

Učinak 7-dnevne dijeta s velikim udjelom kuhinjske soli na o dušikovom-oksidu ovisnu endotelnu dilataciju mikrocirkulacije kože u zdravih pojedinaca

Perić, Leon

Master's thesis / Diplomski rad

2022

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://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:152:731202>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-26**



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

Leon Perić

UČINAK 7-DNEVNE DIJETE S VELIKIM
UDJELOM KUHINJSKE SOLI NA O
DUŠIKOVOM-OKSIDU OVISNU
ENDOTELNU DILATACIJU
MIKROCIRKULACIJE KOŽE U
ZDRAVIH POJEDINACA

Diplomski rad

Osijek, 2022.

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

Leon Perić

UČINAK 7-DNEVNE DIJETE S VELIKIM
UDJELOM KUHINJSKE SOLI NA O
DUŠIKOVOM-OKSIDU OVISNU
ENDOTELNU DILATACIJU
MIKROCIRKULACIJE KOŽE U
ZDRAVIH POJEDINACA

Diplomski rad

Osijek, 2022.

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

Mentor rada: izv. prof. dr. sc. Ana Stupin, dr. med.

Rad ima 28 listova, 2 tablice i 3 slike.

ZAHVALE:

Zahvaljujem svojoj mentorici izv. prof. dr. sc. Ani Stupin, dr. med. za strpljenje, stručnost, dostupnost i za svu pomoć pruženu tijekom izrade ovog diplomskog rada.

Veliko hvala svim mojim prijateljima i kolegama na podršci, strpljenju i svim lijepim trenucima koje smo zajedno proživjeli tijekom posljednjih nekoliko godina.

Najveće hvala ide mojoj obitelji za svu potporu pruženu od najranijih školskih dana pa do kraja fakulteta, za sve savjete koje sam dobio i za upućivanje na pravi put od malih nogu!

SADRŽAJ

POPIS KRATICA.....	II
1. UVOD.....	1
1.1. Prekomjerni unos soli.....	1
1.2. Endotelna funkcija.....	2
1.3. Endotelna disfunkcija i utjecaj soli na endotel.....	3
1.4. Utjecaj soli na arterijski krvni tlak.....	5
1.5. Laser Doppler Flowmetry.....	6
2. HIPOTEZA.....	7
3. CILJEVI.....	8
4. ISPITANICI I METODE.....	9
4.1. Ustroj studije.....	9
4.2. Ispitanici.....	9
4.3. Metode.....	10
4.4. Statističke metode.....	11
5. REZULTATI.....	12
6. RASPRAVA.....	16
7. ZAKLJUČAK.....	19
8. SAŽETAK.....	20
9. SUMMARY.....	21
10. LITERATURA.....	22
11. ŽIVOTOPIS.....	27

POPIS KRATICA

20-HETE - 20-hidroksieikosatetraenoična kiselina

ADP – adenzin difosfat

BMI – indeks tjelesne mase (eng. *Body Mass Index*)

cAMP – ciklički adenzin monofosfat

COX-1 – enzim ciklooksigenaza-1

CYP450 – citokrom P450

DBP – dijastolički arterijski tlak (eng. *diastolic blood pressure*)

ED – endotelna disfunkcija

EDCF – endotelni čimbenici kontrakcije (eng. *endothelium-derived constricting factors*)

EDHF – endotelni hiperpolarizirajući čimbenik (eng. *endothelium-derived hyperpolarizing factor*)

EDRF – endotelni čimbenici relaksacije (eng. *endothelium-derived relaxing factors*)

EET – epoksieikosatrienoične kiseline

eNOS – endotelna sintaza dušikova oksida (eng. *endothelial nitric oxide synthase*)

ET-1 – endotelin

FMD – protokom posredovana dilatacija (eng. *flow mediated dilatation*)

H₂O₂ – vodikov peroksid

HO[•] – hidroksilni radikal

HS – visok udio kuhinjske soli (eng. *high salt*)

LDF – laser-Doppler flowmetry

L-NMMA – N-monometil-L-arginin

LS - nisko-slana dijeta (eng. *low-salt*)

LTH – lokalna toplinska hiperemija

MAP – srednji arterijski tlak (eng. *mean arterial pressure*)

NO – dušikov oksid (eng. *nitric oxide*)

O₂⁻ - superoksidni anion

ONOO⁻ – peroksinitrit

PGF₂α - prostaglandin F2 alfa

PGI₂ – prostaciklin

PORH – postokluzivna reaktivna hiperemija

RAAS – renin-angiotenzin-aldosteron sustav

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

SBP – sistolički arterijski tlak (eng. *systolic blood pressure*)

SNP – natrijev nitroprusid (eng. *sodium nitroprusside*)

SZO – Svjetska zdravstvena organizacije

TXA₂ – tromboksan

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

1. UVOD

1.1. Prekomjerni unos soli

Općepoznata je činjenica da je kuhinjska sol spoj nužan ljudskom organizmu za normalno funkcioniranje u točno određenim količinama te da se sol nalazi u velikom broju prehrambenih proizvoda u različitim količinama. Prema smjericama Svjetske zdravstvene organizacije (SZO) preporučeni dnevni unos natrija za odrasle osobe iznosi 2 g/dan, a ta količina odgovara 5 g soli dnevno (1). Međutim, prema rezultatima velikog broja provedenih istraživanja, smatra se da je u većini država svijeta dnevni unos kuhinjske soli prosječno 9 do 12 g dnevno (2, 3).

Kao posljedica brzorastućeg problema prekomjernog unosa soli, 2005. godine pokrenut je *World Action on Salt and Health (WASH)*, program s glavnim ciljem globalnog smanjenja prekomjernog unosa kuhinjske soli. WASH je nastao na temelju postojećeg programa pokrenutog 1996. godine u Ujedinjenom Kraljevstvu pod nazivom *Consensus Action on Salt and Health (CASH)*, a koji je već tada pokazivao značajne rezultate smanjenja prekomjernog unosa kuhinjske soli, a posljedično i smanjenje troškova liječenja bolesti povezanih s prekomjernim unosom soli (4, 5). Nedugo nakon pokretanja WASH programa, istraživanja provedena na području Republike Hrvatske pokazala su da je prosječan dnevni unos kuhinjske soli iznosio 11,6 grama pri čemu su muškarci u prosjeku unosili 13,3 grama soli dnevno, a žene 10,2 grama (6). Podatci vezani uz prosječni dnevni unos kuhinjske soli dobiveni su određivanjem koncentracije natrija u 24-satnoj mokraći što i danas predstavlja „zlatni standard”. Potaknuti rezultatima istraživanja i uspjesima CASH-a, u Republici Hrvatskoj 2007. godine predstavljena je inicijativa *Croatian Action on Salt and Health (CRASH)* te nacionalni program s ciljem smanjenja prekomjernog unosa kuhinjske soli. U rujnu 2014. godine, usvojen je Strateški plan za smanjenje prekomjernog unosa kuhinjske soli u Republici Hrvatskoj 2015.-2019. Glavni cilj strateškog plana bio je smanjiti prosječni dnevni unos kuhinjske soli s tadašnjih 11,6 g/dan na 9,3 g/dan u 2019. godini, odnosno smanjiti godišnji unos soli za 4%. Smatralo se da bi takav rezultat doveo do značajnog sniženja broja oboljenja od arterijske hipertenzije, ostalih kardiovaskularnih te cerebrovaskularnih bolesti (7).

1.2. Endotelna funkcija

Endotel, nekoć smatran jednostavnim jednoslojem epitelnih stanica koji predstavlja barijeru između stijenki krvnih žila i krvi, iznimno je važan organ koji posjeduje brojne funkcije. Najznačnije funkcije endotela predstavljaju inhibicija agregacije trombocita, sprječavanje abnormalne koagulacije te kontrola vaskularnog tonusa (8). Ključne vazoaktivne tvari koje endotel sintetizira, a kojima posreduje kontrolu vaskularnog tonusa su endotelni čimbenici relaksacije (eng. *endothelium-derived relaxing factors, EDRF*): dušikov oksid (NO), endotelni hiperpolarizirajući čimbenik (eng. *endothelium-derived hyperpolarizing factor, EDHF*) te prostaciklin (PGI₂), ali i endotelni čimbenici kontrakcije (eng. *endothelium-derived constricting factors, EDCF*) kojima pripadaju endotelin-1 (ET-1), tromboksan (TXA₂), metabolit CYP450 20-hidroksieikosatetraenoična kiselina (20-HETE) te prostaglandin F2 alfa (PGF2α) (9, 10, 11).

