-75G>A	n-3, n-6 maščobne kisline/fatty acids	sprememba koncentracije holesterola HDL v plazmi Differences in HDL-cholesterol concentration
Apolipoprotein A5	APOA5	-1131T>C	maščobne kisline/fatty acids	sprememba ITM Differences in relation to body mass index
Endotelna sintaza dušikovega oksida	eNOS	Glu298Asp	n-3 maščobne kisline/fatty acids	spremembe endotelnih funkcij Differences in relation to the impact on endothelial function
Arahidonska 5- lipoksigenaza	5-LOX	Tandem Sp1vezavni motivi	n-6 maščobne kisline/fatty acids	spremenjena debelina v stenah arterij Changed intima-media thickness in the arterial wall
Arachidonate 5- lipoxygenase		Tandem Sp1 binding motifs		
Ciklooksigenaza-2	COX-2	+6365T>C	n-3 maščobne kisline/fatty acids	spremenjeno tveganje za razvoj raka prostate Changed risk for development of prostate cancer
Cyclooxygenase-2				
Glutation S- transferaze	GSTT1	GSTT1 nulti genotip	n-3 maščobne kisline/fatty acids	spremenjeno tveganje za razvoj raka dojke
Glutathione S- transferases		GSTT1 null genotype		Changed risk for development of breast cancer

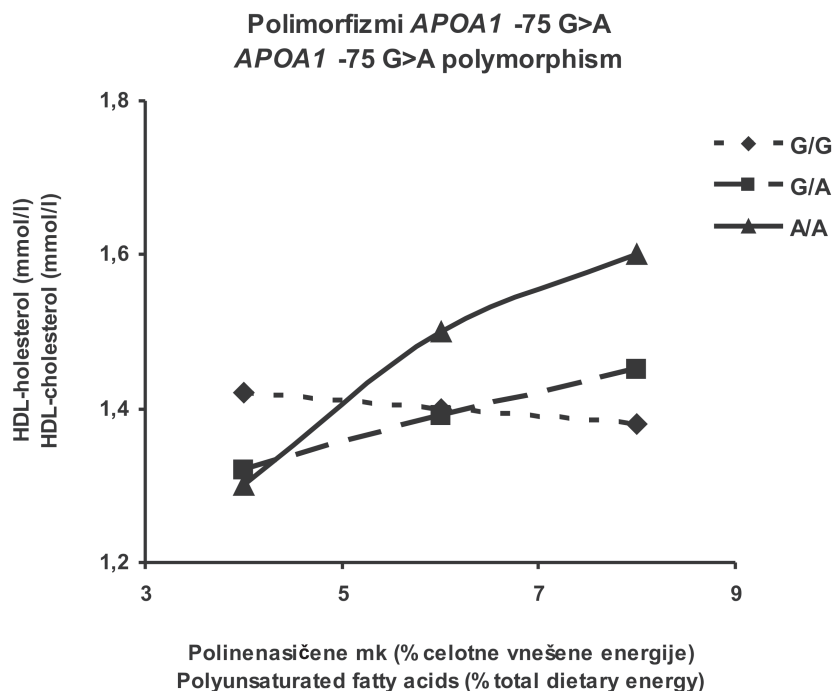
in ožilja. Ko je postavljena genetska osnova bolezni, se usmerimo k iskanju značilnih genov in genetskih različic, ki vplivajo na tveganje za razvoj bolezni (29-31). Tako iskanje je potekalo približno dve desetletji in odkrili so kar nekaj genov, izmed katerih nekatere so predstavljamo v nadaljevanju.

