

Utjecaj kratkotrajnog velikog unosa soli na varijabilnost srčanog ritma u zdravih mladih muškaraca

Kolar, Luka

Master's thesis / Diplomski rad

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Medicine Osijek / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Medicinski fakultet Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:152:288224>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-13**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Medicine Osijek](#)



**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK
SVEUČILIŠNI INTEGRIRANI PREDDIPLOMSKI I DIPLOMSKI
STUDIJ MEDICINE**

Luka Kolar

**UTJECAJ KRATKOTRAJNOG VELIKOG
UNOSA SOLI NA VARIJABILNOST
SRČANOG RITMA U ZDRAVIH MLADIH
MUŠKARACA**

Diplomski rad

Osijek, 2019.

**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK
SVEUČILIŠNI INTEGRIRANI PREDDIPLOMSKI I DIPLOMSKI
STUDIJ MEDICINE**

Luka Kolar

**UTJECAJ KRATKOTRAJNOG VELIKOG
UNOSA SOLI NA VARIJABILNOST
SRČANOG RITMA U ZDRAVIH MLADIH
MUŠKARACA**

Diplomski rad

Osijek, 2019.

Rad je ostvaren na Katedri za fiziologiju i imunologiju Medicinskog fakulteta Osijek.

Mentor rada: doc. dr. sc. Ana Stupin, dr. med.

Rad ima 32 lista, 3 tablice i 2 slike.

ZAHVALE:

Zahvaljujem svojoj mentorici doc. dr. sc. Ani Stupin, dr. med. na savjetima, vremenu i strpljenju koje je izdvojila ne samo prilikom izrade ovog diplomskog rada, nego i puno prije njega za brojne kongrese.

Također, želim se zahvaliti dr. sc. Marku Stupinu, dr. med koji je uz Anu bio moj mentor na brojnim kongresima i znanstvenim radovima prije diplomskog rada te tijekom studija, prof. dr. sc. Ines Drenjanjčević dr. med. bez koje niti jedan moj znanstveni rad, pa tako i ovaj diplomski rad ne bi bio moguć. Veliko hvala doc. dr. sc. Aniti Matić koja je uvijek bila spremna pomoći u najtežim trenucima izrade diplomskog rada.

Osim one znanstvene i stručne podrške, također želim zahvaliti i svojim prijateljima Tomislavu, Filipu, Ivanu, Alanu na podršci i motivaciji kroz cijelo studiranje.

Naravno najveće hvala mojoj djevojci Lauri na podršci i strpljenju kroz svih 6 godina studiranja, hvala za svako ohrabivanje prije ispita i hvala za razumijevanje za sve one dane kada se nismo mogli vidati zbog mojih ispita.

Na kraju veliko hvala i mojim roditeljima koji su me usmjerili na studij medicine, i podupirali tijekom njega te omogućili da ga bez većih problema i završim.

SADRŽAJ

POPIS KRATICA.....	II
1. UVOD.....	1
1.1. Utjecaj soli na kardiovaskularni sustav.....	2
1.2. Utjecaj soli na endotelnu funkciju	3
1.3. Renin-angiotenzin sustav	4
1.4. Simpatikus-adrenergički sustav	5
1.5. Procjena funkcije simpatikusa	7
1.5.1. Procjena varijabilnosti srčanog ritma.....	7
1.5.2. Katekolamini.....	8
2. HIPOTEZA.....	10
3. CILJEVI.....	11
4. ISPITANICI I METODE.....	12
4.1. Ustroj studije.....	12
4.2 Ispitanici i protokol.....	12
4.3 Metode	13
4.4 Statističke metode	14
5. REZULTATI.....	15
6. RASPRAVA	18
7. ZAKLJUČAK.....	21
8. SAŽETAK	22
9. SUMMARY	23
10. LITERATURA	24
11. ŽIVOTOPIS.....	30

POPIS KRATICA

20-HETE – 20-hidroksieikosatetraenoična kiselina

ACE – angiotenzin-konvertirajući enzim

ADH – antidiuretski hormon

ANG II – angiotenzin II

BMI – indeks tjelesne mase (engl. *body mass index*)

cAMP – ciklički adenzin monofosfat

COX – ciklooksigenaza

CRASH – Hrvatska akcija o soli i zdravlju (eng. *Croatian action on salt and health*)

CYP450 – citokrom P450

DBP – dijastolički arterijski tlak

EDCF – endotelni konstriksijski faktori

EET – epoksieikosatrienoične kiseline

EKG – elektrokardiografija

HF – visoka frekvencija (eng. *high frequency*)

HR – puls

HRV – varijabilnost srčanog ritma (eng. *Heart rate variability*)

HS – visok udio soli (engl. *high salt*)

L-DOPA – L-3,4-dihidroksifenilalanin

LF – niska frekvencija (eng. *low frequency*)

MAP – srednji arterijski tlak

NO – dušikov monoksid

NTS – nukleus tractus solitarius

PGF2 α – prostaglandin F2 alfa

PGI2 – izvedeni vazodilatator prostaciklin

PVN – paraventrikularna jezgra u hipotalamusu

RAS – renin-angiotenzin sustav

RMSSD – srednja vrijednost kvadrata uzastopnih otkucanja srca (eng. *root mean square of successive RR interval difference*)

ROS – slobodni radikali kisika (eng. *Reactive oxygen species*)

SBP – sistolički arterijski tlak

SDNN – standardna devijacija NN intervala (eng. standard deviation of normalto-normal inter-beat interval)

SZO – Svjetska zdravstvena organizacija

TXA2 – metaboliti tromboksana

ULF – ultra niska frekvencija (*eng. ultra low frequency*)

VLF – vrlo niska frekvencija (*eng. very low frequency*)

WASH – Svjetska akcija o soli i zdravlju (eng. *World Action on Salt and Health*)

WHR – omjer struk-bokovi (*eng. waist-hip ratio*)

1. UVOD

Brojne studije provedene od strane Svjetske zdravstvene organizacije (SZO) pokazale su da je hipertenzija glavni uzrok morbiditeta i mortaliteta u svijetu danas (1). Značajan čimbenik rizika za razvoj hipertenzije i kardiovaskularnih bolesti je prekomjerni unos kuhinjske soli u organizam (2). U najranijoj ljudskoj povijesti uobičajena prehrana sadržavala je otprilike 0,25 g soli dnevno. Otkrićem soli kao konzervansa tijekom zime, dnevni unos soli je naglo rastao te je svoj vrhunac imao oko 1870. godine kada je sol bila najtraženija roba za trgovanje. Nedugo nakon toga, izumom zamrzivača, unos soli značajno se smanjuje, ali nedavnim značajnim porastom konzumacije visoko slane prerađene hrane, unos soli raste do razine slične onoj iz 1870. godine. Danas je dnevni unos soli prosječno od 9 do 12 g/dan u većini država svijeta (3, 4). Prema SZO preporučeni dnevni unos natrija za odrasle je oko 2 g/dan, što je ekvivalent 5 g soli dnevno (5).

Vremenom je sve veći broj zemalja u svijetu uvidio problem prekomjernog unosa soli te su zemlje počele izrađivati nacionalne programe za smanjenje dnevnog unosa kuhinjske soli. Svi ti nacionalni programi bili su poticaj za izradu globalnog programa te je tako 2005. godine nastao *World Action on Salt and Health (WASH)* program s ciljem globalnog smanjenja unosa kuhinjske soli. Pojedine zemlje poput Ujedinjenog Kraljevstva su u to vrijeme već imale razvijen nacionalni program, na temelju koga je i nastao WASH. Tijekom godina taj je nacionalni program pokazao iznimno značajne rezultate u vidu smanjenja unosa kuhinjske soli (6).

Program za smanjenje unosa kuhinjske soli u Hrvatskoj prihvaćen je 2006. godine na Prvom hrvatskom kongresu o hipertenziji, te je nazvan *Croatian action on salt and health (CRASH)* (6). Takav program bio je potreban jer je utvrđeno da je prosječan unos kuhinjske soli u Hrvatskoj 11,6 grama dnevno (13,3 grama za muškarce i 10,2 grama za žene). Prosječan dnevni unos kuhinjske soli utvrđen je na temelju određivanja koncentracije natrija u 24-satnoj mokraći, što se i danas smatra metodološkim zlatnim standardom. U rujnu 2014. godine vlada Republike Hrvatske donijela je Strateški plan za smanjenje prekomjernog unosa soli u Republici Hrvatskoj. Cilj tog programa bio je smanjenje unosa soli u hrani na razini opće populacija za 4% godišnje, što bi značilo 16% tijekom 4 godine, odnosno smanjenje prosječnog dnevnog unosa sa tadašnjih 11,6 grama dnevno na 9,3 grama dnevno do 2019. godine. Smatralo se da bi takvim rezultatom došlo do značajnog sniženja broja oboljenja od arterijske hipertenzije i ostalih kardiovaskularnih i cerebrovaskularnih bolesti (7).

1.1. Utjecaj soli na kardiovaskularni sustav

U posljednjih 25 godina postalo je nedvojbeno jasno da prehrana sa velikim udjelom soli predstavlja rizični faktor za razvoj kardiovaskularnih bolesti, nevezano za već od prije poznat utjecaj na razvoj hipertenzije kod nekih pojedinaca (8). Istraživanja su jasno pokazala da smanjenje unosa soli dovodi do sniženja krvnog tlaka, a kako je već poznato da je povišen krvni tlak glavni uzrok kardiovaskularnih bolesti, to smanjenje bi trebalo dovesti do smanjenja broja oboljelih od kardiovaskularnih bolesti. Meta-analizom brojnih studija o povezanosti krvnog tlaka i soli zaključeno je da smanjenje od 6 g soli u dnevnoj prehrani može smanjiti prevalenciju srčanih udara za 24% i bolesti koronarnih arterija za 18% (9).