Najbolje opisan EDRF predstavlja NO, signalna molekula koja nastaje kao proizvod djelovanja endotelne sintaze dušikova oksida (eng. *endothelial nitric oxide synthase, eNOS*) uz L-citrulin iz aminokiseline L-arginina u odgovoru na djelovanje žilnog stresa (eng. *shear stress*) te kao posljedica djelovanja tvari poput acetilkolina, bradikinina, ADP-a, trombina itd. (10, 12). NO ima značajan učinak na makrocirkulaciju te mikrocirkulaciju inhibirajući agregaciju trombocita, ograničavajući vazokonstrikciju, poticanje vazodilatacije, ograničavajući remodeliranje vaskularnog glatkog mišićja te poticanje angiogeneze (13, 14). Brojna istraživanja koja su izvodila ultrazvučni test protokom posredovane dilatacije perifernih arterija (eng. *Flow Mediated Dilatation, FMD*) potvrđuju ključnu ulogu NO na vazodilataciju u makrocirkulaciji, a koja nastaje kao posljedica povećanog žilnog stresa (15, 16). Jednako tako, istraživanja provedena na razini mikrocirkulacije kože ventralne strane podlaktice pomoću metode LDF (eng. *laser-Doppler flowmetry*) u kombinaciji s lokalnim zagrijavanjem kože potvrđuju neposrednu ulogu NO na vazodilataciju mikrocirkulacije kože (17). PGI₂ drugi je važan EDRF koji nastaje iz arahidonske kiseline prvenstveno kao produkt djelovanja enzima ciklooksigenaza-1 (COX-1) dok novija istraživanja pokazuju kako enzim ciklooksigenaza-2 (COX-2) nema značajniju ulogu u proizvodnji PGI₂ in vivo. U odnosu na NO, nije značajan za održavanje bazalnog vaskularnog tonusa arterija, a otpušta se na poticaj različitih agonista. Značajnu ulogu ima i kao inhibitor djelovanja trombocita povišenjem unutarstaničnih razina cikličkog adenzin monofosfata (cAMP) (18, 19, 20). Posljednji važan EDRF koji također ima značajnu ulogu u vazodilataciji i to ponajprije vazodilataciji

otporničkih arteriola te kapilara je EDHF. Najznačajnije molekule i posrednici koji djeluju kao EDHF u različitim tkivima su kalijevi ioni (K^+), metaboliti CPY450 poput epoksieikosatrienoične kiseline (EETs), produkti lipooksigenaze, vodikov peroksid (H_2O_2), cAMP (10) itd. Regulacija vaskularne reaktivnosti posredovana EDHF-om definirana je kao o endotelu ovisan odgovor, a brojne humane studije, ali i studije na štakorima pokazuju da je učinak EDHF-a najizraženiji u stanjima u kojima je inhibirano djelovanje NO-a i PGI_2 (21, 22, 23, 24).

S druge strane, endotelne stanice proizvode i spojeve EDCF koji imaju vazokonstriksijsko djelovanje, a od kojih su za kontrolu vaskularnog tonusa najvažniji ET-1 i TXA_2 . ET-1 je signalna molekula koja se sintetizira de novo u odgovoru na djelovanje angiotenzina II, trombina, proupalnih citokina, adrenalina, ali i žilnog stresa te hipoksije (25). Humane studije pokazuju kako ET-1 ima učinak na povišenje krvnog tlaka dok istovremeno blago smanjuje broj srčanih otkucaja, a ima i mitogeni učinak na glatke mišićne stanice te posljedično sudjeluje u remodeliranju vaskularnog zida i endotelnoj disfunkciji (26, 27). TXA_2 drugi je važan EDCF koji nastaje iz arahidonske kiseline djelovanjem enzima COX-1 i tromboksan sintaze koji se nalaze u trombocitima. U stanjima poremećene homeostaze kao posljedica povećane razine TXA_2 , dolazi do vazokonstrikcije te povećane agregacije trombocita (28, 29). Potrebna je ravnoteža svih navedenih vazoaktivnih tvari i signalnih molekula kako bi vaskularna homeostaza bila održana.

1.3. Endotelna disfunkcija i utjecaj soli na endotel

Endotelna disfunkcija (ED) općeprihvaćeni je termin koji podrazumijeva stanje narušene funkcije endotela. U normalnom fiziološkom stanju, endotelne stanice imaju ateroprotektivno djelovanje koje uključuje sposobnost vazodilatacije, inhibiciju adhezije leukocita, inhibiciju proliferacije glatkih mišićnih stanica, protuupalni, antikoagulantni i antiagregacijski učinak. S druge strane, stanje ED karakterizirano je proupalnim, vazokonstriksijskim i protrombotskim djelovanjem endotela što ima jasan utjecaj na nastanak ateroskleroze i posljedično nastanak mnogih kardiovaskularnih bolesti (30, 31, 32). Brojna humana i animalna istraživanja pokazuju da je glavni patofiziološki mehanizam nastanka ED neadekvatna bioraspodjelivost NO-a, poremećeni odgovor glatkih mišićnih stanica na spojeve s vazodilatacijskim učinkom, povećana endotelna proizvodnja vazokonstriksijskih spojeva, ali i povećana osjetljivost endotelnih stanica na vazokonstriktore (33, 30, 34).

Nedavna istraživanja pokazuju kako dijeta s velikim udjelom kuhinjske soli (HS) predstavlja jedan od glavnih čimbenika rizika za nastanak endotelne disfunkcije koja se nalazi u podlozi brojnih kardiovaskularnih i cerebrovaskularnih bolesti. Nedavno provedena istraživanja došla su do rezultata koji dokazuju štetan učinak povećanog unosa natrija hranom na funkciju endotela, neovisno o promjenama krvnog tlaka (35). Randomizirana dvostruko-slijepa presječna studija iz 2008. koja je uključivala 16 zdravih i normotenzivnih muškaraca pokazala je značajan porast sistoličkog krvnog tlaka sa 117 ± 11 do 121 ± 8 mmHg. Također je utvrđeno da je o endotelu ovisan odgovor na acetilkolin bio značajno oslabljen nakon 5 dana povećanog unosa kuhinjske soli u odnosu na unos placeba. Nasuprot tome, o endotelu neovisan odgovor na natrijev nitroprusid (SNP) nije se razlikovao u te dvije skupine ispitanika (36). Istraživanje provedeno 2012. godine u 12 mladih, zdravih, normotenzivnih osoba pokazalo je da unos hrane s visokim udjelom Na^+ tijekom 7 dana nije imalo značajan učinak na krvni tlak, ali da dolazi do smanjenog dilatacijskog odgovora na lokalizirano zagrijavanje selektivnim gubitkom NO-ovisne komponente (37).

Dosadašnja istraživanja govore u prilog teoriji da povećana proizvodnja slobodnih radikala kisika (ROS) ima glavnu ulogu u nastanku endotelne disfunkcije (33). Endotelne stanice proizvode brojne ROS koji uključuju superoksidni anion (O_2^-) za koji se smatra da ima najznačajniji učinak, vodikov peroksid (H_2O_2), peroksinitrit (ONOO^-), hidroksilni radikal (HO^\cdot), dušikov oksid (NO) i brojne druge (33, 38). Animalne studije na štakorima koji su bili hranjeni HS obrocima pokazale su povećanu aktivnost NADPH oksidaze i ksantin oksidaze koje sudjeluju u nastanku ROS, a danas je poznato da povećana aktivnost tih enzima ima i utjecaj na povećani nastanak ROS u ljudi (30, 39). Kao što je već ranije spomenuto, ED je povezana sa smanjenom sposobnosti proizvodnje NO-a ili smanjenom biodostupnosti istoga. Smanjenje proizvodnje NO-a može se pripisati nesparenoj eNOS. NO reagira s O_2^- pri čemu dolazi do nastanka ONOO^- . Novonastali O_2^- i ONOO^- tada mogu reagirati s kofaktorom eNOS-a tetrahidrobiopterinom što dovodi do rasparivanja eNOS i pojačanog nastanka O_2^- umjesto NO (33, 40). Najnovija istraživanja pokazuju obećavajuće rezultate pri kojima dolazi do povratka normalnog odgovora mikrocirkulacije kože na primjenu acetilkolina iontoforezom, primjenom oralne suplementacije vitamina C i E tijekom HS dijete (41).