3.1.1 Apolipoprotein A1

Apolipoprotein A1 (Apo A1) se primarno nahaja v lipoproteinskih veziklih visoke gostote (HDL). Delci HDL se sintetizirajo v jetrih v nepopolni obliki; na tej stopnji vsebujejo le malo maščob. Prenašajo se po krvnem obtoku, kjer zberejo prebitni holesterol iz perifernih tkiv in ga prenesejo v jetra. HDL zato pogosto imenujemo »dobro« prenašalno obliko holesterola, saj so delci HDL odgovorni za prenos

in dostavo holestrola iz perifernih tkiv nazaj do jeter, kjer poteka presnova holesterola preko kompleksnih interakcij z različnimi lipoproteini, encimi, transportnimi beljakovinami in receptorji (32). Tako Apo A1, kot holesterol HDL sta v obratnem sorazmerju s pojavom koronarnih bolezni (33). Priporočljivo je znižati vnos holesterola s hrano, so pa še drugi dejavniki, ki lahko zmanjšajo nevarnost za razvoj ateroskleroze, med katerimi je tudi naš genetski ustroj, ki pa ga ne moremo spremeniti.

Gen, ki vsebuje zapis za Apo A1, APOA1, je prisoten na dolgi ročici krmosoma 11 in je visoko polimorfen. Najbolj proučen enojni nukleotidni polimorfizem (SNP) se nahaja v promotorskem delu gena in ga poznamo kot zapis APOA1 -75G>A (34). Zanj so pokazali, da je povezan z rahlim povečanjem koncentracije Apo A1 v plazmi (34).



Slika 3. Večkratnenasičene maščobne kisline vplivajo na koncentracijo holesterola HDL v krvi preko interakcije s polimorfizmom gena APOA1 -75 (G/A). Pri genotipu GG z višanjem vnosa večkratnenasičenih maščobnih kislin vplivamo na nižanje holesterola HDL v krvi, medtem ko je alel A povezan s povišanjem holesterola HDL (podatki se nanašajo na referenco 36).

Figure 3. PUFA modulate the effects of the APOA1 -75 (G/A) polymorphism on HDL-cholesterol levels in the Framingham Study. The GG genotype shows the expected decrease in serum HDL-cholesterol levels with increasing consumption of PUFA. Conversely, the presence of the A allele is associated with increasing concentrations of HDL-cholesterol (Data from reference 36).

Ena od možnosti, kako lahko prehrana vpliva na izražanje gena APOA1, je preko vnosa n-3 in n-6 večkratnenasičenih maščobnih kislin. Večkratnenasičene maščobne kisline namreč lahko vplivajo na izražanje različnih encimov, ki sodelujejo pri presnovi maščob in ogljikovih hidratov (35). V eni od študij so predstavili interakcije med genom APOA1 in vnosom večkratnenasičenih maščobnih kislin - in sicer so vplivale na koncentracijo holesterola HDL v plazmi. V študiji so znanstveniki pokazali, da pri ženskah, ki imajo alel -75A, holesterol HDL v plazmi narašča s povečanim vnosom večkratnenasičenih kislin; če pa so ženske homozigoti za alel -75G, je učinek nasproten (Slika 3). Pri moških medsebojnega vplivanja med večkratnenasičenimi maščobnimi kislinami in genom APOA1 niso opazili (36). Ta podatek podpira možnost o individualizirani prehrani na osnovi genotipa: ženske, ki so nosilke alela -75A, bi lahko s povečanim vnosom večkratnenasičenih maščobnih kislin vplivale na povečano koncentracijo holesterola HDL v plazmi in tako zmanjšale tveganje za razvoj bolezni srca in ožilja.

3.1.2 Apolipoprotein A5

Pred nedavnim so opisali tudi medsebojno vplivanje med genom apolipoproteina A5 (APOA5) in prehrano (37). Apolipoprotein A5 (Apo A5) pomembno uravnava presnovo lipoproteinov, bogatih s trigliceridi (TG) (38). Apo A5 ima dve vlogi: sodeluje pri tvorbi lipoproteinov zelo majhne gostote (VLDL) (39), poleg tega pa pospeši hidrolizo TG, in sicer aktivira lipoprotein lipazo (40).

Različni polimorfizmi v genu APOA5 so povezani s povečano koncentracijo TG in delcev VLDL v plazmi (41). Naknadno pa so predpostavili, da na povezavo med genom APOA5 in ravnijo maščob v krvi vpliva prav vnos določenega tipa maščob (40).