Danas postoje dokazi da odgovor promjene krvnog tlaka na nisko slanu dijetu varira između pojedinaca sa hipertenzijom i onih bez dijagnoze hipertenzije. Ta razlika nastaje zbog mogućnosti nekih pojedinaca da učinkovito izluče veliku količinu soli bez utjecaja na arterijski krvni tlak. S druge strane, postoje i pojedinci koji u određenom razdoblju ne mogu adekvatno izlučiti višak soli. Na osnovu toga razlikuju se pojedinci koji su „osjetljivi na sol“ (engl. *salt-sensitive*) i koji mogu adekvatno izlučiti višak soli, te pojedinci „neosjetljivi na sol“ (engl. *salt-resistant*) koji to ne mogu (10).

Također, brojne studije danas pokazuju direktnu povezanost između unosa soli i krvnog tlaka. Procijenjeno je da smanjenje unosa soli za 4,4 g na dnevnoj bazi može sniziti krvni tlak za 4,2 / 2,1 mmHg. Slučajnim odabirom kontrolirane kliničke studije potvrdile su taj o dozi ovisan učinak sniženja krvnog tlaka kod muškaraca i žena bilo koje dobi, etničke pripadnosti ili početne vrijednosti krvnog tlaka te je upravo zato umjerena redukcija unosa soli preporučena u općoj populaciji (11, 12).

Kao što je već navedeno, brojne zemlje svoje su nacionalne programe smanjenja unosa soli započele davno prije globalnog programa. Osim već spomenute Velike Britanije, još od 1970-ih godina, Finska je u suradnji sa prehrambenom industrijom pokušala smanjiti unos soli te je također brojim akcijama i javnim tribinama pokušala podići svijest građana o štetnim učincima prekomjernog unosa soli. Kao rezultat navedenih akcija u posljednjih 30 godina unos soli se u Finskoj smanjio za trećinu, a prosječni sistolički tlak smanjio se za više od 10 mmHg. Smrtnost od srčanog udara i koronarnih bolesti također je smanjena za 75-80 % te je time životni vijek produžen za 5-6 godina. Osim pozitivnih učinaka na zdravlje populacije, smanjenje unosa soli ima

pozitivan učinak na troškove liječenja bolesti. Primjerice, procjenjuje se da bi smanjenje dnevnog unosa soli za 3 g u SAD-u na godišnjoj razini dovelo do suficita od 10-20 milijardi dolara (13).

Osim već spomenute arterijske hipertenzije, i hipertrofija lijevog ventrikula je vrlo važan čimbenik rizika za oboljenje od kardiovaskularnih bolesti. Istraživanja su pokazala da je unos soli prediktor mase lijevog ventrikula, neovisno o razini krvnog tlaka, te sukladno tome smanjenje unosa soli uzrokuje smanjenje hipertrofije lijevog ventrikula (14).

Također, velik unos soli uzrokuje povećanje protoka krvi kroz bubrežni općenito i posljedično povećanje glomerularne filtracije, dok smanjenje unosa soli dovodi do normalizacije hiperfiltracije kod pojedinaca osjetljivih na sol. Ta hiperfiltracija vrlo često može biti u direktnoj vezi sa razvojem hipertenzije, zato je smanjenje unosa iznimno korisno te može i na taj način spriječiti razvoj hipertenzije (15).

1.2. Utjecaj soli na endotelnu funkciju

Iako građom jednostavan, endotel predstavlja važan organ koji oblaže unutrašnjost čitavog kardiovaskularnog sustava. Endotel ima ključnu ulogu u modulaciji vaskularnog tonusa sintetiziranjem i otpuštanjem brojnih endotel relaksirajućih faktora kao što su: dušikov oksid (NO), o ciklooksigenazama (COX-1, -2) ovisan vazodilatator prostaciklin (PGI₂), te endotel-ovisne hiperpolarizirajuće čimbenike (kalijeve ione, metaboliti citokroma P450 (CYP450) poput epoksieikosatrienoične kiseline (EETs) i lipooksigenaze, vodikov peroksid (H₂O₂), ciklički adenzin monofosfat (cAMP), natriuretski peptid C itd.). Osim brojnih vazodilatacijskih faktora, endotel je također mjesto sinteze brojnih važnih endotel-ovisnih vazokonstriksijskih čimbenika (*engl. endothelium-derived contracting factors* *endot, EDCF*) uključujući endotelin 1 (ET-1), metabolite ciklooksigenaza (COX-1, -2) kao što su tromboksan (TXA₂) i prostaglandin F₂ alfa (PGF₂α), te metabolit CYP450 20-hidroksieikosatetraenoična kiselina (20-HETE).

Stanje narušene funkcije endotela naziva se endotelna disfunkcija. Endotelna disfunkcija je patološko stanje koje karakterizira neadekvatna aktivacija endotela te se manifestira smanjenom produkcijom nekog od relaksacijskih faktora ili povećanom produkcijom vazokonstriksijskih čimbenika. (16)

Sve je više dokaza da je normalna endotelna funkcija ključna za normalnu vaskularnu homeostazu, te da je njegova disfunkcija okidač za nastanak i razvoj brojnih kardiovaskularnih

bolesti (17). Nedavne studije na normotenzivnim eksperimentalnim životinjama i ljudima otkrile su da je glavni uzrok ovog o tlaku neovisnom efektu visoko slane prehrane na kardiovaskularni sustav upravo smanjena vaskularna bioraspoloživost NO-a koji posljedično limitira endotel-ovisnu dilataciju. To smanjenje NO-a je povezano sa porastom razine oksidativnog stresa uslijed povećanog stvaranja slobodnih kisikovih radikala (*engl. reactive oxygen species, ROS*) koje nastaje zbog povećane aktivnosti NAD(P)H oksidaze, ksantin oksidaze ili nevezane NO sintaze unutar endotela. Oni dovode do oštećenja postojećeg NO-a, ali i poremećaja u nekim od signalnih puteva za proizvodnju NO (8).

Najveći broj studija koje su proučavale utjecaj prekomjernog unosa soli na endotelnu funkciju učinjen je na populaciji hipertenzivnih pacijenata. Glavni problem istraživača u navedenim studijama bio je razlučiti što je štetan učinak soli na endotel, a što je učinak samog povišenog krvnog tlaka, odnosno arterijske hipertenzije, koja dokazano uzrokuje endotelnu disfunkciju. Samo mali broj studija proučavao je utjecaj prehrane s velikim udjelom kuhinjske soli na endotelnu funkciju kod inače zdravih mladih ispitanika. Rezultati većine tih studija učinjenih na zdravoj populaciji pokazali su da kratkotrajna prehrana (većinom 7 dana) s velikim udjelom soli u zdravih ljudi dovodi do oštećenja dilatacije ovisne o endotelu, ali ne i dilatacije neovisne o endotelu, neovisno o promjenama arterijskoga tlaka (18–20).

1.3. Renin-angiotenzin sustav

Renin-angiotenzinski sustav (RAS) je jedan od najznačajnijih hormonskih sustava koji ima ključnu ulogu u kontroli arterijskog tlaka te kontroli volumena izvanstanične tekućine i perfuzije tkiva (21, 22). RAS se sastoji od kaskade proteina koji zajedno ostvaruju svoj učinak putem angiotenzina II (ANG II) koji je glavna efektorska molekula tog sustava. U RAS kaskadi prvi se izlučuje renin koji se sintetizira u jukstaglomerularnim stanicama bubrega smještenim u aferentnim i eferentnim arteriolama glomerula. Otpuštanje renina kontroliraju brojni stimulansi, kao smanjenje perfuzijskog tlaka u bubregu, povišenje aktivnosti simpatičkih vlakna u bubregu i smanjenja koncentracija NaCl-a u makuli densi jukstaglomerularnog aparata (21–23). Renin nadalje aktivira angiotenzinogen cijepajući ga u angiotenzin I, koji je neaktivna forma i on se dalje uz pomoć angiotenzin-konvertirajućeg enzima (ACE) pretvara u svoju aktivnu formu, ANG II (24, 25). Osim tog puta pretvorbe preko ACE, postoje i putevi uz pomoć kimaze koji se manifestiraju

kod hipertenzivnih pacijenata liječenih uz pomoć ACE inhibitora, a imaju povišene razine ANG II, što se naziva angiotenzinski bijeg (26).

Neki od dobro utvrđenih učinaka ANG II su: vazokonstrikcija, povišenje krvnog tlaka, pojačavanje srčane kontraktilnosti, reapsorpcija natrija u tubulima bubrega, inhibicija lučenja renina, sinteza aldosterona i utjecaj na simpatikus (21–23). Aldosteron je također efektorska molekula RAS-a čija je sinteza i lučenje regulirano ANG II, a on potiče reapsorpciju natrija, retenciju vode i lučenje kalija i magnezija te na taj način modulira krvni tlak (26). Velik utjecaj na RAS ima prehrana s velikim udjelom soli, što je i dokazano istraživanjima na ljudima i eksperimentalnim životinjama. Unos većih količina soli suprimira RAS aktivnost (27).