1.4. Utjecaj soli na arterijski krvni tlak

Iako je riječ o temi koja izaziva brojne rasprave u znanstvenim krugovima, HS dijeta danas se smatra čimbenikom rizika za brojne kardiovaskularne bolesti, oštećenja mnogih organa, ali i čimbenikom rizika za nastanak hipertenzije (42). Brojne humane studije pokazuju značajno smanjenje vrijednosti kako sistoličkog tako i dijastoličkog arterijskog krvnog tlaka smanjenjem prekomjernog unosa kuhinjske soli s postojanjem povezanosti između smanjenja unosa kuhinjske soli i smanjenja krvnog tlaka. Smanjenje unosa soli od samo 3 g dnevno dovodi do pada krvnog tlaka za 3,6-5,6/1,9-3,2 mmHg kod pacijenata s hipertenzijom odnosno pada krvnog tlaka za 1,8-3,5/0,8-1,8 mmHg kod normotenzivnih pacijenata. Smanjenje unosa soli od 6 grama dnevno ili više dovodi do još značajnijeg pada vrijednosti arterijskog krvnog tlaka s naglaskom da je utjecaj smanjenog unosa kuhinjske soli na krvni tlak još izraženiji kod pacijenata s rezistentnom hipertenzijom (43).

Dosadašnja istraživanja također su omogućila podjelu pacijenata na pojedince koji su „osjetljivi na sol“ (eng. *salt-sensitive*) odnosno na pojedince koji su „neosjetljivi na sol“ (eng. *salt-resistant*) (2, 11). Prva istraživanja učinka HS dijete na povišenje krvnog tlaka išla su u korist teorije da povišeni unos kuhinjske soli uzrokuje povišenje izvanstanične koncentracije natrija što dovodi do pojačane žeđi i povećanja volumena plazme. Posljedično tome, dolazi do povišenja srčanog minutnog volumena u odnosu na tjelesnu površinu i povišenja ukupnog perifernog otpora. Međutim, novija istraživanja pokazuju da se povećanje srčanog minutnog volumena u odnosu na tjelesnu površinu događa u početku HS dijete, ali da se u većini slučajeva vrijednost vraćala na normalnu razinu dok ukupni periferni otpor uglavnom ostaje trajno povećan (44, 45). Humane, ali i animalne studije pokazuju da je HS dijeta povezana s povećanim nastankom ROS, a i mogućim izravnim učinkom povišene koncentracije natrija na endotel što dovodi do pojačane vazokonstrukcije periferne cirkulacije (46). Humane studije pokazuju dodatne patofiziološke mehanizme u podlozi hipertenzije pojedinaca osjetljivih na sol, a uključuju poremećenu reakciju bubrega na povećani unos kuhinjske soli kao posljedica prekomjerne reaktivnosti simpatičkog živčanog sustava i smanjene supresije renin-angiotenzin-aldosteron sustava (RAAS) (2, 11, 45, 47).

1.5. Laser Doppler Flowmetry

Mjerenje protoka laser Dopplerom (eng. *Laser Doppler Flowmetry, LDF*) predstavlja najčešće korištenu metodu u procjeni endotelne funkcije u mikrocirkulaciji. Zbog lake dostupnosti, koža predstavlja prikladno mjesto za ispitivanje funkcije periferne mikrocirkulacije u zdravlju i stanjima različitih bolesti. Pristupačnost primjene LDF-a na koži značajna je i jer mikrocirkulacija kože indirektno predstavlja funkcioniranje sistemske mikrocirkulacije. Moderni LDF-ovi imaju sposobnost procijeniti protok eritrocita u mikrocirkulaciji na samoj površini kože na volumenu od 1 mm³ s visokom frekvencijom uzorkovanja koristeći Dopplerov efekt. U današnje vrijeme, LDF se kombinira s različitim tehnikama poput postokluzivne reaktivne hiperemije (PORH), iontoforezom acetilkolina i natrijeva nitroprusida, lokalnom toplinskom hiperemijom (LTH) te lokalnim hlađenjem kako bi se bolje proučila funkcija mikrocirkulacije ovisno o podražaju kojem je koža izložena. Dobar primjer je kombinacija LDF-a s tehnikom LTH gdje je LTH u zdravih ispitanika karakteriziran inicijalnim povećanjem lokalnog protoka, tzv. "initial peak" koji se događa unutar prvih 5 minuta zagrijavanja, a koji je uglavnom posredovan senzornim živcima. Iza inicijalnog povećanja, ponovno uslijedi značajan pad protoka s održivim platoom nakon kojeg slijedi kasno povećanje protoka, tzv. "late peak", a koji je uglavnom ovisan o NO-u i pojavi se oko 30-45 min od početka lokalnog zagrijavanja (48, 49, 50).

2. HIPOTEZA

Sedmodnevna dijeta s velikim udjelom kuhinjske soli uzrokovat će oštećenje mikrovaskularne reaktivnosti ovisne o endotelu koja je posredovana NO u zdravih pojedinaca.

3. CILJ

Cilj ovog istraživanja je funkcionalno ispitati učinak 7-dnevne dijeta s velikim udjelom kuhinjske soli na direktno o NO-u ovisnu endotelnu dilataciju mikrocirkulacije kože u zdravih pojedinaca.

4. ISPITANICI I METODE

4.1. Ustroj studije

Ova studija ustrojena je kao nerandomizirani kontrolirani klinički pokus s više ponavljanih mjerenja u kojem su svi ispitanici bili podvrgnuti istom protokolu i sami sebi bili kontrola.

4.2. Ispitanici

U ovom istraživanju sudjelovalo je 30 mladih, zdravih ispitanika oba spola (15 žena i 15 muškaraca) u dobi od 18 do 30 godina života, regrutiranih oglasom na Medicinskom fakultetu Osijek. Isključni kriteriji za ulazak u studiju bili su: koronarna bolest srca, hipertenzija ili hipotenzija, hiperlipidemija, šećerna bolest, cerebrovaskularne bolesti, bolesti perifernih krvnih žila te bubrežno oštećenje. Također, isključni kriterij za ulazak u studiju bila je pretilost (indeks tjelesne mase $> 30 \text{ kg/m}^2$) te uzimanje lijekova koji mogu imati utjecaj na endotelnu funkciju. Žene uključene u istraživanje bile su u različitim fazama menstrualnog ciklusa (randomizirano) kako bi se eliminirao utjecaj spolnih hormona na endotelnu funkciju. Prije ulaska u istraživanje ispitanici su individualno obaviješteni o protokolu i procedurama obuhvaćenim ovim istraživanjem te je svaki ispitanik potpisao informativni pristanak prije ulaska u protokol istraživanja. Ovo je istraživanje odobrilo Etičko povjerenstvo Medicinskog fakulteta Osijek (Klasa: 602-04/22-08/02, Broj: 2158-61-46-22).

Protokol studije trajao je 14 dana tijekom kojih su ispitanici dva puta posjetili Laboratorij za kliničku fiziologiju i fiziologiju sporta Medicinskog fakulteta Osijek. Prvi posjet ispitanika bio je 7 dana nakon početka dijete s malim udjelom kuhinjske soli (LS) dok je drugi posjet ispitanika uslijedio 7 dana nakon početka HS dijete. Prvih 7 dana studije, ispitanici su bili podvrgnuti LS dijeti prilikom čega su ispitanici unosili 3,5 grama soli dnevno prema DASH (eng. *Dietary Approaches to Stop Hypertension*) planu prehrane koji je dan ispitanicima (51). Prvih 7 dana studije i LS dijete smatra se tzv. periodom "ispiranja" nakon koje je slijedila HS dijeta koja podrazumijeva unos 3,5 g soli dnevno prema DASH-u i dodatnih 11,7 g soli dnevno u obliku praha pri čemu je ukupni unos soli bio oko 14 grama dnevno.