Hipotezo o vnosu maščobnih kislin, ki različno vplivajo na presnovo maščob pri posameznikih z različnimi polimorfizmi v genu APOA5, so potrdili na populaciji, ki jo je zajemala Framinghamova študija (37). Znanstveniki so spremljali interakcijo med polimorfizmoma APOA5-1131T>C in 56C>G ter vnosom maščobnih kislin na indeks telesne mase (ITM) ter s tem na povečano tveganje za debelost tako pri moških kot pri ženskah. Pokazali so na statistično značilno povezanost med prvim polimorfizmom in celokupnim vnosom maščobnih kislin na ITM. Pri homozigotih z alelom -1131T je namreč ITM naraščal z večanjem celokupnega vnosa maščobnih kislin; v primeru nosilcev alela -1131C pa tega učinka

ni bilo zaslediti. Nosilci alela -1131C so imeli tudi manjše tveganje za razvoj debelosti ali za pridobitev prekomerne teže, če so jih primerjali s homozigoti -1131T, a tega učinka niso zasledili, če je bil vnos celokupnih maščob nizek (37).

3.1.3 Endotelna sintaza dušikovega oksida

Sintaze dušikovega oksida (NOS) so encimi, ki sodelujejo pri sintezi NO iz aminokislina L-arginin. Poznamo tri različne izooblike NOS (42). Večje količine NO lahko nastajajo lokalno ali sistemsko z aktivacijo sprožljive sintaze dušikovega oksida (iNOS) (43), v majhnih količinah pa je NO vedno prisoten, saj stalno nastaja na konstitutivnih izooblikah NOS; endotelni (eNOS) in nevronalni (nNOS) (44). eNOS je konstitutivno izražena v endotelu, kjer tvori NO iz L-arginina. NO, sproščen iz endotelnih celic, prosto prehaja v gladke mišice žilne stene in tu aktivira topno gvanilat ciklazo, kar vodi do nastanka cikličnega gvanozin-monofosfata. NO je torej zelo pomemben vazodilatator v celotnem krvnem obtoku. Polimorfizem v genu eNOS (Glu298Asp) so pred kratkim povezali z razvojem srčnih bolezni in pojavom srčnega infarkta (45-47). Poleg tega so odkrili tudi povezavo med istim polimorfizmom in vnosom n-3 maščobnih kislin (48). Pokazali so namreč, da pri povečanemu vnosu n-3 maščobnih kislin pride do izboljšanja endotelnih funkcij *in vitro* in do nižjega tveganja za razvoj bolezni srca in ožilja (48). Največji učinek so opazili pri posameznikih, ki so nosilci Asp298 v genetskem zapisu eNOS (48).

3.1.4 Arahidonska 5-lipoksigenaza (5-LO)

Z vnosom večkratnenasičenih maščobnih kislin lahko vplivamo tudi na aktivnost gena za arahidonsko 5-lipoksigenazo (5-LOX). To je ključni encim, ki je udeležen pri biosintezi levkotrienov, pomembnih vnetnih posrednikov (49). Natančneje, dihidroksi levkotrien B_4 je močan levkocitni kemoatraktant, cisteinil levkotrieni pa povečajo vaskularno propustnost in spodbudijo krčenje gladkih mišic v stenah žil (50). 5-lipoksigenazna pot je povezana z aterosklerozo, s kroničnim vnetnim procesom, pri čemer aktivacija eikozanoidov vodi do akumulacije monocitov, makrofagov in dendritičnih celic v stenah arterij (51, 52).

V tem primeru n-6 ali n-3 maščobne kisline lahko neposredno vplivajo na sintezo eikozanoidov. Vnos n-6 maščobnih kislin vpliva na povečano tvorbo levkotrienov, ki posredujejo vnetje, obraten učinek pa so opazili pri vnosu n-3 maščobnih kislin (17, 53, 54).