Ta dokazana povezanost između unosa soli i aktivnosti RAS sustava upućuje na to da on ima ključnu ulogu u održavanju homeostaze soli u organizmu i njen utjecaj na kardiovaskularni sustav. U zadnjih nekoliko godina postalo je jasno da osim tih uloga, također ima i ulogu u održavanju strukture arteriola, vaskularnoj reaktivnosti i kardiovaskularnom zdravlju općenito (21). Prilikom oksidativnog stresa uzrokovanog visokim unosom soli, normalna funkcija RAS-a ima zaštitnu ulogu u održavanju vaskularne funkcije kod normotenzivnih ljudi (28). Naime, kao što je već navedeno, prilikom povećanog unosa soli dolazi do inhibicije RAS-a, što dokazano ima negativan utjecaj na endotelnu funkciju uslijed niske razine ANG II. Ti podatci dovode do zaključka da je za normalnu vaskularnu funkciju potrebna optimalna razina aktivnosti RAS sustava - niti previsoka, kakva je prisutna kod arterijske hipertenzije, niti preniska, kakva se javlja kod unosa velike količine soli u organizam (29).

1.4. Simpatikus-adrenergički sustav

Autonomna kontrola kardiovaskularnog sustava često je povezana sa hipertenzijom putem smanjenja parasimpatičkog tonusa te povećanog utjecaja simpatikusa na srce i perifernu cirkulaciju. Disfunkcija simpatikusa ovisi o brojnim refleksnim i drugim mehanizmima te sudjeluje u razvoju i progresiji esencijalne hipertenzije i drugih kardiovaskularnih bolesti (30). Glavne jezgre za kontrolu simpatikusa u središnjem živčanom sustanu su paraventrikularna jezgra u hipotalamusu (PVN), rostralna ventrolateralna medula i nukleus traktus solitarius (NTS). NTS prima informacije aferentnim vlaknima od baroreceptora i kemoreceptora, a kada je aktiviran zajedno s njim aktivira se paraventrikularna jezgra u hipotalamusu (31, 32). Aktivirane

paraventrikularne jezgre utječu na aktivnost simpatikusa i volumen izvanstaničnih tekućina poticanjem sinteze antidiuretskog hormona (ADH) (33). Ovi putevi u središnjem živčanom sustavu su u glavnom fokusu studija u posljednjih nekoliko godina, zbog sve većeg broja dokaza o utjecaju na pogoršanje bubrežnih i kardiovaskularnih funkcija u brojnim bolestima (34).

Periferni učinci simpatikusa na kardiovaskularni sustav su već dobro poznati, poput kratkoročne ili dugoročne kontrole krvnog tlaka. Krajevi simpatičkih vlakana otpuštaju norepinefrin, koji se veže za α -adrenergičke receptore na glatkim mišićima uzrokujući vazokonstrikciju (35, 36). Simpatička aktivnost povećava srčani minutni volumen, pomoću β -adrenergičkih vlakana te je zato korištenje blokatora β -receptora vrlo korisno u liječenju hipertenzije (37). Dakle, važan dio učinka simpatikusa je njegov učinak na glatke mišiće krvnih žila koji je povezan sa perifernim otporom (38).

Simpatikus također ima značajnu ulogu u regulaciji rada bubrega te je jedan od nekoliko važnijih faktora u regulaciji tlaka putem bubrega. Te promjene tonusa simpatikusa u bubregu dovode do povećanog izlučivanja vode i natrija urinom te smanjenja krvnog tlaka (39, 40).

Poveznica između renovaskularnih bolesti i kardiovaskularnih bolesti sa povišenom simpatičkom aktivnosti je zadržavanje natrija u organizmu (41, 42). Danas je i dalje nepoznato kako povećan unos soli utječe na simpatičku aktivnost kod zdravih pojedinaca, ali uz odsutnost promjena u krvnom tlaku. Do sada su studije na životinjskim modelima pokazale da visok unos soli nema direktnog utjecaja na bazični krvni tlak, unos vode ili simpatičku aktivnost, ali u kombinaciji sa malim dozama ANG II u obliku infuzije, povećan unos soli uzrokuje simpatičku ekscitaciju (43). Visok unos soli uzrokuje senzitivizaciju simpatičkih vlakana koja rezultira pretjeranim kardiovaskularnim refleksom i povišenjem varijabilnosti krvnog tlaka kod normotenzivnih životinja. Jedna studija je pokazala da sedmodnevna prehrana sa visokim udjelom soli povećava srednji sistolički krvni tlak, smanjuje broj otkucaja srca i povećava aktivnost vagusa u zdravih normotenzivnih žena. Ovih nekoliko studija ukazuju na to da bi se promijene u ravnoteži autonomnog živčanog sustava trebale uzeti u obzir tijekom modulacije RAS uzrokovanog povećanim unosom soli u organizam (29).

1.5. Procjena funkcije simpatikusa

Poremećaji autonomnog živčanog sustava imaju važnu ulogu u patogenezi brojnih bolesti, a pogotovo bolesti kardiovaskularnog sustava. U zadnje vrijeme značajan napredak ostvaren je u procjeni funkcije autonomnog živčanog sustava, simpatikusa i parasimpatikusa. Brojne metode koriste se za praćenje promjene aktivnosti simpatikusa, uglavnom u istraživačke svrhe, ali neke od njih našle su svoje mjesto i u svakodnevnoj kliničkoj praksi. Kroz povijest koristile su se brojne tehnike za procjenu rada autonomnog živčanog sustava poput Valsavinog manevra, dubokog disanja, ortostatskog testa te testa osjetljivosti baroreceptora. U novije vrijeme, koriste se nove tehnike poput procijene varijabilnosti srčanog ritma, mikroneurografije i mjerenja koncentracije katekolamina u uzorku krvi ili urina (44).

1.5.1. Procjena varijabilnosti srčanog ritma

Danas je poznato da je normalan ritam srca u mirovanju iznimno varijabilan, a ne monotono reguliran kao što je to bilo prihvaćeno u prošlosti. Mjerenje varijabilnosti srčanog ritma (*eng. heart rate variability, HRV*) počelo je još 1960-ih godina, ali se posljednjih nekoliko godina pridaje sve veće značenje toj metodi (45). Nepravilno ponašanje otkucaja srca često se previdi kada se računa srednja vrijednost tijekom vremena, no kada se ispituje na osnovi razmaka između dva otkucaja ono je vrlo uočljivo. Te promjene u srčanom ritmu rezultat su brojnih interakcija raznih fizioloških sustava. HRV se smatra mjerom neurokardijalne funkcije koja se koristi za procjenu interakcija između srca i mozga te procjenu aktivnosti autonomnog živčanog sustava (46, 47).

Autonomni sustav kod zdravih pojedinaca se konstantno i dinamički mijenja, stoga se kao indikator zdravlja tog sustava uzima njegova sposobnost reagiranja na određene situacije promjenom u njegovoj funkciji, kao na primjer promjenom srčanog ritma. Njegova nemogućnost prilagođavanja zadanim stanjima i situacijama povezana je sa brojnim patološkim stanjima (48). Primjerice, smanjena HRV može služiti kao prediktor za dijabetičku neuropatiju čak i prije pojave prvih simptoma (49). Također, smanjenje HRV-a smatra se važnim rizičnim čimbenikom za nastanak infarkta miokarda (50). Istraživanja su pokazala da se HRV s godinama smanjuje te se ta korigirana vrijednost treba uzimati u obzir kada se govori o rizičnim faktorima (51, 52).

Broj otkucaja u minuti u svakom trenutku predstavlja zbroj učinka simpatikusa, koji ubrzava rad srca, i parasimpatikusa, koji usporava rad srca. Srce bez inervacije simpatikusa ili parasimpatikusa kuca konstantnim ritmom od otprilike 100 otkucaja u minuti, a ti otkucaji počinju u sinus atrijskom čvoru (53). Upravo zbog tog utjecaja simpatikusa i parasimpatikusa na srce, broj otkucaja u minuti se smatra najboljim pokazateljem aktivnosti autonomnog živčanog sustava (48).

Detaljna analiza varijabilnosti srčanog ritma sastoji se od tri glavne komponente: vremenske domene, frekvencijske domene i nelinearne analize. Analiza vremenske domene daje podatak o prosječnim vrijednostima varijacija za različite periode vremena. Glavni parametri u analizi vremenske domene su SDNN (*eng. standard deviation of normalto-normal inter-beat interval*) i RMSSD (*eng. root mean square of successive RR interval difference*). SDNN je direktan prikaz varijabilnosti srčanog ritma i prikazuje sveukupnu aktivnost autonomnog živčanog sustava, dok je RMSSD povezan sa aktivnošću parasimpatikusa. Analiza frekvencijske domene varijabilnosti srčanog ritma računa se putem spektralne analize te obuhvaća nekoliko obilježja: HF (*eng. high frequency*), LF (*eng. low frequency*), VLF (*eng. very low frequency*) i ULF (*eng. ultra low frequency*). HF prikazuje aktivnost parasimpatikusa, dok LF prikazuje aktivnost i simpatikusa i parasimpatikusa, ali kako je jedino obilježje koje prikazuje aktivnost simpatikusa, prihvaćen je kao referentna vrijednost za isti. Uloga VLF-a i ULF-a nije u potpunosti usuglašena, ali se smatra da VLF prikazuje aktivnost renin-angiotenzin-aldosteron sustava, a ULF ovisi o cirkadijanom ritmu. Postoje još neka obilježja poput ukupne snage, koja je povezana sa SDNN-om te LF/HF omjer koji prikazuje aktivnost autonomnog živčanog sustava (54).