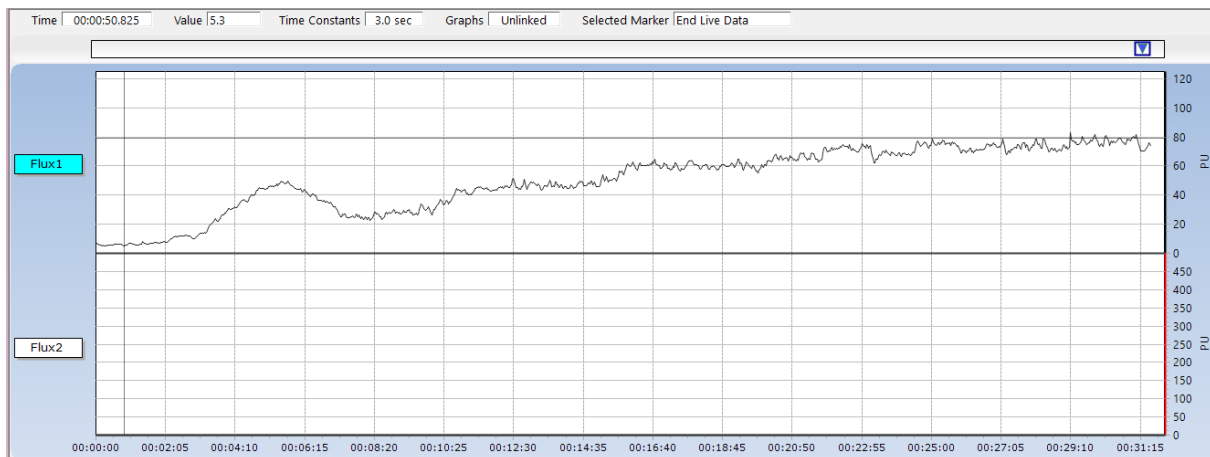
4.3. Metode

Prilikom svakog studijskog posjeta Laboratoriju za kliničku fiziologiju i fiziologiju sporta ispitanicima je izmjeren indeks tjelesne mase (BMI, eng. *body mass index*), omjer struk-bokovi (WHR, eng. *waist-to-hip ratio*), arterijski tlak i puls te je uzet uzorak prikupljenog 24-satnog urina zbog provjere kontrole pridržavanja zadanog dijetnog protokola. Arterijski krvni tlak mjereno je na početku svakog posjeta nakon 15 minuta provedenih u sjedećem položaju. Za mjerenje arterijskog tlaka korišten je automatski oscilometar (OMRON, Osaka, Japan). Konačne vrijednosti krvnog tlaka označile su se kao srednja vrijednost tri ponovljena mjerenja dok se srednji arterijski tlak (MAP, eng. *mean arterial pressure*) računao koristeći formule sistoličkog (SBP, eng. *systolic blood pressure*) i dijastoličkog krvnog tlaka (DBP, eng. *diastolic blood pressure*): $MAP = [SBP + 2 * (DBP)] / 3$.

U uzorcima 24-satnog urina izmjeren je njegov ukupni volumen, koeficijent kreatinina, koncentracija ureje, natrija i kalija. Iz vrijednosti 24-satne natrijureze odgovarajućom formulom izračunat je dnevni unos kuhinjske soli u gramima [1-g kuhinjske soli (NaCl) = 393.4 mg Na = 17.1 mmol Na]. Analiza 24-satnog urina učinjena je u Zavodu za kliničku laboratorijsku dijagnostiku Kliničkoga bolničkog centra Osijek.

U ovom istraživanju svim se ispitanicima prije i poslije HS dijete ispitala mikrovaskularna reaktivnost mjerenjem protoka LDF-om u odgovoru na lokalno zagrijavanje kože. LDF je tehnika u kojoj se sonda uređaja stavlja na kožu i koristi se za bilježenje brzina i koncentracija pokretnih krvnih stanica u malom volumenu od 1 mm³ ili manje, ovisno o valnoj duljini (moorVMS-LDF, Moor instruments, Aminster, UK). Prikupljanje podataka započeto je 15 minuta nakon aklimatizacije ispitanika kako bi se izbjegle promjene protoka povezane s temperaturom okoline. Ispitanicima je izvršeno mjerenje u ležećem položaju pri kojem im se na području volarne podlaktice stavljala posebna LDF sonda s inkludiranim grijačem, i to na mjesto gdje je bazni protok krvi između 5 i 10 perfuzijskih jedinica. Tijekom istraživanja korišten je podražaj lokalne toplinske hiperemije (LTH) koji dovodi do povećanja kožnog protoka krvi ovisno o temperaturi. Maksimalna toplinska vazodilatacija koja odgovara maksimalnom vazodilatatornom kapacitetu krvnih žila postiže se lokalnim zagrijavanjem kože na temperaturu 42 °C. Bazalni protok krvi je mjereno tijekom 5 minuta, a zatim se pripadajućim uređajem i sondom (moorVMS-HEAT, Moor instrumenti, Aminster, UK) potaknulo lokalno zagrijavanje kože na 42 °C i protok je kontinuirano mjereno dok nije postignut stabilan plato maksimalne toplinske vazodilatacije (30-45 minuta nakon početka zagrijavanja). Mikrocirkulacijski protok krvi izražen je proizvoljnim perfuzijskim jedinicama

(PU), te je pomoću pripadajućeg programa (moorVMS-PC Software, Moor instruments, Aminster, UK) bila izmjerena površine ispod krivulje (AUC) tijekom bazalnog protoka i stabilnog platoa zagrijavanja. Konačan rezultat bila je veličina povećanja protoka tijekom zagrijavanja u usporedbi s bazalnim mikrovaskularnim protokom.



Slika 1. Prikaz originalnog zapisa mjerenja protoka laser Dopplerom (eng. *laser Doppler flowmetry*) u mikrocirkulaciji kože u odgovoru na lokalno zagrijavanjem (LTH, eng. *local thermal hyperemia*).

4.4. Statističke metode

Rezultati su opisani aritmetičkom sredinom i standardnom devijacijom u slučaju normalne raspodjele, a u ostalim slučajevima medijanom i granicama raspona (min – max). Normalnost raspodjele numeričkih varijabli određena je Kolmogorov-Smirnovim testom normalnosti. Razlike normalno raspodijeljenih varijabli između mjerenja prije i poslije HS djeteta (LS vs. HS mjerenje) testirane su t-testom za zavisne uzorke (paired t-test), a u slučaju odstupanja od normalne raspodjele Wilcoxonovim testom sume rangova. Dvostrani $P \leq 0,05$ smatran je statistički značajnim. Za statističku analizu korišten je statistički program SigmaPlot (verzija 11.2, SYSTAT Software, Chicago, SAD).

5. REZULTATI

U Tablici 1. prikazane su kliničke karakteristike trideset zdravih mladih ispitanika koji su bili uključeni u studiju, prije (LS dijeta) i nakon (HS dijeta) konzumacije dijete s velikim udjelom kuhinjske soli. Ukupno je sudjelovalo 30 ispitanika (15 muškaraca i 15 žena) prosječne životne dobi 20 godina (raspon od 19-24 godine). Indeks tjelesne mase nakon visokoslane dijete statistički značajno je porastao, iako je bio unutar referentnih vrijednosti BMI-a za normalnu tjelesnu težinu (BMI 20,0 – 24,99 kg/m²). Vrijednosti drugih mjerenih obilježja nisu bile značajno promijenjene sa HS dijetom, osim broja otkucaja srca u minuti koji su bili značajno niži nakon visokoslane dijete u usporedbi s vrijednostima prije iste (LS dijeta).

Tablica 1. Klinička obilježja ispitanika

Obilježje* (mjerna jedinica)	Aritmetička sredina (standardna devijacija)		
	LS dijeta	HS dijeta	P vrijednost
Broj ispitanika (žene / muškarci)	30 (15/15)		
Dob (godine)	20 (5)		
BMI (kg/m ²)	23,8 (10,9)	24,0 (11,2)	0,003
WHR	0,79 (0,07)	0,79 (0,07)	1,000
Sistolički arterijski tlak (mmHg)	116 (11)	115 (14)	0,654
Dijastolički arterijski tlak (mmHg)	73 (7)	71 (11)	0,140
Srednji arterijski tlak (mmHg)	87 (7)	86 (10)	0,214
Puls (otkucaja u min)	84 (15)	78 (13)	0,021

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

* BMI – indeks tjelesne mase; WHR – omjer struk-bokovi

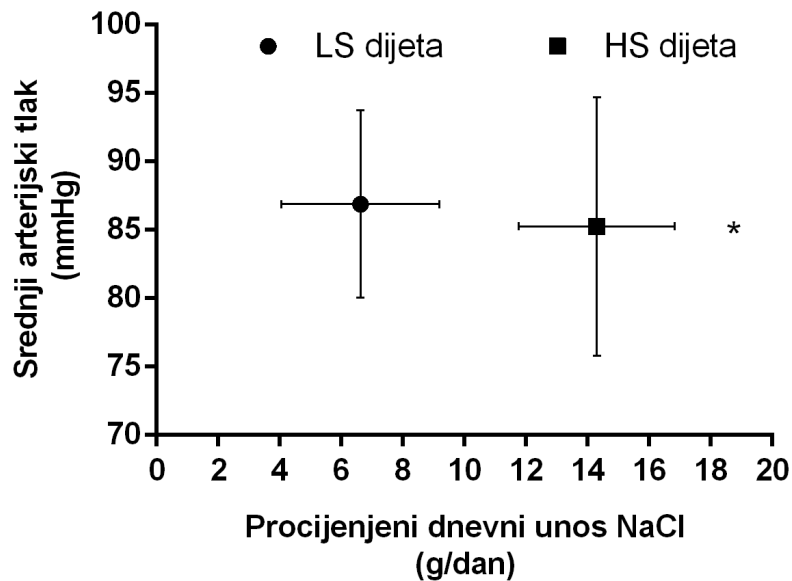
Vrijednosti biokemijskih obilježja mjerenih u uzorku 24-satnog urina prije i poslije HS dijete prikazane su u Tablici 2. Vrijednost natrija u uzorku 24-satnog urina očekivano je bila statistički značajno povećana, kao i izračunat dnevni unos NaCl-a, nakon 7 dana dijete s velikim udjelom kuhinjske soli, što potvrđuje da su se ispitanici pridržavali dijetnog protokola. Vrijednosti ostalih biokemijskih obilježja mjerenih u uzorku 24-satnog urina nisu bile statistički značajno promijenjene nakon visokoslane dijete.