Razlike v promotorskem območju gena 5-LOX so pokazale na razlike pri poteku vnetne kaskade v steni arterije in na samo aterogenezo. Nosilci alela s tandemskim vezavnim motivom Sp1 v promotorju gena 5-LOX imajo povečano debelino stene v arterijah v primerjavi z nosilci alela divjega tipa. Dwyer in sod. (55) so pokazali, da je vnos n-6 maščobnih kislin povezan s povečanjem debeline arterijskih sten pri nosilcih variante genotipa 5-LOX, ne pa pri nosilcih zapisa divjega tipa. Vnosa eikozapentaenojske kisline (EPA, C20:5n-3) in dokozaheksaenojske kisline (DHA, C22:6n-3) (n-3 dolgoverižni večkratnenasičeni maščobni kislini) pa delujeta obratno, in sicer debelina arterijskih sten se zniža pri nosilcih dveh variantnih alelov. Najverjetneje arahidonska kislina in njen prekurzor stopnjujeta aterogeni učinek pri variantnih genotipih z višanjem produkcije eikozanoidov. Nasproten učinek pa bi lahko imel povečan vnos DHA in EPA, saj bi se tvorba vnetnih levkotrienov posledično znižala (17, 54, 56).

3.2 Nutrigenomika in rak

Vrsta podatkov nakazuje, da so tako komponente hrane kot genetske predispozicije ključnega pomena tudi pri tveganju za obolenost za rakom ter pri samem obnašanju in napredovanju tumorja. Posebno mesto zavzemajo zopet maščobne kisline, ki so jih največkrat povezovali s tveganjem za razvoj raka in prav te interakcije se lahko kažejo v spremenjenem izražanju gena, metabolita ali drugih dejavnikov, ki so pomembni pri presnovi določene komponente.

3.2.1 Ciklooksigenaza-2

Da vnos n-3 dolgoverižnih večkratnenasičenih maščobnih kislin iz rib ščiti pred razvojem raka prostate, so predpostavljali že pred petnajstimi leti. V tem primeru so pomembne različice genetskega zapisa za ciklooksigenazo-2 (COX-2), ključnega encima, ki je udeležen pri presnovi maščobnih kislin, ki pa sodeluje tudi pri vnetnih procesih (57).

Vedno več je podatkov, da naj bi n-3 maščobne kisline, posebno EPA in DHA, delovale oziroma ščitile pred razvojem raka na prostati (58). Obe maščobni kislini najdemo v mastnih ribah (tuni, lososu, skuši). Nedavno so epidemiološke študije pokazale, da je pogosto uživanje morskih rib povezano z nižanim tveganjem za raka (59). Večkratnenasičene maščobne kisline, tako n-3 kot n-6, se v telesu pretvorijo do prostaglandinov in tromboksanov. Ti metaboliti imajo različne biološke učinke. Eden od mehanizmov, ki bi bil lahko udeležen pri karcinogenezi, je vpliv na biosintezo

eikozanoidov, ki nastanejo iz arahidonske kisline (AA, C20:4n-6). V splošnem namreč eikozanoidi, ki nastanejo iz AA, delujejo vnetno in na tak način lahko spodbudijo karcinogenezo. Na drugi strani pa imamo eikozanoide, ki nastanejo iz EPA. Ti lahko zaradi protivnetnega značaja preprečijo rast raka prostate. Tako lahko s prehranjevanjem vplivamo na razmerje med n-3 in n-6 maščobnimi kislinami ter na ta način vplivamo na ravnotežje eikozanoidov, nastalih po eni ali drugi poti, in tako v končni fazi vplivamo tudi na razvoj rakave bolezni.

COX-2 je ključni encim pri sintezi eikozanoidov in ta encim je tudi prekomerno izražen pri bolnikih z rakom prostate, ob primerjavi s količino izražene encima pri zdravih osebah (60).