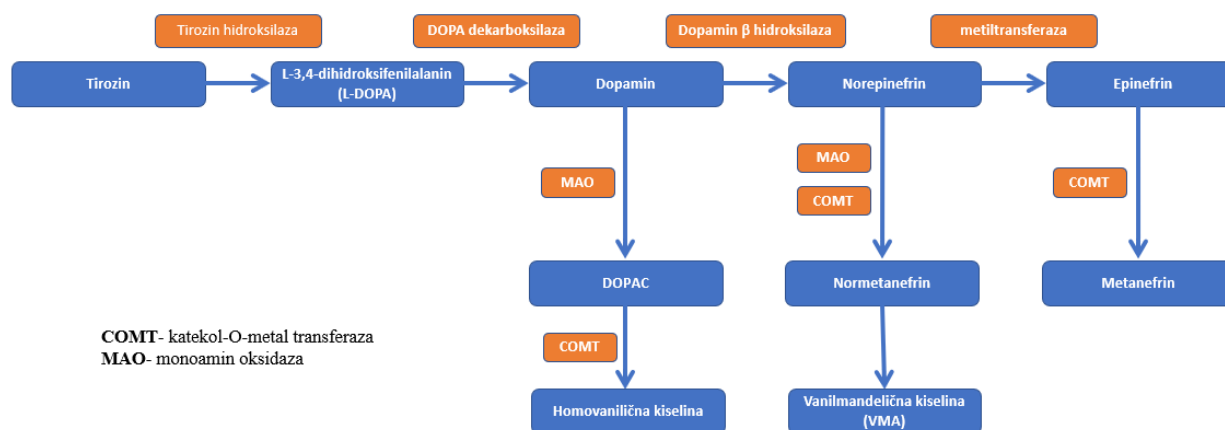
1.5.2. Katekolamini

Katekolamini, ponajprije epinefrin, norepinefrin i dopamin su rasprostranjeni i vrlo važni neurotransmiteri i hormoni kod ljudi. Razvojem brojnih metoda analize katekolamina iz bioloških tekućina omogućilo je ispitivanje njihove uloge u različitim fiziološkim procesima. Također, određivanje razine katekolamina u plazmi i urinu u svakodnevnoj kliničkoj praksi korisno je za dijagnozu mnogih bolesti poput hipertenzije, feokromocitoma ili neuroblastoma (55).

Katekolamini se sastoje od spojeva sa dihidroksifenilnom grupom i amino skupinom. U povijesti prvi je otkriven epinefrin i to kao hormon kojeg otpušta srž nadbubrežne žlijezde. Nakon

njega otkriven je i norepinefrin, kao neurotransmiter na krajevima perifernih živaca, a zadnji je otkriven dopamin, kao prekursor epinefrina i norepinefrina, te njegova fiziološka uloga u regulaciji metabolizma natrija (55).

Biosinteza katekolamina koja se odvija u nekoliko koraka posredovana je brojnim enzimima i stvaranjem međuprodukata, a sažeto je prikazana na slici 1. Tirozin hidroksilaza koja pretvara tirozin u L-3,4-dihidroksifenilalanin (L-DOPA) limitirajući je korak u proizvodnji katekolamina. Nakon toga L-DOPA se uz pomoć dekarboksilaze pretvara u dopamin, a potom se iz dopamina preko norepinefrina može sintetizirati i epinefrin. Katekolamini se metaboliziraju i inaktiviraju u dva završna produkta, homovaniličnu kiselinu i vanilmandeličnu kiselinu pomoću dva enzima, monamin oksidaze i katekol-O-metiltransferaze (55).



Slika 1. Biosinteza i razgradnja katekolamina

Katekolamini u organizmu sudjeluju u širokom spektru funkcija putem adrenergičkih i dopaminskih receptora. Kao što je već rečeno, nedavna su otkrića omogućila određivanje katekolamina i/ili njihovih metabolita u krvi ili urinu sa visokom preciznošću. Takva su mjerenja omogućila razjašnjenje pojedinih funkcija katekolamina u tijelu te njihove uloge u pojedinim bolestima (55).

2. HIPOTEZA

Tjedan dana dijete s velikim udjelom kuhinjske soli uzrokovat će promjenu varijabilnosti srčanog ritma (HRV, eng. heart rate variability) i koncentracije kateholamina u uzorku 24-satnog urina u zdravih mladih muškaraca.

3. CILJEVI

Ciljevi ovog istraživanja su:

1. Ispitati utjecaj kratkotrajne dijeta s velikim udjelom soli na varijabilnost srčanog ritma kod mladih zdravih muškaraca.
2. Ispitati utjecaj kratkotrajne dijeta s velikim udjelom soli na koncentraciju katekolamina u uzorku 24-satnog urina kod mladih zdravih muškaraca.

4. ISPITANICI I METODE

4.1. Ustroj studije

Ova studija je ustrojena kao nerandomizirani kontrolirani klinički pokus u kojemu su mjerenja na ispitanicima napravljena prije i nakon zadane intervencije (u ovom slučaju promjene dnevnog unosa kuhinjske soli u organizam) te su ispitanici sami sebi bili kontrola (56).

4.2 Ispitanici i protokol

U ovom istraživanju sudjelovalo je 10 ispitanika (10 zdravih mladih muškaraca) koji su bili regrutirani oglasom na Medicinskom fakultetu Sveučilišta J.J. Strossmayera u Osijeku. Isključni kriteriji za sudjelovanje u studiji bili su: šećerna bolest, hipertenzija ili hipotenzija, koronarna bolest srca, hiperlipidemija, bubrežno oštećenje, cerebrovaskularne bolesti te bolesti perifernih krvnih žila. Također, niti jedan od ispitanika nije uzimao lijekove koji bi mogli imati utjecaj na endotel. Svaki je ispitanik prije istraživanja bio obaviješten o protokolu i procedurama koje obuhvaća ovo istraživanje te je potpisao informirani pristanak prije ulaska u sam protokol. Ova studija je dio istraživačkog projekta Hrvatske zaklade za znanost (HRZZ IP-2016-06-8744) i odobrena je od strane Etičkog povjerenstva Medicinskog fakulteta Osijek (Klasa: 602-04/15-08/08, Broj: 2158-61-07-15-68).

Protokol studije trajao je 2 tjedna tijekom kojih su ispitanici imali tri posjeta Laboratoriju za kliničku fiziologiju i fiziologiju sporta. Prvi posjet ispitanika bio je prilikom ulaska u protokol, drugi posjet uslijedio je nakon 7 dana dijete s niskim udjelom soli (LS), a treći posjet nakon 7 dana dijete s visokim udjelom soli (HS). LS dijeta, na kojoj su ispitanici bili prvih 7 dana, podrazumijevala je unos kuhinjske soli od oko 3,5 g dnevno, prema DASH planu prehrane koji je dan ispitanicima (57). Tih tjedan dana služilo je kao tzv. „razdoblje ispiranja“, nakon kojeg su ispitanici 7 dana bili na HS dijeti. HS dijeta podrazumijevala je unos oko 14 g kuhinjske soli dnevno - ispitanici su nastavili unositi 3,5 g kuhinjske soli putem hrane, a ostatak je bio nadomješten u obliku praha soli u iznosu od 11,2 g dnevno.

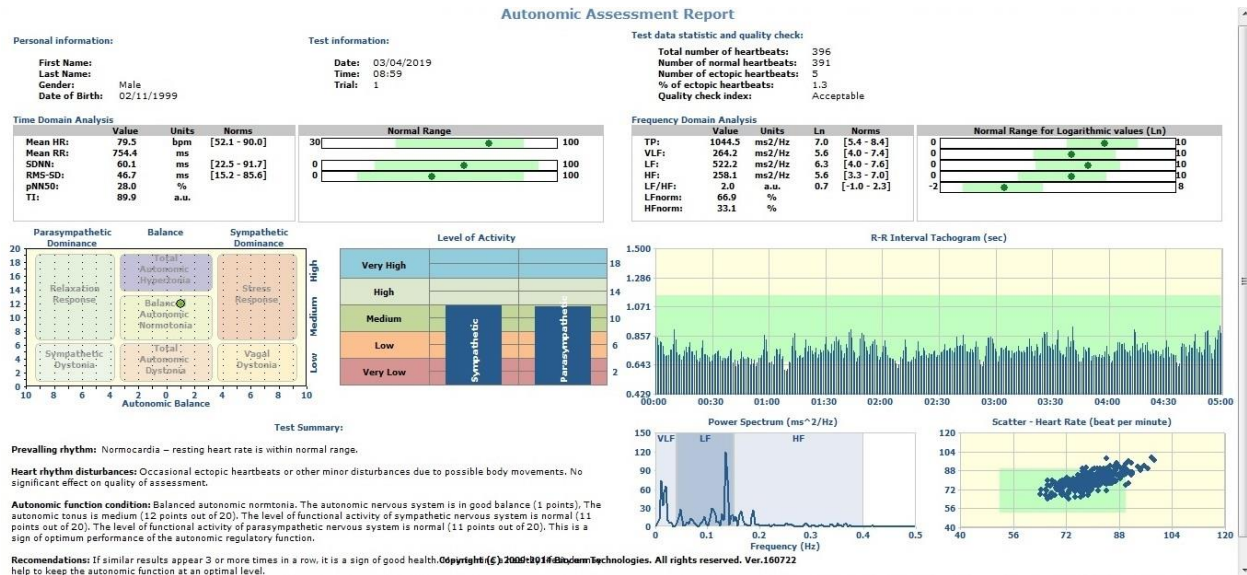
4.3 Metode

Ispitanicima su prilikom svakog posjeta Laboratoriju za kliničku fiziologiju i fiziologiju sporta učinjena mjerenja koja su obuhvaćala: uzimanje uzorka 24-satnog urina koji su ispitanici prikupili dan ranije prema zadanim uputama, mjerenje arterijskog tlaka i pulsa, određivanje indeksa tjelesne mase (engl. *body mass index*, BMI) i omjera struk-bokovi (engl. *waist-hip ratio*, WHR) te mjerenje varijabilnosti srčanog ritma.