Tablica 2. Biokemijska obilježja u uzorku 24-satnog urina

Obilježje (mjerna jedinica)	Aritmetička sredina (standardna devijacija)		
	LS dijeta	HS dijeta	P vrijednost
Volumen 24h urina (mL)	1755 (690)	1779 (798)	0,842
Koeficijent kreatinina ($\mu\text{mol}/24\text{h}/\text{kg}$)	181,1 (41,8)	182,7 (51,9)	0,692
Urea (mmol/dU)	324,1 (95,4)	378,9 (140,6)	0,055
Na (mmol/dU)	113,5 (44,0)	244,0 (43,4)	<0,001
K (mmol/dU)	47,0 (18,9)	61,3 (23,5)	0,073
Procijenjeni dnevni unos NaCl (g/dan)	6,6 (2,6)	14,3 (2,5)	<0,001

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

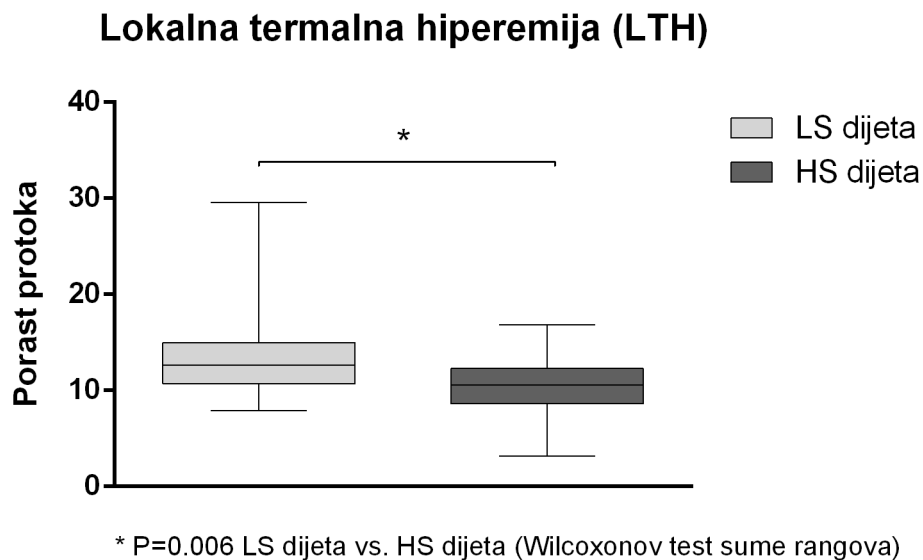
Slika 2. prikazuje odnos promjene srednjeg arterijskog tlaka uslijed promjene dnevnog unosa kuhinjske soli u organizam u zdravih mladih ispitanika. Iz slike je vidljivo da značajan porast dnevnog unosa kuhinjske soli u zdravih mladih ispitanika nije praćen značajnom promjenom srednjeg arterijskog tlaka, što ukazuje da su se sve zabilježene promjene nakon HS dijeta dogodile neovisno o promjeni arterijskog tlaka.



* $P < 0,001$ LS dijeta vs. HS dijeta - procijenjeni dnevni unos soli

Slika 2. Odnos procijenjenog dnevnog unosa kuhinjske soli i srednjeg arterijskog tlaka. Unatoč značajnom povećanju dnevnog unosa soli u organizam tijekom 7-dnevne HS dijeta, nije došlo do promjene srednjeg arterijskog tlaka, što potvrđuje da su ispitanici bili „neosjetljivi na sol“, odnosno da su se promjene nakon HS dijeta dogodilo neovisno o promjeni arterijskog tlaka. Rezultati su izraženi aritmetičkom sredinom i standardnom devijacijom (SD).

Slika 3. prikazuje porast protoka u mikrocirkulaciji kože u odgovoru na lokalno zagrijavanje (LTH) prije (LS dijeta) i poslije 7-dnevne dijete s velikim udjelom kuhinjske soli (HS dijeta). LTH odgovor mikrocirkulacije kože statistički je značajno bio smanjen nakon 7-dnevne HS dijete u usporedbi s mjerenjem prije navedenog dijetnog protokola.



Slika 3. Porast protoka u mikrocirkulaciji kože u odgovoru na lokalno zagrijavanje (LTH) prije (LS dijeta) i poslije 7-dnevne dijete s velikim udjelom kuhinjske soli (HS dijeta). Porast protoka = LTH protok / bazalni protok. Rezultati su izraženi medijanom i granicama raspona (min – max).

6. RASPRAVA

Prehrana koja uključuje veliki udio kuhinjske soli danas je općeprihvaćen globalni javnozdravstveni problem koji je praćen brojnim zdravstvenim posljedicama, prvenstveno bolestima krvožilnog sustava (5, 52).

Ova studija prvenstveno se usredotočila na ispitivanje utjecaja sedmodnevnog unosa dijete s velikim udjelom kuhinjske soli na o dušikovom-oksidu ovisnu endotelnu dilataciju mikrocirkulacije kože u zdravih mladih ispitanika. Najznačajniji rezultat proizašao iz ovog istraživanja je da je porast protoka u mikrocirkulaciji kože u odgovoru na lokalno zagrijavanje značajno smanjen nakon HS dijete u odnosu na porast protoka nakon LS dijete. U isto vrijeme srednji arterijski tlak nije statistički značajno promijenjen što upućuje da su promjene u mikrocirkulaciji kože nastale neovisno o promjeni arterijskog tlaka.

Brojne su humane i animalne studije istraživale učinak povećanog unosa kuhinjske soli prehranom na endotelnu funkciju. Općeprihvaćena je hipoteza kako u velikom dijelu populacije povećani unos kuhinjske soli dovodi do nastanka hipertenzije i kako hipertenzija ima negativan učinak na endotel krvnih žila te na nastanak endotelne disfunkcije, ali istovremeno i endotelna disfunkcija sudjeluje u nastanku hipertenzije (30, 44, 53). Iz tog razloga bilo je potrebno utvrditi djeluje li povećani unos soli na endotel jedino uzrokujući hipertenziju zbog čega posljedično dolazi do oštećenja endotela ili povišeni unos soli ima direktan učinak na vaskularni endotel. Istraživanje Greaneyja i suradnika obuhvatilo je 12 zdravih, normotenzivnih ispitanika u dobi od 22 do 46 godina koji nisu bili pretili niti su bili korisnici duhanskih proizvoda. Ovo istraživanje stavilo je u fokus primarno utjecaj povećanog unosa soli na endotelnu funkciju uzimajući u obzir činjenicu da su vrijednosti arterijskog tlaka u svih 12 ispitanika nakon 7 dana HS dijete ostale gotovo nepromijenjene. Rezultati ove studije pokazali su smanjen vazodilatacijski odgovor kožnih arteriola na lokalizirano zagrijavanje kroz selektivni gubitak komponente vazodilatacije ovisne o NO. Ovi podaci ukazuju na to da povećani unos natrija u prehrani smanjuje mikrovaskularnu funkciju kože neovisno o krvnom tlaku što se podudara s rezultatima dobivenim u istraživanju za ovaj diplomski rad (37). Barić i suradnici također su došli do ovakvih rezultata 2019. godine. Njihova studija pokazala je kako je vazodilatacija inducirana acetilkolinom značajno smanjena nakon 7 dana HS dijete dok je vazodilatacija inducirana natrijevim nitroprusidom ostala nepromijenjena neovisno o promjeni arterijskog krvnog tlaka. Takvi rezultati još jednom upućuju da sedmodnevna HS dijeta negativno djeluje na mikrovaskularnu reaktivnost

narušavajući o endotelu ovisnu vazodilataciju mikrocirkulacije kože u zdravih, mladih pojedinaca (54).