Pokazali pa so tudi na sovplivanje med vnosom lososa (bogata vir n-3 dolgoverižnih večkratnenasičenih maščobnih kislin) in posamezno genetsko različico, polimorfizmom +6365 T/C. Pokazali so, da se tako pri homozigotih kot pri heterozigotih variantnega alela +6365C gena COX-2 tveganje za razvoj raka prostate zmanjša, če v prehrani povečamo vnos lososa (vplivamo na povečan vnos n-3 dolgoverižnih večkratnenasičenih maščobnih kislin). Pri ljudeh z divjim tipom alela pa ne glede na količino vnosa n-3 dolgoverižnih večkratnenasičenih maščobnih kislin niso dokazali nobene razlike v tveganju za razvoj raka prostate (57). Ta podatek ponovno podpira tezo o individualizirani prehrani na osnovi genotipa.

3.2.2 7 Glutation S-transferaza

Ribe n-3 dolgoverižne večkratnenasičene maščobne kisline so povezane tudi z zaščitnim delovanjem pred razvojem raka na dojki (61, 62). Ta zaščitna funkcija je povezana s peroksidacijo lipidov, ki poteka v tumorskem tkivu in celicah, pri čemer je potencialni katalizator teh produktov glutacion S-transferaza (GTS) (61).

Pokazali so, da pri ženskah z genetskim polimorfizmom, ki kodira encim z zmanjšano dejavnostjo, dolgoverižne večkratnenasičene maščobne kisline n-3 iz rib delujejo varovalno in zmanjšajo tveganje za razvoj raka dojke (62). Prav tako deluje tudi zelenjava iz skupine križnic, ki vsebuje visoko vsebnost glukozinolatov. Mednje sodijo blitva, zelje, cvetača, brokoli in repa (63).

4 Zaključek

Sestavine hrane in njihovo delovanje predstavljajo pomemben mehanizem za razvoj tako boleznih srca in ožilja, kot tudi za razvoj nekaterih oblik raka. Podali

smo le nekaj primerov sovplivanja med geni in hranili, ki so pomembni dejavniki pri razvoju zgoraj navedenih bolezni. Kljub temu pa mehanizmov, ki povezujejo prehrano z razvojem bolezni, še ne razumemo popolnoma.

Nutrigenomika je hitro rastoče področje, ki je osredotočeno na študijo medsebojnih vplivanj med sestavinami hrane in genetskimi dejavniki v povezavi z zdravjem. Cilj je jasen: določitev primerne prehrane za posameznika, izboljšanje kakovosti življenja in ohranjanje zdravja tudi v starejšem obdobju.

Vsekakor pa so potrebne večje populacijske in dobro standardizirane študije, pri čemer ne smemo pozabiti na dobro pripravljen vprašalnik. Prav nepopolno sestavljen vprašalnik je namreč ena izmed najšibkejših točk, ki prispevajo k nezanesljivosti rezultata pri nutrigenomskih študijah.

Raziskave vplivov med hranili in geni so namreč za zdaj še v povojih, vendar lahko kljub temu predvidevamo, da se bo že v bližnji prihodnosti, ko bomo prišli do novih spoznanj, začelo obdobje individualnih diet, ki bodo prilagojene naši genetski sliki.