Na početku svakog posjeta učinjena su mjerenja arterijskog tlaka i pulsa, nakon 15 minuta u sjedećem položaju. Za mjerenje arterijskog tlaka i pulsa korišten je automatski oscilometar (OMRON, Osaka, Japan). Konačna vrijednost arterijskog tlaka i pulsa izračunata je kao prosjek tri ponavljana mjerenja.

Također, prilikom svakog posjeta ispitanicima su određeni BMI i WHR. BMI se izračunao iz omjera mase u kilogramima i visine u metrima na kvadrat, a WHR iz omjera opsega struka i bokova. Ispitanici su na svako mjerenje donijeli uzorak prikupljenog 24-satnog urina u kojima su određene sljedeće biokemijske varijable: urea, koeficijent kreatinina, natrij, kalij, epinefrin, norepinefrin, metanefrin, normetanefrin, vanilimandelična i homovanilinska kiselina te dopamin. Analiza uzoraka 24-satnog urina izvršena je u Zavodu za kliničku laboratorijsku dijagnostiku Kliničkog bolničkog centra Osijek. Iz podatka o 24-satnoj natrijurezi izračunat je dnevni unos kuhinjske soli u gramima te je time utvrđeno jesu li se ispitanici pridržavali dijetnog protokola.

Za određivanje varijabilnosti srčanog ritma koristio se uređaj *Heart Rhythm Scanner (Biocom 4000)* kojim se bilježio EKG signal u ležećem položaju kroz 5 minuta. Mjerenja HRV uvijek su se radila u izoliranoj prostoriji stabilne temperature prosječne temperature 23,5°C sa standardnom devijacijom 0,5°C, između 8:30 i 12:00 sati. Ispitanici su zamoljeni da izbjegavaju alkoholna pića 24 sata prije mjerenja, te da izbjegavaju unos kave, čaja, kole i pušenje 12 sati prije mjerenja. Ispitanici su smijeli imati lagani doručak, ali najkasnije 2 sata prije mjerenja. Ispitanici su prije mjerenja varijabilnosti srčanog ritma mirovali 10 minuta u ležećem položaju, a nakon toga im je sniman EKG. Kako bi se spriječila pojava artefakata, ispitanicima su ruke bile smještene ugodno na jastuke u položaju supinacije, a 3 elektrode za snimanje EKG-a pričvršćene su na oba zapešća uz pomoć elastičnih traka. Dobiveni podatci obrađeni su programom istog proizvođača, a jedan primjer analize prikupljenih podataka prikazan je na slici 2.



Slika 2. Primjer analize varijabilnosti srčanog ritma iz 5-minutnog EKG zapisa snimljenog uz pomoć Biocom 4000 EKG snimača

4.4 Statističke metode

Svi rezultati opisani su aritmetičkom sredinom i standardnom devijacijom. Obilježja mjerena prije i nakon održanoga HS protokola (nakon perioda ispiranja i poslije HS dijete) uspoređena su pomoću t-testa za zavisne uzorke. Kada obilježja nisu bila normalno raspodijeljena, primijenio se Wilcoxonov test sume rangova s predznacima (engl. *Wilcoxon Signed Rank Sum Test*). Statistička značajnost podešena je na $P < 0.05$. Za statističku analizu koristio se SigmaPlot (version 11.2, Systat Software, Inc, Chicago, USA).

5. REZULTATI

Studijom je obuhvaćeno 10 zdravih mladih ispitanika (n=10) muškog spola srednje dobi 21 i standardna devijacija 1. Tablica 1. prikazuje podatke o dobi i kliničkim obilježjima ispitanika prije i nakon HS dijete. Nakon 7 dana HS dijete nije došlo do statistički značajne promjene BMI-a i WHR-a. Također, 7 dana dijete s velikim udjelom kuhinjske soli nije uzrokovalo značajne promjene vrijednosti arterijskog tlaka i pulsa.

Tablica 1. Klinička obilježja ispitanika

Obilježje* (mjerna jedinica)	Aritmetička sredina (standardna devijacija)	
	Prije visokoslane dijete	Poslije visokoslane dijete
BMI (kg/m ²)	25,2 (2,2)	25,6 (2,1)
WHR	0,82 (0,03)	0,83 (0,03)
SBP (mmHg)	121 (11)	126 (13)
DBP (mmHg)	74 (10)	70 (9)
MAP (mmHg)	90 (8)	89 (10)
HR (otkucaja u min)	75 (12)	71 (10)

Rezultati su izraženi kao aritmetička sredina i standardna devijacija (SD).

* BMI – indeks tjelesne mase; WHR – omjer struk-bokovi; SBP – sistolički arterijski tlak;

DBP – dijastolički arterijski tlak; MAP – srednji arterijski tlak; HR – puls

Nakon 7 dana dijete s velikim udjelom kuhinjske soli vrijednosti natrija u uzorku 24-satnog urina očekivano su bile statistički značajno povećane, kao i izračunat dnevni unos NaCl-a, što potvrđuje da su se ispitanici pridržavali dijetnog protokola. Vrijednosti metanefrina i epinefrina u uzorku 24-satnog urina bile su statistički značajno smanjene nakon 7 dana dijete s velikim udjelom kuhinjske soli. Ostali parametri u uzorku 24-satnog urina nisu bili statistički značajno promijenjeni nakon navedenog dijetnog protokola (Tablica 2.).

Tablica 2. Biokemijska obilježja u 24-satnom urinu ispitanika

Obilježje (mjerna jedinica)	Aritmetička sredina (standardna devijacija)	
	Prije visokoslane dijete	Poslije visokoslane dijete
Volumen 24h urina (mL)	1870 (457)	1581 (395)
Natrij u 24h urinu (mmol/dU)	134 (45)	279 (99) *
Izračunat unos NaCl (g/dan)	7,8 (2,6)	16,3 (5,8) *
Kalij u 24h urinu (mmol/dU)	57 (18)	55 (12)
Urea u 24h urinu (mmol/dU)	352 (144)	365 (79)
Koeficijent kreatinina u 24h urinu ($\mu\text{mol}/24\text{h}/\text{kg}$)	209 (55)	181 (34)
Metanefrin u 24h urinu ($\mu\text{mol}/\text{dU}$)	0,55 (0,17)	0,49 (0,20) *
Normetanefrin u 24h urinu ($\mu\text{mol}/\text{dU}$)	1,09 (0,39)	1,03 (0,39)
Vanilmandelična kiselina u 24h urinu ($\mu\text{mol}/\text{dU}$)	18,00 (6,55)	17,30 (6,85)
Homovanilinska kiselina u 24h urinu ($\mu\text{mol}/\text{dU}$)	24,32 (7,66)	23,79 (7,41)
Epinefrin u 24h urinu ($\mu\text{mol}/\text{dU}$)	0,04 (0,03)	0,02 (0,02) *
Norepinefrin u 24h urinu ($\mu\text{mol}/\text{dU}$)	0,21 (0,11)	0,20 (0,08)
Dopamin u 24h urinu ($\mu\text{mol}/\text{dU}$)	1,61 (0,50)	1,65 (0,72)

Rezultati su izraženi kao srednja aritmetička sredina i standardna devijacija (SD).

* $p < 0,05$ (t-test za zavisne uzorke)

Iako su pojedine varijable analize varijabilnosti srčanog ritma poput HF-a i omjera LF/HF pokazale tendenciju sniženja, ipak sve mjerene varijable nisu bile statistički značajno promijenjene nakon 7 dana dijete s velikim udjelom kuhinjske soli (Tablica 3.).

Tablica 3. Varijabilnost srčanog ritma kod ispitanika

Obilježje* (mjerna jedinica)	Aritmetička sredina (standardna devijacija)	
	Prije visokoslane dijete	Poslije visokoslane dijete
Analiza vremenske domene		
Srednja vrijednost HR , bpm	69 (12)	69 (10)
Srednja vrijednost RR , ms	882 (121)	882 (112)
SDNN , ms	91 (25)	84 (38)
RMS-SD , ms	72 (28)	74 (34)
pNN50	34 (20)	36 (19)
TI	64 (59)	73 (63)
Analiza frekvencijske domene		
Ukupna Snaga , ms ² /Hz	2235 (1090)	2061 (3568)
VLF , ms ² /Hz	877 (509)	719 (1611)
LF , ms ² /Hz	900 (565)	953 (1664)
HF , ms ² /Hz	458 (306)	392 (542)
LF/HF	2,6 (1,6)	1,7 (1,3)
LF_{norm}	68 (11)	65 (10)
HF_{norm}	32 (11)	35 (10)

Rezultati su izraženi kao srednja aritmetička sredina i standardna devijacija (SD).

*HR – broj otkucaja u minuti; SDNN – standardna devijacija NN intervala

RMS-SD – srednja vrijednost kvadrata uzastopnih otkucaja srca; pNN50 – razmjer od NN50 podijeljen sa ukupnim brojem NN-ova; VLF – vrlo niska frekvencija; LF – niska frekvencija; HF- visoka frekvencija

† p < 0,05 (t-test za zavisne uzorke)

6. RASPRAVA

Najvažniji je rezultat ove studije da je tjedan dana prehrane s velikim udjelom soli uzrokovalo sniženje koncentracije epinefrina i metanefrina u uzorku 24-satnog urina u mladih zdravih muškaraca, dok je funkcionalno mjerenje aktivnosti adrenergičkog sustava određivanjem varijabilnosti srčanog ritma pokazalo tendenciju smanjenja aktivnosti simpatikusa, ali ta promjena nije bila statistički značajna.