Osim utjecaja HS dijete na funkciju endotela mikrocirkulacije kože, opravdane su i sumnje da HS dijete negativno djeluje i na endotelnu funkciju u makrocirkulaciji. Dupont i suradnici objavili su 2013. godine istraživanje u kojemu je ispitivan učinak HS dijete na endotel brahijalne arterije. Istraživanje je provedeno na 14 zdravih, normotenzivnih ispitanika, a promjene u makrocirkulaciji brahijalne arterije praćene su tehnikom FMD. Rezultati su pokazali da je HS dijete statistički značajno umanjila vazodilataciju ovisnu o endotelu dok nije bilo promjene kod dilatacije neovisne o endotelu koja je kod ispitanika bila potaknuta korištenjem sublingvalnog nitroglicerina (55). Do sličnih su rezultata došli i Čavka i suradnici u istraživanju objavljenom 2016. godine. Njihovo je istraživanje pokazalo da HS dijete tijekom 7 dana uzrokuje smanjenje FMD-a brahijalne arterije u odsutnosti promjena krvnog tlaka kod zdravih neaktivnih žena. Značajan je i podatak da učinak HS dijete na brahijalni FMD nije poništen akutnom vježbom (56).

Razmjerno velik broj studija usmjerio je pozornost na rješavanje pitanja postoji li razlika u endotelnom odgovoru na HS dijetu u muškaraca i žena. Eisenach i suradnici proveli su istraživanje na mladim, normotenzivnim muškarcima i ženama pri čemu su ispitanici prošli 5 dana LS dijete nakon koje je slijedilo 5 dana HS dijete. Nakon eNOS inhibicije N(G)-monometil-L-argininom (L-NMMA), na veličinu vazodilatacijskog odgovora na acetilkolin značajno je utjecala prehrana kod muškaraca, ali ne i kod žena. HS dijete umanjila je sposobnost L-NMMA da umani vazodilatacijski odgovor na acetilkolin u odnosu na LS dijetu što upućuje na to da je NO komponenta vazodilatacije potaknute acetilkolinom oslabljena nakon HS dijete u muškaraca. Ovi rezultati upućuju na zaključak da je endotelna proizvodnja NO osjetljiva na povećani unos natrija kod zdravih mladih muškaraca, ali ne i kod žena (57). Do takvih podataka došli su i Lennon-Edwards i suradnici na skupini od 30 ispitanika koje su činili 14 žena i 16 muškaraca. O endotelu ovisna vazodilatacija procijenjena je pomoću tehnike FMD proučavajući brahijalnu arteriju. FMD se nije razlikovao u muškaraca i žena nakon LS dijete dok je nakon HS dijete očekivano došlo do pada pri čemu je FMD bio značajno manji kod muškaraca nego kod žena što potvrđuje hipotezu da je o endotelu ovisna vazodilatacija osjetljivija na HS dijetu kod muškaraca nego kod žena (58). Unatoč rezultatima prethodno spomenutih istraživanja, nedovoljno je humanih studija koje su se bavili pitanjem postoji li razlika u mikrovaskularnoj reaktivnosti između muškaraca i žena ne primjenjujući protokole LS i HS dijete. Jedno od takvih istraživanja proveli su Stupin i suradnici 2019. godine. U tom istraživanju rađenom na 203 mladih i zdravih ispitanika

rezultati su pokazali da žene imaju značajno višu kožnu mikrovaskularnu reaktivnost nakon 1, 2 odnosno 3 minute vaskularne okluzije u odnosu na muškarce što je proučavano LDF-om. S druge strane, rezultati upućuju na pretpostavku da povišeni SBP i povišeni WHR predstavljaju veći rizik za zdrave, mlade žene negativnim utjecajem na perifernu mikrovaskularnu funkciju dok kod muškaraca ova povezanost nije potvrđena (59).

U posljednjih nekoliko godina istražuju se i različiti dijetetski pristupi koji bi mogli poništiti negativan učinak HS dijetete na mikrovaskularnu funkciju. Jedna od takvih studija imala je u cilju ispitati učinak istovremene suplementacije vitaminima C i E za vrijeme konzumacije HS dijetete tijekom 7 dana. U skupini ispitanika koji su konzumirali HS dijetetu, očekivano je došlo do smanjenja PORH i vazodilatacije inducirane acetilkolinom. S druge strane, istovremena suplementacija vitaminima C i E, za koje je poznato da posjeduju antioksidativan učinak, za vrijeme HS dijetete prevenirala je smanjenje PORH i dilatacije uzrokovane acetilkolinom te su dobiveni rezultati bili slični rezultatima skupine ispitanika koji su konzumirali LS dijetetu. SNP-posredovana vazodilatacija bila je slična u sve tri skupine ispitanika. Ova je studija u konačnici istaknula značajnu ulogu oksidativne neravnoteže u oštećenju mikrovaskularne funkcije uzrokovane sedmodnevnom HS dijetom neovisno o arterijskom krvnom tlaku. Osim toga, ova studija otvara pitanje bi li dugoročna suplementacija vitaminima C i E pozitivno djelovala na sprječavanje oštećenja mikrovaskularne funkcije koje nastaje kao posljedica povećanog unosa kuhinjske soli (41).

Rezultati ove provedene studije ukazuju na nedvojbeno negativan utjecaj sedmodnevne HS dijetete na o NO ovisnu endotelnu dilataciju u mikrocirkulaciji kože u zdravih, mladih ispitanika obaju spolova neovisno o promjeni krvnog tlaka. Dobiveni rezultati govore u prilog tvrdnji da HS dijeta predstavlja čimbenik rizika za mnoga patološka stanja i bolesti uzevši u obzir da svojom ulogom na endotelnu disfunkciju posreduje nastanku hipertenzije, brojnih kardiovaskularnih te cerebrovaskularnih bolesti. Relativno mali broj studija koje su proučavale postojanje o spolu ovisnih razlika u patofiziologiji nastanka poremećaja mikrovaskularne reaktivnosti ostavljaju otvorenu mogućnost ispitivanja ovog problema. U konačnici, ovi nalazi još jednom potvrđuju važnost pridržavanja smjernica vezanih uz dnevnu količinu konzumirane kuhinjske soli od strane SZO, ne samo u osoba koje već boluju od hipertenzije i drugih krvožilnih bolesti već i u zdravih mladih pojedinaca u kojih je potrebno prevenirati nastanak arterijske hipertenzije i ostalih kardiovaskularnih bolesti.

7. ZAKLJUČAK

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

- Sedmodnevna dijeta s velikim udjelom kuhinjske soli dovodi do poremećene o dušikovom oksidu ovisne endotelne vazodilatacije u odgovoru na lokalno zagrijavanje u mikrocirkulaciji kože zdravih, mladih, normotenzivnih ispitanika.
- S obzirom da nije došlo do promjena arterijskog krvnog tlaka s povećanim unosom soli, može se zaključiti da je endotelna disfunkcija neovisna o krvnom tlaku i izravno je povezana sa samom soli kao čimbenikom rizika za endotelnu disfunkciju.

8. SAŽETAK

CILJ ISTRAŽIVANJA: Cilj istraživanja bio je funkcionalno ispitati učinak 7-dnevne dijeta s velikim udjelom kuhinjske soli na direktno o NO-u ovisnu endotelnu dilataciju mikrocirkulacije kože u zdravih pojedinaca.

NACRT STUDIJE: Nerandomizirani kontrolirani klinički pokus.

ISPITANICI I METODE: Studija je obuhvatila 30 mladih, zdravih ispitanika oba spola od čega 15 muškaraca i 15 žena. Ispitanici su podvrgnuti specifičnom dijetnom protokolu od čega su bili 7 dana podvrgnuti niskoslanjoj dijeti (~3,5 g soli/dan), a zatim 7 dana visokoslanjoj dijeti (~14 g soli/dan). Svim ispitanicima izmjeren je BMI, WHR, arterijski tlak, puls te im je analiziran uzorak prikupljenog 24-satnog urina prije i poslije dijetnog protokola. Također je svima ispitana mikrovaskularna reaktivnost mjerenjem protoka LDF-om u odgovoru na lokalno zagrijavanje kože.