Literatura

1. Manz F. History of nutrition and acid-base physiology. *Eur J Nutr* 2001; 40: 189-99.
2. Keusch GT. The history of nutrition: malnutrition, infection and immunity. *J Nutr* 2003; 133 (1 Suppl 2): 336-40.
3. LeMone P. Vitamins and minerals. *J Obstetric Gynecol Neonatal Nurs* 1999; 28: 520-33.
4. Aggett PJ. Physiology and metabolism of essential trace elements: an outline. *Clinics Endocrinol Metab* 1985; 14: 513-53.
5. Hung T, Sievenpiper JL, Marchie A, Kendall CW, Jenkins DJ. Fat versus carbohydrate in insulin resistance, obesity, diabetes and cardiovascular disease. *Curr Opin Clin Nutr Metabol Care* 2003; 6: 165-76.
6. Elliott R, Ong TJ. Nutritional genomics. *BMJ* 2002; 324: 1438-42.
7. Corthesy-Theulaz I, den Dunnen JT, Ferre P, Geurts JM, Muller M, van Belzen N et al. Nutrigenomics: the impact of biomics technology on nutrition research. *Ann Nutr Metab* 2005; 296: 1858-66.
8. Černelič Bizjak M. Zadovoljstvo z delom, zdravje in zadovoljstvo z življenjem. *Zdrav Var* 2008; 47: 199-207.
9. Ordovas J. M., Corella D. Nutrition and Diet in the Era of Genomic. In: Willard H, Ginsburg GS, editors. *Genomic and Personalized Medicine*. 1st ed. San Diego: Elsevier, 2009: 1204-20.
10. Li AC, Glass CK. PPAR- and LXR-dependent pathways controlling lipid metabolism and the development of atherosclerosis. *J Lipid Res* 2004; 45: 2161-73.
11. Pegorier JP, Le May C, Girard J. Control of gene expression by fatty acids. *J Nutr* 2004; 134 (1 Suppl 2): 2444-9.
12. Jumb DB. Fatty acid regulation of gene transcription. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2004; 41: 41-78.
13. Clarke SD. The multi-dimensional regulation of gene expression by fatty acids: Polyunsaturated fats as nutrient sensors. *Curr Opin Lipidol* 2004; 15: 13-8.
14. Mandard S, Müller M, Kersten S. Peroxisom proliferator-activated receptor alpha target genes. *Cell Mol Life Sci* 2004; 61: 393-416.
15. Martinčič V. Vrsta, kvaliteta in uporaba maščob v prehrani: Maščobe v prehrani. In: Ljubljana: Medicinska fakulteta, Inštitut za higieno, 2002: 3-18.
16. Uauy R. Dietary Fat Quality for optimal health and well-being: overview of recommendations. *Ann Nutr Metab* 2009; 54 (1 Suppl 2): 2-7.
17. Russo GL. Dietary n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids: From biochemistry to clinical implications in cardiovascular prevention. *Biochem Pharmacol* 2009; 77: 937-46.
18. Referenčne vrednosti za vnos hranil. 1. izdaja. 2004. Ljubljana: Ministrstvo za zdravje Republike Slovenije: 214.
19. Katan MB, Zock PL, Mensink RP. Effects of fats and fatty acids on blood lipids in humans: an overview. *Am J Clin Nutr* 1994; 60 (1 Suppl 2): 1017-22.
20. Fielding CJ, Havel RJ, Todd KM et al. Effects of Dietary Cholesterol and Fat Saturation on Plasma Lipoproteins in an Ethnically Diverse Population of Healthy Young Men. *J Clin Invest* 1995; 95: 611-8.
21. Roberfroid MB. Functional affects of food components and the gastrointestinal system: chicory fructooligosaccharides. *Nutrition Reviews* 1996; 54: 538-51.
22. Pariza MW. Functional Foods: Technology, Functionality, and Health Benefits. *Nutrition Today* 1999; 43: 150-51.
23. Raspor P, Rogelj I. Funkcionalna hrana hrana – definicije: Funkcionalna hrana. In: Bitenčevi živilski dnevi. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, 2001: 25-36.
24. Jacobs DR, Steffen LM. Nutrients, foods and dietary patterns as exposures in research: A framework for food synergy. *Am J Clin Nutr* 2003; 78 (1 Suppl 2): 508-13.
25. Kolakowska A. Lipid oxidation in food systems. In: Sikorski ZE, Kolakowska A, editors. *Chemical and functional properties of food lipids*. 1st ed. Boca Raton: CRC, 2003: 32-46.
26. Skvarča M et al. Toplotni postopki priprave in varnost živil: Varnost živil. In: 22. Bitenčevi živilski dnevi. Ljubljana: Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, 2004: 205-18.
27. McNutt S, Zimmerman TP, Hull SG. Development of food composition databases for food frequency questionnaires (FFQ). *Journal of Food Composition and Analysis* 2008; 21 (1 Suppl 2): 20-6.
28. Resolucija o nacionalnem programu prehranske politike 2005-2010 (ReNPPP). Ur.l. RS št. 39-1392/05.
29. Breslow JL. Genetics of lipoprotein abnormalities associated with coronary artery disease susceptibility. *Annu Rev Genet* 2000; 34: 233-254.
30. Lusi AJ, Mar R, Pajukanta P. Genetics of atherosclerosis. *Annu rev Genomics Hum Genet* 2004; 5: 189-218.
31. Ordovas JM. HDL genetics: Candidate genes, genome wide scans and gene-environment interactions. *Cardiovasc Drugs Ther* 2002; 16: 273-81.
32. Ye SQ, Kwiterovich PO Jr. Influence of genetic polymorphisms on responsiveness to dietary fat and cholesterol. *Am J Clin Nutr* 2000; 72 (1 Suppl 2): 1275-84.
33. Kwiterovich PO Jr, Coresh J, Smith SS, Bachorik PS, Derby CA, Pearson, TA. Comparison of the plasma levels of apolipoproteins B and A-I, and other risk factors in men and women with premature coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1992; 69: 1015-21.
34. Juo SH, Wyszynski DF, Beaty TH, Bailey-Wilson JE. Mild association between the A/G polymorphism in the promotor of the apolipoprotein A-I gene and apolipoprotein A-I levels: a meta-analysis. *Am J Med Genet* 1999; 82: 235-41.