Zbog širokog spektra zdravstvenih posljedica, prekomjerman unos kuhinjske soli prehranom globalni je problem koji se sve više prepoznaje (58). U ovoj studiji, ispitanici su tijekom 7 dana prehrane sa visokim udjelom kuhinjske soli unosili oko 14 grama soli dnevno, što je potvrđeno povišenom koncentracijom natrija u uzorku 24-satnog urina te izračunatim dnevnim unosom soli. Te vrijednosti unosa soli zbog današnjeg stila života i načina prehrane nisu rijetkost, osobito u razvijenim zemljama, što potvrđuju nalazi brojnih studija rađenih na velikom dijelu svjetske populacije, a takav trend prisutan je i u Hrvatskoj (58–60). Prilikom ulaska u protokol prosječan unos soli ispitanika iznosio je 9,5 g dnevno, što je više od preporučenih vrijednosti, ali niže od prosječnog dnevnog unosa u Hrvatskoj koji za muškarce srednje dobi iznosi 13,3 g dnevno (59). Također, u prilog tome ide i podatak da prosječan unos soli raste s dobi (58), a u ovoj studiji su regrutirani mladi muškarci.

Velik broj istraživanja o utjecaju prekomjernog unosa soli na aktivnost adrenergičkog sustava i varijabilnost srčanog ritma bio je učinjen na populaciji pacijenata s esencijalnom hipertenzijom. Te studije su pokazale da HS prehrana vodi do neadekvatne supresije simpatičke aktivnosti kod bolesnika sa esencijalnom hipertenzijom osjetljivih na sol (4, 61, 62). Za razliku od toga, u fokusu ove studije bio je utjecaj prehrane sa velikim udjelom kuhinjske soli na varijabilnost srčanog ritma kod mladih, zdravih muškaraca, bez dijagnoze hipertenzije ili bilo kakvih drugih komorbiditeta.

U svojoj studiji Minami J. i suradnici istraživali su utjecaj HS prehrane na varijabilnost srčanog ritma i koncentraciju katekolamina u plazmi kod pacijenata sa esencijalnom hipertenzijom podijeljene u 2 skupine: osjetljive na sol i neosjetljive na sol. Dokazali su da je koncentracija noradrenalina u plazmi kod pacijenata neosjetljivih na sol snižena, dok je to sniženje izostalo kod pacijenata osjetljivih na sol (61). Sniženje katekolamina pod utjecajem HS prehrane također je dokazano u našoj studiji, ali iz uzorka 24-satnog urina. Minami i suradnici također su dokazali

smanjenje LF/HF omjera kod pacijenata neosjetljivih na sol. Uzevši u obzir dobivene podatke zaključuje se da sniženje aktivnosti simpatikusa zajedno sa povećanjem rada parasimpatikusa služi kao protektivni učinak protiv razvoja povišenja krvnog tlaka uzrokovanog HS prehranom kod pacijenata neosjetljivih na sol (61). Takav učinak smo očekivali i kod zdravih mladih muškaraca u našoj studiji te su pojedini parametri poput LF/HF omjera pokazali tendenciju sniženja vrijednosti, ali to sniženje nije bilo statistički značajno. Moguć razlog statistički nedovoljnog sniženja može biti malen broj ispitanika u našoj studiji.

Pal GK. i suradnici u svojoj su studiji istraživali razliku u varijabilnosti srčanog ritma kod dvije različite skupine ljudi - jedna je bila skupina koja preferira prehranu sa većom količinom kuhinjske soli, a druga koja preferira prehranu s manje soli. Te dvije skupine također su bile podijeljene na 2 skupine: normotenzivna i prehipertenzivna. Rezultati su pokazali statistički značajno povećane vrijednosti LF-a kod prehipertenzivnih ispitanika u odnosu na normotenzivne te kod ispitanika koji preferiraju prehranu sa većom količinom soli u odnosu na one s manjom količinom soli. Taj podatak govori u prilog tome da je simpatička aktivnost nešto veća kod pojedinaca koji preferiraju slaniju prehranu te je također veći poremećaj u simpatovagalnoj ravnoteži. Upravo je taj poremećaj u simpatovagalnoj ravnoteži čimbenik koji olakšava progresiju iz normotenzivnog u hipertenzivno stanje (62). Takvi rezultati o nižoj simpatičkoj aktivnosti u ljudi koji preferiraju prehranu s manje kuhinjske soli nešto se razlikuju od rezultata ove studije koji su pokazali smanjenu simpatičku aktivnost kod zdravih mladih muškaraca koji su bili na dijeti s velikim udjelom soli. Takva razlika je vjerojatno posljedica kratkog trajanja eksperimentalnog protokola ove studije te još uvijek očuvanih fizioloških kompenzacijskih mehanizama.

Graudal i suradnici su u svojoj opsežnoj meta-analizi analizirali utjecaj LS prehrane (u usporedbi s HS prehranom) na krvni tlak te koncentracije renina, aldosterona, kolesterola, HDL-a i LDL-a te triglicerida, mjerili i utjecaj HS i LS prehrane na koncentraciju katekolamina u serumu. Među brojim rezultatima prikazanim u toj studiji, važan podatak je taj da LS prehrana uzrokuje povećanje koncentracije katekolamina u serumu (63). Taj podatak je u suglasnosti s rezultatima ove studije u kojoj je prikazano smanjenje koncentracije katekolamina u uzorku 24-satnog urina nakon HS prehrane, što također govori u prilog očuvanosti kompenzacijskih mehanizama u zdravih ispitanika koji su bili na HS dijeti 7 dana.

Sažeto rečeno, ova je studija pokazala da povećan unos kuhinjske soli u organizam u razdoblju od 7 dana uzrokuje smanjenje simpatičke aktivnosti što, ako se uzme u obzir povećan

tonus simpatikusa u brojnim kardiovaskularnim bolestima, ukazuje na očuvanost kompenzacijskih mehanizama u populaciji zdravih mladih ispitanika opterećenih povećanim unosom soli. U ovoj studiji aktivnost simpatikusa je određivana direktno mjerenjem koncentracije katekolamina u uzorku 24-satnog urina te funkcionalno procjenom varijabilnosti srčanog ritma. Ako se uzme u obzir da je povećana aktivnost simpatikusa jedno od glavnih obilježja arterijske hipertenzije (ali i drugih kardiovaskularnih bolesti) koji govore u prilog narušenim kompenzacijskim mehanizmima snižavanja arterijskoga tlaka, tada nalaz sniženja koncentracije epinefrina i metanefrina u uzorku 24-satnog urina te tendencija sniženja pojedinih varijabli određenih funkcionalnim mjerenjem varijabilnosti srčanog ritama, govori u prilog očuvanosti kompenzacijskih mehanizama uslijed povećanog unosa soli u populaciji normotenzivnih zdravih mladih ispitanika. Ipak, konačan zaključak o utjecaju soli na simpatovagalni tonus utvrdit će se nakon uključivanja većeg broja ispitanika u studiju, kako mladih zdravih muškaraca, tako i mladih zdravih žena.

7. ZAKLJUČAK

Na temelju provedenog istraživanja i dobivenih rezultata mogu se izvesti sljedeći zaključci:

1. Tjedan dana prehrane s visokim udjelom soli nije uzrokovao statistički značajne promjene u varijabilnosti srčanog ritma kod mladih zdravih muškaraca.
2. Tjedan dana prehrane s visokim udjelom soli uzrokovalo je sniženje koncentracije epinefrina i metanefrina u uzorku 24-satnog urina kod mladih zdravih muškaraca.

8. SAŽETAK

CILJ ISTRAŽIVANJA: Cilj ovog istraživanja bio je procijeniti aktivnost simpatikusa i parasimpatikusa mjerenjem varijabilnosti srčanog ritma i razine katekolamina te njihovih metabolita u uzorku 24-satnog urina prije i poslije dijete s velikim udjelom kuhinjske soli (HS) u mladih zdravih muškaraca.

NACRT STUDIJE: Nerandomizirani kontrolirani klinički pokus.

ISPITANICI I METODE: U studiji je sudjelovalo 10 mladih zdravih muškaraca. Ispitanici su bili uključeni u specifični dijetni protokol u trajanju od 14 dana, a koji se sastojao od 7 dana dijete s niskim udjelom soli (~3,5 g soli/dan), i potom 7 dana dijete s visokim udjelom soli (~14 g soli/dan). Aktivnost adrenergičkog sustava mjerena je prije i nakon dijetnih protokola petominutnim testom varijabilnosti srčanog ritma uz pomoć uređaja *Heart Rhythm Scanner (Biocom)* te određivanjem koncentracije epinefrina, metanefrina, norepinefrina, normetanefrina, dopamina, vanilmandelična kiseline i homovanilična kiseline u uzorku 24-satnog urina.

REZULTATI: 7 dana dijete s velikim udjelom soli uzrokovalo je sniženje koncentracije epinefrina i metanefrina u uzorku 24-satnog urina. Analiza vremenske i frekvencijske domene nije pokazala statistički značajne promjene u varijabilnosti srčanog ritma nakon HS protokola kod mladih zdravih muškaraca.

ZAKLJUČAK: Iako snižena koncentracija epinefrina i metanefrina u uzorku 24-satnog urina može ukazati na sniženje u aktivnosti simpatikusa zbog HS prehrane, mjerenja varijabilnosti srčanog ritma nisu pokazala značajnu promjenu u aktivnosti simpatikusa ni parasimpatikusa. Ipak, konačan zaključak o utjecaju velikog unosa soli u organizam na aktivnost adrenergičkog sustava bit će donesen nakon uključivanja mladih zdravih žena te povećanja broja ispitanika u studiji.