REZULTATI: Sedmnodnevna dijeta s velikim udjelom kuhinjske soli uzrokovala je značajno smanjenje porasta protoka u mikrocirkulaciji kože u odgovoru na lokalno zagrijavanje poslije 7-dnevne dijeta s velikim udjelom kuhinjske soli u odnosu na mjerenja provedena prije te dijeta. Vrijednosti BMI-a bile su statistički značajno povećane, a pulsa snižene, iako su vrijednosti ostale unutar referentnih vrijednosti. Vrijednosti ostalih mjerenih obilježja, uključujući arterijski tlak, nisu bile značajno promijenjene.

ZAKLJUČAK: Sedmnodnevna dijeta s velikim udjelom kuhinjske soli dovodi do poremećene o dušikovom oksidu ovisne endotelne vazodilatacije u odgovoru na lokalno zagrijavanje u mikrocirkulaciji kože zdravih, mladih ispitanika. Zbog izostanka promjena arterijskog krvnog tlaka s povećanim unosom soli, može se zaključiti da je endotelna disfunkcija neovisna o krvnom tlaku i izravno je povezana sa samom soli kao čimbenikom rizika za endotelnu disfunkciju.

KLJUČNE RIJEČI: dušikov oksid; endotel; mikrocirkulacija; velik unos soli

9. SUMMARY

THE EFFECT OF 7-DAY HIGH-SALT DIET ON NITRIC-OXIDE DEPENDENT ENDOTHELIAL VASODILATION OF SKIN MICROCIRCULATION IN HEALTHY INDIVIDUALS

OBJECTIVES: The aim of this study was to functionally examine the effect of a 7-day diet with a high proportion of table salt directly on NO-dependent endothelial dilatation of skin microcirculation in healthy individuals.

STUDY DESIGN: Non-randomized controlled trial.

PARTICIPANTS AND METHODS: The study included 30 young, healthy subjects of both sexes, of which 15 were men and 15 were women. Subjects were subjected to a specific dietary protocol, of which they were subjected to a low-salt diet (~3,5 g salt/day) for 7 days and then to a high-salt diet (~14 g salt/day) for 7 days. BMI, WHR, arterial blood pressure and heart rate were measured in all subjects while a sample of collected 24-hour urine was analyzed before and after the diet protocol. Microvascular reactivity was also tested by measuring blood flow in response to local skin warming using LDF.

RESULTS: A 7-day high-salt diet caused a significant reduction in the increase in skin microcirculation flow in response to local warming after a 7-day high-salt diet compared to measurements performed before that diet. BMI values were statistically significantly increased and heart rate was decreased, although the values remained within the reference values. The values of other measured characteristics, including arterial blood pressure were not significantly changed.

CONCLUSION: A 7-day high-salt diet leads to impaired NO-dependent endothelial vasodilatation in response to local warming in the microcirculation of the skin of young, healthy individuals. Due to the absence of changes in arterial blood pressure with increased salt intake, it can be concluded that endothelial dysfunction is independent of blood pressure and is directly related to salt itself as a risk factor for endothelial dysfunction.

KEYWORDS: endothelium; high salt intake; microcirculation; nitric oxide

10. LITERATURA

1. World Health Organization. Guideline: Sodium intake for adults and children. 2012.
Dostupno na:
http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/77985/1/9789241504836_eng.pdf?ua=1&ua=
Datum pristupa: 4.5.2022.
2. Luzardo L, Noboa O, Boggia J. Mechanisms of Salt-Sensitive Hypertension. *Curr Hypertens Rev.* 2015;11(1):14-21.
3. Rust P, Ekmekcioglu C. Impact of Salt Intake on the Pathogenesis and Treatment of Hypertension. *Adv Exp Med Biol.* 2017;956:61-84.
4. He FJ, Jenner KH, MacGregor GA. WASH-World action on salt and health. *Kidney Int.* 2010;78(8):745-53.
5. He FJ, Brown M, Tan M, MacGregor GA. Reducing population salt intake-An update on latest evidence and global action. *J Clin Hypertens (Greenwich).* 2019 Oct;21(10):1596-1601.
6. Jelaković B, Vrdoljak A, Pećin I, Buzjak V, Karanović S, Ivković V, i sur. Less salt – more health. Croatian Action on Salt and Health (CRASH). *J Hypertens Res* (2016) 2(2):61-68.
7. Vlada Republike Hrvatske. Strateški Plan Za Smanjenje Prekomjernog Unosa Kuhinjske Soli U Republici Hrvatskoj 2015. – 2019. 2015.
Dostupno na: <https://www.hzjz.hr/wpcontent/uploads/2014/11/Strate%C5%A1ki-plan-za-smanjenje-prekomjernog-unosakuhinjske-soli-u-RH-2015.-2019..pdf>.
Datum pristupa: 4.5.2022.
8. Widlansky ME, Gokce N, Keaney JF Jr, Vita JA. The clinical implications of endothelial dysfunction. *J Am Coll Cardiol.* 2003 Oct 1;42(7):1149-60.
9. Godo S, Takahashi J, Yasuda S, Shimokawa H. Endothelium in Coronary Macrovascular and Microvascular Diseases. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2021 Dec 3;78(Suppl 6):S19-S29.
10. Čavka A, Tadžić R, Grizelj I, Unfirer S, Mihaljević Z, Mihalj M, i sur. Endotelna funkcija - funkcionalni pokazatelj kardiovaskularnih rizičnih čimbenika. *Med Vjesn* 2012; 44(1-4): 135-146
11. Rocic P, Schwartzman ML. 20-HETE in the regulation of vascular and cardiac function. *Pharmacol Ther.* 2018 Dec; 192: 74-87.

12. Fleming I, Busse R. Molecular mechanisms involved in the regulation of the endothelial nitric oxide synthase. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2003 Jan;284(1):R1-12.
13. Ghimire K, Altmann HM, Straub AC, Isenberg JS. Nitric oxide: what's new to NO?. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2017 Mar 1;312(3):C254-C262.
14. Rajendran S, Shen X, Glawe J, Kolluru GK, Kevil CG. Nitric Oxide and Hydrogen Sulfide Regulation of Ischemic Vascular Growth and Remodeling. *Compr Physiol*. 2019 Jun 12; 9(3): 1213–1247.
15. Thijssen DHJ, Black MA, Pyke KE, Padilla J, Atkinson G, Harris RA, et al. Assessment of flow-mediated dilation in humans: A methodological and physiological guideline. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2011, 300, H2–H12.
16. Joannides R, Haefeli WE, Linder L, Richard V, Bakkali EH, Thuillez C, et al. Nitric oxide is responsible for flow-dependent dilatation of human peripheral conduit arteries in vivo. *Circulation*. 1995 Mar 1;91(5):1314-9.
17. Kellogg DL Jr, Zhao JL, Wu Y. Endothelial nitric oxide synthase control mechanisms in the cutaneous vasculature of humans in vivo. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2008 Jul;295(1):H123-9.
18. Mitchell JA, de Nucci G, Warner TD, Vane JR. Different patterns of release of endothelium-derived relaxing factor and prostacyclin. *Br J Pharmacol* 1992; 105:485-9.
19. Mitchell JA, Kirkby NS. Eicosanoids, prostacyclin and cyclooxygenase in the cardiovascular system. *Br J Pharmacol*. 2019 Apr;176(8):1038-1050.
20. Moncada S, Vane JR. The role of prostacyclin in vascular tissue. *Fed Proc*. 1979 Jan;38(1):66-71.
21. Félétou M, Vanhoutte PM. The alternative: EDHF. *J Mol Cell Cardiol*. 1999 Jan;31(1):15-22.
22. Garland CJ, Hiley CR, Dora KA. EDHF: spreading the influence of the endothelium. *Br J Pharmacol*. 2011 Oct;164(3):839-52.
23. Halcox JP, Narayanan S, Cramer-Joyce L, Mincemoyer R, Quyyumi AA. Characterization of endothelium derived hyperpolarizing factor in the human forearm microcirculation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2001;208:H2470–7.
24. Helgadóttir H, Tropea T, Gizurarson S, Mandalà M. Endothelium-Derived Hyperpolarizing Factor (EDHF) Mediates Acetylsalicylic Acid (Aspirin) Vasodilation of Pregnant Rat Mesenteric Arteries. *Int J Mol Sci*. 2021 Sep 21;22(18):10162.
25. Krüger-Genge A, Blocki A, Franke RP, Jung F. Vascular Endothelial Cell Biology: An Update. *Int J Mol Sci*. 2019 Sep 7;20(18):4411.