35. Sampath H, Ntambi, JM. Polyunsaturated fatty acid regulation of genes of lipid metabolism. *Annu rev Nutr* 2005; 25: 317-40.
36. Ordovas JM, Corella D, Cupples LA, Demissie S, Kelleher A, Coltell O, Wilson PWF, Schaefer EJ, Tucker K. Polyunsaturated fatty acids modulate the effects of the APOA1 G-A polymorphism on HDL-cholesterol concentration in a sex-specific manner: the Framingham study. *Am J Clin Nutr* 2002; 75: 35-46.
37. Rensen PC, van Dijk KW, Havekes LM. APOA5: low concentration, high impact. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25: 2445-7.
38. Weinberg RB, Cook VR, Beckstead JA, Martin DD, Gallagher JW, Shelness GS, Ryan RO. Structure and interfacial properties of human APOA5. *J Biol Chem* 2003; 278: 34438-44.
39. Grooskopf I, Barouk N, Lee SJ, Kamari Y, Harats D, Rubin EM, Pennacchio LA, Cooper AD. APOA5 deficiency results in marked hypertriglyceridemia attributable to decreased lipolysis of triglyceride-rich lipoproteins and removal of their remnants. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25: 2573-9.
40. Lai CQ, Corella D, Demissie S, Cupples LA, Adiconis X, Zhu Y, Parnell LD, Tucker KL, Ordovas JM. Dietary intake of n-6 fatty acids modulates effect of apolipoprotein A5 gene on plasma fasting triglycerids, remnant lipoprotein concentrations, and lipoprotein particle size. *Circulation* 2006; 113: 2062-70.
41. Jang Y, Kim JY, Kim OY, Lee JE, Cho H, Ordovas JM, Lee JH. The -1131T>C polymorphism in the APOA5 gene is associated with post-prandial hypertriglycerolemia; elevated small, dense LDL concentrations; and oxidative stress in non-obese Korean men. *Am J Clin Nutr* 2004; 80: 832-40.
42. Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. *New Engl J Med* 1993; 329: 2002-12.
43. Moncada S. The L-arginine-nitric oxide pathway. *Acta Physiol Scand* 1992; 145: 201-27.
44. Shibuki K, Okada D. Endogenous nitric oxide release required for long-term synaptic depression in the cerebellum. *Nature* 1991; 349: 326-8.
45. Hibi K, Ishigami T, Tamura K, Mizushima S, Mizushima S, Nyui N, Fujita T, Ochiai H, Kosuge M, Watanabe Y, Yoshii Y, Kihara M, Kimura K, Ishii M, Umemura S. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism and acute myocardial infarction. *Hypertension* 1998; 32: 521-6.
46. Hingorani AD, Liang CF, Fatibene J et al. A common variant of the endothelial nitric oxide synthase (Glu298Asp) is a major risk factor for coronary artery disease in the UK. *Circulation* 1999; 100: 1515-20.
47. Leeson CP, Hingorani AD, Mullen MJ, et al. Glu298Asp endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism interacts with environmental and dietary factors to influence endothelial function. *Cir Res* 2002; 90: 1153-8.