KLJUČNE RIJEČI: autonomni živčani sustav; dijeta s visokim udjelom soli; katekolamini; varijabilnost srčanog ritma

9. SUMMARY

CHANGES IN THE AUTONOMIC NERVOUS SYSTEM DURING HIGH-SALT LOADING IN YOUNG HEALTHY INDIVIDUALS

RESEARCH OBJECTIVES: The aim of our project was to assess SNS/parasympathetic (PSNS) activity by measurement of heart rate variability (HRV), and level of catecholamines and their metabolites in 24h urine sample before and after an HS diet protocol in young healthy individuals.

STUDY DESIGN: Non-randomized controlled trial.

PARTICIPANTS AND METHODS: 10 young healthy men were assigned to a 7-day low salt (LS) diet (<3.5 g salt/day) followed by a 7-day HS diet (~14 g salt/day) (pilot measurements). The 5-minute HRV was assessed by Hearth Rhythm Scanner (Biocom), and 24h-urine epinephrine, metanephrine, norepinephrine, normetanephrine, vanillylmandelic acid (VMA), dopamine, homovanillic acid (HVA) were measured before and after diet protocols.

RESULTS: The 7-day HS diet significantly decreased the level of epinephrine and metanephrine in 24h urine samples. Both time domain and frequency domain analysis did not show significant changes in HRV following the HS diet in young healthy men.

CONCLUSION: Although reduced epinephrine and metanephrine levels may indicate a decrease in SNS activity due to HS intake, functional measurements of HRV did not show any significant change in both SNS and PSNS activity level following the HS diet in young healthy men. Nevertheless, the final conclusions will be made after the inclusion of young healthy women as well as the increase of the total number of healthy individuals in the present study.

KEYWORDS: autonomic nervous system; catecholamines; heart rate variability; high salt diet

10. LITERATURA

1. World Health Organization. A global brief on Hypertension, World Health Day 2013. WHO, Geneva. 2013;
2. O'Donnell MJ, Mente A, Smyth A, Yusuf S. Salt intake and cardiovascular disease: Why are the data inconsistent? *Eur Heart J.* 2013;34(14):1034–40.
3. Intersalt Cooperative Research Group. Intersalt: An International Study of Electrolyte Excretion And Blood Pressure. 24 Hour Urinary Sodium and Potassium Excretion. *BMJ Br Med J.* 1988;297(6644):319–28.
4. Bates B, Lennox A, Bates C, Swan G. National Diet and Nutrition Survey- Headline results from Year 1 and 2(combined) of the Rolling Programme (2008/09- 2009/10). 2014;2.
5. World Health Organization (WHO). Guideline: sodium intake for adults and children. Guidel Potassium Intake Adults Child. 2012;1–46.
6. He FJ, Jenner KH, MacGregor GA. WASH-World action on salt and health. *Kidney Int.* 2010;78(8):745–53.
7. VLADA REPUBLIKE HRVATSKE. Strateški Plan Za Smanjenje Prekomjernog Unosa Kuhinjske Soli U Republici Hrvatskoj 2015. – 2019. 2014;
8. Boegehold MA. The effect of high salt intake on endothelial function: Reduced vascular nitric oxide in the absence of hypertension. *J Vasc Res.* 2013;50(6):458–67.
9. He FJ, MacGregor GA. Effect of modest salt reduction on blood pressure: A meta-analysis of randomized trials. Implications for public health. *J Hum Hypertens.* 2002;16(11):761–70.
10. MAURICE B. STRAUSS, M.D.; EZRA LAMDIN, M.D.; W. PIERCE SMITH MD. Surfeit and Deficit of Sodium A Kinetic Concept of Sodium Excretion. *AMA Arch Intern Med.* 1958;102(4):527-536.

11. He FJ, Li J, MacGregor GA. Effect of longer term modest salt reduction on blood pressure: Cochrane systematic review and meta-analysis of randomised trials. *BMJ*. 2013;346(7903):1–15.
12. Aburto NJ, Ziolkovska A, Hooper L, Elliott P, Cappuccio FP, Meerpohl JJ. Effect of lower sodium intake on health: Systematic review and meta-analyses. *BMJ*. 2013;346(7903):1–20.
13. Cappuccio FP, Capewell S, Lincoln P, McPherson K. Policy options to reduce population salt intake. *BMJ*. 2011;343(7820).
14. Schmieder RE. Dietary salt intake and left ventricular hypertrophy. *Nephrol Dial Transpl*. 1997;12:245–248.
15. Barba G, Cappuccio FP RL. Renal function and blood pressure response to dietary salt restriction in normotensive men. *Hypertension*. 1996;27:1160–1164.
16. Raitakari O, Celermajer D. Testing for endothelial dysfunction. *Ann Med*. 2000;32(5):293–304.
17. Godo S, Shimokawa H. Endothelial Functions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2017;37(9):e108–14.
18. DuPont JJ, Greaney JL, Wenner MM, Lennon-Edwards SL, Sanders PW, Farquhar WB, et al. High dietary sodium intake impairs endothelium-dependent dilation in healthy salt-resistant humans. *J Hypertens*. 2013;31(3):530–6.
19. Cavka A, Jukic I, Ali M, Goslawski M, Bian JT, Wang E, et al. Short-term high salt intake reduces brachial artery and microvascular function in the absence of changes in blood pressure. *J Hypertens*. 2016;34(4):676–84.
20. Liu FQ, Mu JJ, Liu ZQ, Shi DC, Huang Q, Yuan ZY, et al. Endothelial dysfunction in normotensive salt-sensitive subjects. *J Hum Hypertens*. 2012;26(4):247–52.
21. Drenjacnevic-Peric I, Jelaković B, Lombard JH, Kunert MP, Kibel A, Gros M. High-salt diet and hypertension: Focus on the renin-angiotensin system. *Kidney Blood Press Res*.

- 2011;34(1):1–11.
22. PR S. Interaction between the renin-angiotensin-aldosterone and sympathetic nervous systems. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1992;19(6):S80-8.
 23. Tobian BYL, Tombouliau A, Janecek J. THE EFFECT OF HIGH PERFUSION PRESSURES ON THE ISOLATED KIDNEY * In our previous studies on the granulation of juxtaglomerular cells , we were impressed with Ac Ilcc. 1958;(3):605–10.
 24. Diz DI, Arnold AC, Nautiyal M, Isa K, Shaltout HA, Tallant EA. Angiotensin signaling in cardio-renal disease: Angiotensin peptides and central autonomic regulation. *Curr Opin Pharmacol.* 2011;11(2):131–7.
 25. Balt JC, Mathy MJ, Pfaffendorf M VZP. Sympatho-inhibitory properties of various AT1 receptor antagonists. *J Hypertens.* 2002;20(5):S3–S11.
 26. Unger T SM. Rationale for double renin-angiotensin-aldosterone system blockade. *Am J Cardiol.* 2007;100:25J–31J.
 27. Schweda F. Salt feedback on the renin-angiotensin-aldosterone system. *Pflugers Arch Eur J Physiol.* 2015;467(3):565–76.
 28. Drenjancevic-Peric I, Lombard JH. Reduced angiotensin II and oxidative stress contribute to impaired vasodilation in Dahl salt-sensitive rats on low-salt diet. *Hypertension.* 2005;45(4 SUPPL.):687–91.
 29. Stupin A, Drenjancevic I, Rasic L et al. A Cross-Talk between the Renin-Angiotensin and Adrenergic Systems in Cardiovascular Health and Disease. *Southeast Eur Med J.* 2017;1(1):90–107.
 30. Grassi G, Ram VS. Evidence for a critical role of the sympathetic nervous system in hypertension. *J Am Soc Hypertens.* 2016;10(5):457–66.
 31. PG. G. The sympathetic control of blood pressure. *Nat Rev Neurosci.* 2006;7(335):46.
 32. Xu B, Li H. Brain mechanisms of sympathetic activation in heart failure: Roles of the renin-angiotensin system, nitric oxide and pro-inflammatory cytokines (Review). *Mol*

- Med Rep. 2015;12(6):7823–9.
33. Conceição M, Naves LM, Madalena S, Silva EF, Cristina A, Rebelo S, et al. Neuronal circuits involved in osmotic challenges Marina. *Physiol Res.* 2017;
 34. Florea VG, Cohn JN. The autonomic nervous system and heart failure. *Circ Res.* 2014;114(11):1815–26.
 35. MC. K. Characterization of adrenoceptor subtypes in cat cutaneous vasculature. *J Pharmacol Exp Ther.* 1990;254:221–7.
 36. RR. R. Distribution and function of peripheral α -adrenoreceptors in the cardiovascular system. *Pharmacol Biochem Behav.* 1985;22:827–33.
 37. Najafi A, Sequeira V, Kuster DWD, van der Velden J. B-Adrenergic Receptor Signalling and Its Functional Consequences in the Diseased Heart. *Eur J Clin Invest.* 2016;46(4):362–74.
 38. Charkoudian N, Joyner MJ, Johnson CP, Eisenach JH, Dietz NM, Wallin BG. Balance between cardiac output and sympathetic nerve activity in resting humans: Role in arterial pressure regulation. *J Physiol.* 2005;568(1):315–21.
 39. DiBona GF. Physiology in perspective: The Wisdom of the Body. Neural control of the kidney . *Am J Physiol Integr Comp Physiol.* 2005;289(3):R633–41.
 40. Nishi EE, Bergamaschi CT, Campos RR. The crosstalk between the kidney and the central nervous system: The role of renal nerves in blood pressure regulation. *Exp Physiol.* 2015;100(5):479–84.
 41. Zucker IH, Xiao L, Haack KK V. The Central RAS and Sympathetic Nerve Activity in Chronic Heart Failure. *Clin Sci.* 2014;126(10):695–706.
 42. Blankestijn PJ, London G, Fliser D, Jager KJ, Lindholm B, Goldsmith D, et al. Major pathways of the reno-cardiovascular link: The sympathetic and renin-angiotensin systems. *Kidney Int Suppl.* 2011;1(1):13–6.
 43. Guild SJ, McBryde FD, Malpas SC, Barrett CJ. High dietary salt and angiotensin II

- chronically increase renal sympathetic nerve activity: A direct telemetric study. *Hypertension*. 2012;59(3):614–20.
44. Zygmunt A, Stanczyk J. Methods of evaluation of autonomic nervous system function. *Arch Med Sci*. 2010;6(1):11–8.
 45. Singer DH, Martin GJ MN. Low heart rate variability and sudden cardiac death. *J Electrocardiol*. 1988;21:46–55.
 46. Shaffer F, McCraty R, Zerr CL. A healthy heart is not a metronome: an integrative review of the heart's anatomy and heart rate variability. *Front Psychol*. 2014;5(September):1–19.
 47. McCraty R, Atkinson M, Tomasino D, Bradley RT. The Coherent Heart Heart-Brain Interactions, Psychophysiological Coherence, and the Emergence of System-Wide Order. *Integr Rev A Transdiscipl Transcult J New Thought, Res Prax*. 2009;5(2):10–115.
 48. P. P. Elevated heart rate as a predictor of increased cardiovascular morbidity. *J Hypertens Suppl*. 1999;17(3):187–98.
 49. Ewing DJ, Campbell IW CB. Mortality in diabetic autonomic neuropathy. *Lancet*. 1976;1(7960):601–3.
 50. Wolf MM, Varigos GA, Hunt D SJ. Sinus arrhythmia in acute myocardial infarction. *Med J Aust*. 1978;2(2):52–3.
 51. Kromhout D, Klootwijk P, Pool J, Dekker JM, Swenne CA, Schouten EG. Heart rate variability from short electrocardiographic recordings predicts mortality from all causes in middle-aged and elderly men. *Am J Epidemiol*. 1997;145(10):899–908.
 52. Tsuji H VFJME. Reduced heart rate variability and mortality risk in an elderly cohort. The Framingham Heart Study. *Circulation*. 1994;90(2):878–83.
 53. Jose AD, Collison D. The normal range and determinants of the intrinsic heart rate in man. *Cardiovasc Res*. 1970;4(2):160–7.
 54. Taralov ZZ, Terziyski K V., Kostianev SS. Heart Rate Variability as a Method for Assessment of the Autonomic Nervous System and the Adaptations to Different

- Physiological and Pathological Conditions. *Folia Med (Plovdiv)*. 2015;57(3–4):173–80.
55. Tsunoda M. Recent advances in methods for the analysis of catecholamines and their metabolites. *Anal Bioanal Chem*. 2006;386(3):506–14.
56. McKee M, Britton A, Black N, McPherson K, Sanderson C, Bain C. Methods in health services research: Interpreting the evidence: choosing between randomised and non-randomised studies. *Bmj*. 2011;319(7205):312–5.
57. Kwan MWM, Wong MCS, Wang HHX, Liu KQL, Lee CLS, Yan BPY, et al. Compliance with the dietary approaches to stop hypertension (DASH) diet: A systematic review. *PLoS One*. 2013;8(10):4–11.
58. Brown IJ, Tzoulaki I, Candeias V, Elliott P. Salt intakes around the world: Implications for public health. *Int J Epidemiol*. 2009;38(3):791–813.
59. Đurić J, Vitale K, Paradinović S, Jelaković B. Unos kuhinjske soli i arterijski tlak u općoj populaciji. *Hrvat časopis za prehrambenu Tehnol Biotehnol i Nutr*. 2011;6(3–4):141–7.
60. Anderson CAM, Appel LJ, Brown IJ, Chan Q, Zhao L, Kesteloot H, et al. #240 Dietary Sources of Sodium in The INTERMAP Study. *J Am Diet Assoc*. 2010;110(5):736–45.
61. Minami J, Kawano Y, Ishimitsu T, Takishita S. Blunted parasympathetic modulation in salt-sensitive patients with essential hypertension: Evaluation by power-spectral analysis of heart-rate variability. *J Hypertens*. 1997;15(7):727–35.
62. Pal GK, Adithan C, Dutta TK, Pal P, Nanda N, Syamsundara Kiran AN, et al. Preference for salt contributes to sympathovagal imbalance in the genesis of prehypertension. *Eur J Clin Nutr*. 2013;67(6):586–91.
63. Na G, Jurgens G. Effects of low sodium diet versus high sodium diet on blood pressure , renin , aldosterone , catecholamines , cholesterol , and triglyceride (Review)
SUMMARY OF FINDINGS FOR THE MAIN COMPARISON. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017;(4).

11. ŽIVOTOPIS

Luka Kolar

Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku

Medicinski fakultet Osijek

J. Huttlera 4, 31 000 Osijek

Datum i mjesto rođenja:

22. 7. 1994., Pula

Kućna adresa:

Fabijana Šovagovića 15, 32000 Vukovar

Tel: +385998280607

E-mail: lukakolar.vu@gmail.com

OBRAZOVANJE:

2001. – 2009. Osnovna škola Mitnica Vukovar

2009. – 2013. Gimnazija Vukovar

2013. Studij medicine, Medicinski fakultet Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera

OSOBNJE VJEŠTINE I KOMPETENCIJE:

Materinji jezik: Hrvatski jezik

Strani jezici: Engleski jezik

Vozačka dozvola: B kategorija

Poznavanje računalnih /informatičkih programa: Microsoft Office (Word, Excel, Power Point)

TEHNIČKE VJEŠTINE I KOMPETENCIJE:

Funkcionalne eksperimentalne metode:

- mjerenje vaskularne reaktivnosti mikrocirkulacije kože (engl. LDF - *Laser Doppler Flowmetry*)
- mjerenje varijabilnosti srčanog rima (engl. HRV – *Heart Rate Variability*)

NAGRADE I PRIZNANJA:

2017./2018. – Dekanova nagrada za znanost i sport (MEFOS)

2017./2018. – Financijska potpora studentima Medicinskog fakulteta Osijek za odlazak na kongrese

ZNANSTVENE PUBLIKACIJE:

Radovi u časopisima (Znanstveni i pregledni radovi)

1. Stupin, Ana; Stupin, Marko; Barić, Lidija; Matić, Anita; **Kolar, Luka**; Drenjančević, Ines. Sex-Related Differences in Forearm Skin Microvascular Reactivity of Young Healthy Subjects. // *Clinical hemorheology and microcirculation* (2019) (međunarodna recenzija, prihvaćen)
2. Stupin, Marko; Stupin, Ana; Rašić, Lidija; Ćosić, Anita; **Kolar, Luka**; Šerić, Vatroslav; Lenasi, Helena; Ižaković, Krešimir; Drenjančević, Ines. Acute exhaustive rowing exercise reduces skin microvascular dilator function in young adult rowing athletes. // *European journal of applied physiology*, 118 (2018), 2; 461-474 doi:10.1007/s00421-017-3790-y.

Sažeci sa skupova (Sažeci u zbornicima i časopisima)

1. **Kolar, Luka**; Drenjančević, Ines; Barić, Lidija; Stupin, Marko; Matić, Anita; Debeljak, Željko; Stupin, Ana. Changes in the autonomic nervous system during high-salt loading in young healthy individuals. // *RECOOP Student Conference 2019 Abstract Book*. Bratislava, Slovačka, 2019. str. /- (poster, međunarodna recenzija, sažetak, znanstveni)
2. Stupin, Marko; Stupin, Ana; Rašić, Lidija; Matić, Anita; **Kolar, Luka**; Mihaljević, Zrinka; Drenjančević, Ines. Is There a Sex-Related Difference in Endothelium-Dependent Microvascular Response to Acute Salt Loading in Young Healthy Individuals?. // *Journal of Hypertension Vol 36, e-Supplement 1 - ESH 2018 Abstract Book*. Barcelona, Španjolska, 2018. str. e195-e196 doi:10.1097/01.hjh.0000539542.63039.bb (poster, međunarodna recenzija, sažetak, znanstveni)
3. **Kolar, Luka**; Stupin, Marko; Stupin, Ana; Drenjančević, Ines. What can we do to prevent athlete's sudden death?. // *23rd International Student Congress on Sport Sciences (ISCSS) - Abstract Book / Koller, Akos (ur.)*. Budimpešta, 2018. str. 33-34 (predavanje, međunarodna recenzija, sažetak, stručni)

4. Stupin, Marko; Stupin, Ana; Rašić, Lidija; Ćosić, Anita; **Kolar, Luka**; Lenasi, Helena; Drenjančević, Ines. Acute exhausting exercise session affects endothelium-dependent, but not endothelium-independent vasodilation in professional rowers. // Acta Physiologica 221, S713, 1-290 . Beč, Austrija, 2017. str. 74 (A02-5) (poster, međunarodna recenzija, sažetak, znanstveni)
5. Stupin, Marko; **Kolar, Luka**; Stupin, Ana; Rašić, Lidija; Ćosić, Anita; Drenjančević Ines. Povoljan kardiovaskularni učinak redovitog vježbanja nije vezan isključivo uz "tradicionalne" čimbenike rizika. // Cardiologia Croatica 3(12) / Ivanuša, Mario (ur.). Poreč, Hrvatska, 2017. str. 56-56 (poster, međunarodna recenzija, sažetak, znanstveni).