48. Nestel PJ. Fish oil and cardiovascular disease: lipids and arterial function. *Am J Clin Nutr* 2000; 71: 228-31.
49. Funk CD. Prostaglandins and leukotrienes: advances in eicosanoid biology. *Science* 2001; 294: 1871-5.
50. Samuelsson B, Dahlen SE, Lindgren JA, Rouzer CA, Serhan CN. Leukotrienes and lipoxins: structures, biosynthesis, and biological effects. *Science* 1987; 237: 1171-76.
51. Lusis AJ. Atherosclerosis. *Nature* 2000; 407: 233-41.
52. Ross R. Atherosclerosis-an inflammatory disease. *N Engl J med* 1999; 340: 115-26.
53. Ferretti A, Nelson GJ, Schmidt PC, Kelley DS, Bartolini G, Flanagan VP. Increased dietary arachidonic acid enhances the synthesis of vasoactive eicosanoids in humans. *Lipids* 1997; 32: 435-9.
54. Simopoulos AP. The omega-6/omega-3 fatty acid ratio, genetic variation, and cardiovascular disease. *Asia Pac J Clin Nutr* 2008; 17: 131-4.
55. Dwyer JH, Allayee H, Dwyer KM, Fan J, Wu H, Mar R, Lusis AJ, Mehrabian M. Arachidonate 5-lipoxygenase promoter genotype, dietary arachidonic acid, and atherosclerosis. *N Engl J med* 2004; 350: 29-37.
56. Allayee H, Roth N, Hodis HN. Polyunsaturated fatty acids and cardiovascular disease: implications for nutrigenetics. *J Nutrigenet Nutrigenomisc* 2009; 2: 140-8.
57. Hedelin M, Chang ET, Wilklund F, Bellocco R, Klint A, Adolfsson J, Shahedi K, Xu J, Adami HO, Gronberg H, Balter KA. Association of frequent consumption of fatty fish with prostate cancer risk is modified by COX-2 polymorphism. *Int J Cancer* 2006; 120: 398-405.
58. Larsson SC, Kumlin M, Ingelman-Sundberg M, Wolk A. Dietary long-chain n-3 fatty acids for the prevention of cancer: a review of potential mechanisms. *Am J Clin Nutr* 2004; 79: 935-45.
59. Astrog P. Dietary n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids and prostate cancer risk: a review of epidemiological and experimental evidence. *Cancer Causes Control* 2004; 15: 367-86.
60. Kirschenbaum A, Klausner AP, Lee R, Unger P, Yao S, Liu XH, Levine AC. Expression of cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 in the human prostate. *Urology* 2000; 56: 671-6.
61. Gonzales MJ, Schemmel RA, Gray JI, Dugan L-Jr, Sheffield LG, Welsch CW. Effect of dietary fat on growth of MCF-7 and MDA-MB231 human breast carcinomas in athymic nude mice: relationship between carcinoma growth and lipid peroxidation product levels. *Carcinogenesis* 1991; 12: 1231-5.
62. Gonzales MJ, Schemmel RA, Dugan L-Jr, Gray JI, Welsch CW. Dietary fish oil inhibits human breast carcinoma growth: a function of increased lipid peroxidation. *Lipids* 1993; 28: 827-32.
63. Lee SA, Fowke JH, Lu W, Ye C, Zheng Y, Cai Q, Gu K, Gao YT, Shu X, Zheng W. Cruciferous vegetables, the GSTP1 Ile105Val genetic polymorphism, and breast cancer risk. *Am J Clin Nutr* 2008; 87: 753-60.