26. Chabrier PE. The role of endothelin in the vessel wall. *Baillieres Clin Haematol.* 1993 Sep;6(3):577-91.
27. Vierhapper H, Wagner O, Nowotny P, Waldhäusl W. Effect of endothelin-1 in man. *Circulation.* 1990 Apr;81(4):1415-8.
28. Félétou M, Huang Y, Vanhoutte PM. Endothelium-mediated control of vascular tone: COX-1 and COX-2 products. *Br J Pharmacol.* 2011 Oct;164(3):894-912.
29. Liu B, Zhou Y. Endothelium-dependent contraction: The non-classical action of endothelial prostacyclin, its underlying mechanisms, and implications. *FASEB J.* 2021 Sep;35(9):e21877.
30. Konukoglu D, Uzun H. Endothelial Dysfunction and Hypertension. *Adv Exp Med Biol.* 2017;956:511-540.
31. Hirase T, Node K. Endothelial dysfunction as a cellular mechanism for vascular failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2012 Feb 1;302(3):H499-505.
32. Sitia S, Tomasoni L, Atzeni F, Ambrosio G, Cordiano C, Catapano A, et al. From endothelial dysfunction to atherosclerosis. *Autoimmun Rev.* 2010 Oct;9(12):830-4.
33. Patik JC, Lennon SL, Farquhar WB, Edwards DG. Mechanisms of Dietary Sodium-Induced Impairments in Endothelial Function and Potential Countermeasures. *Nutrients.* 2021 Jan 19;13(1):270
34. Cyr AR, Huckaby LV, Shiva SS, Zuckerbraun BS. Nitric Oxide and Endothelial Dysfunction. *Crit Care Clin.* 2020 Apr;36(2):307-321.
35. Abularrage CJ, Sidawy AN, Aidinian G, Singh N, Weiswasser JM, Arora S. Evaluation of the microcirculation in vascular disease. *J Vasc Surg.* 2005 Sep;42(3):574-81.
36. Tzemos N, Lim PO, Wong S, Struthers AD, MacDonald TM. Adverse cardiovascular effects of acute salt loading in young normotensive individuals. *Hypertension.* 2008 Jun;51(6):1525-30.
37. Greaney JL, DuPont JJ, Lennon-Edwards SL, Sanders PW, Edwards DG, Farquhar WB. Dietary sodium loading impairs microvascular function independent of blood pressure in humans: role of oxidative stress. *J Physiol.* 2012 Nov 1;590(21):5519-28.
38. Incalza MA, D'Oria R, Natalicchio A, Perrini S, Laviola L, Giorgino F. Oxidative stress and reactive oxygen species in endothelial dysfunction associated with cardiovascular and metabolic diseases. *Vascular Pharmacology.* 2018 Jan;100:1-19.
39. Lenda DM, Boegehold MA. Effect of a high-salt diet on oxidant enzyme activity in skeletal muscle microcirculation. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2002, 282, H395–H402.

40. Dinh QN, Drummond GR, Sobey CG, Chrissobolis S. Roles of inflammation, oxidative stress, and vascular dysfunction in hypertension. *Biomed Res Int.* 2014;2014:406960.
41. Barić L, Drenjančević I, Mihalj M, Matić A, Stupin M, Kolar L, i sur. Enhanced Antioxidative Defense by Vitamins C and E Consumption Prevents 7-Day High-Salt Diet-Induced Microvascular Endothelial Function Impairment in Young Healthy Individuals. *J. Clin. Med.* 2020 Mar 20;9(3):843.
42. Baldo MP, Rodrigues SL, Mill JG. High salt intake as a multifaceted cardiovascular disease: new support from cellular and molecular evidence. *Heart Fail Rev.* 2015 Jul;20(4):461-74.
43. Frisoli TM, Schmieder RE, Grodzicki T, Messerli FH. Salt and Hypertension: Is Salt Dietary Reduction Worth the Effort?. *Am J Med.* 2012 May;125(5):433-9.
44. Garfinkle MA. Salt and essential hypertension: pathophysiology and implications for treatment. *J Am Soc Hypertens.* 2017 Jun;11(6):385-391.
45. Balafa O, Kalaitzidis RG. Salt sensitivity and hypertension. *J Hum Hypertens.* 2021 Mar;35(3):184-192.
46. 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.
47. Hirohama D, Fujita T. Evaluation of the pathophysiological mechanisms of salt-sensitive hypertension. *Hypertens Res.* 2019 Dec;42(12):1848-1857.
48. Low DA, Jones H, Cable NT, Alexander LM, Kenney WL. Historical reviews of the assessment of human cardiovascular function: interrogation and understanding of the control of skin blood flow. *Eur J Appl Physiol.* 2020; 120(1): 1–16.
49. Cracowski JL, Minson CT, Salvat-Melis M, Halliwill JR. Methodological issues in the assessment of skin microvascular endothelial function in humans. *Trends Pharmacol Sci.* 2006;27(9):503–8.
50. Chaseling GK, Crandall CG, Gagnon D. Skin blood flow measurements during heat stress: technical and analytical considerations. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2020 Jan 1;318(1):R57-R69.
51. Kwan MWM, Wong MCS, Wang HHX, Liu KQL, Lee CLS, Yan BPY, i sur. Compliance with the dietary approaches to stop hypertension (DASH) diet: A systematic review. *PLoS One.* 2013;8(10):4–11.
52. He FJ, Macgregor GA. Salt intake, plasma sodium, and worldwide salt reduction. *Ann Med.* 2012 Jun;44 Suppl 1:S127-37.

53. Schulz E, Gori T, Münzel T. Oxidative stress and endothelial dysfunction in hypertension. *Hypertens Res.* 2011 Jun;34(6):665-73.
54. Barić L, Drenjančević I, Matic A, Stupin M, Kolar L, Mihaljević Z, i sur. Seven-Day Salt Loading Impairs Microvascular Endothelium-Dependent Vasodilation without Changes in Blood Pressure, Body Composition and Fluid Status in Healthy Young Humans. *Kidney Blood Press Res.* 2019;44(4):835-847
55. Dupont JJ, Greaney JL, Wenner MM, Lennon-Edwards SL, Sanders PW, Farquhar WB i sur. High dietary sodium intake impairs endothelium-dependent dilation in healthy salt-resistant humans. *J Hypertens.* 2013;31(3):530–6.
56. Cavka A, Jukic I, Ali M, Goslawski M, Bian JT, Wang E, i sur. Short-term high salt intake reduces brachial artery and microvascular function in the absence of changes in blood pressure. *J Hypertens.* 2016 Apr;34(4):676-84.
57. Eisenach JH, Gullixson LR, Kost SL, Joyner MJ, Turner ST, Nicholson WT. Sex differences in salt sensitivity to nitric oxide dependent vasodilation in healthy young adults. *J Appl Physiol.* 2012;112(6):1049–53.
58. Lennon-Edwards S, Ramick MG, Matthews EL, Brian MS, Farquhar WB, Edwards DG. Salt loading has a more deleterious effect on flow-mediated dilation in salt-resistant men than women. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2014;24(9):990–5.
59. Stupin A, Stupin M, Baric L, Matic A, Kolar L, Drenjancevic I. Sex-related differences in forearm skin microvascular reactivity of young healthy subjects. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2019;72(4):339-351.

11. ŽIVOTOPIS

Leon Perić

Sveučilište J.J. Strossmayera u Osijeku

Medicinski fakultet Osijek

J. Huttlera 4, 31000 Osijek

Datum i mjesto rođenja:

29.04.1998., Đakovo

Kućna adresa:

Vatrogasna ulica 101, 31000 Osijek

Tel: +385917546854

E-mail: lperic1@yahoo.com

OBRAZOVANJE:

2004. – 2008. Osnovna škola Svete Ane Osijek

2008. – 2012. Osnovna škola Frana Krste Frankopana Osijek

2012. – 2016. II. gimnazija Osijek

2016. Integrirani preddiplomski i diplomski sveučilišni 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)

NAGRADE I PRIZNANJA:

2018./2019. – Dekanova nagrada za uspješnost u studiranju u akademskoj godini 2018./2019.

ZNANSTVENE PUBLIKACIJE:

1. Vincetić, Ivo; **Perić, Leon**; Vincetić, Marko; Stupin, Marko. Renovaskularna hipertenzija: prikaz slučaja // Book Of Abstracts OSCON 2021. Osijek, Hrvatska, 2021. str. 60-60 (poster, domaća recenzija, sažetak, stručni)
2. Jukić, Ivana; Stupin, Ana; Kolar, Luka; **Perić, Leon**; Vincetić, Ivo; Šušnjara, Petar; Jelaković, Ana; Dika, Živka; Karanović, Sandra; Matašin, Marija et al. ASSESSMENT OF MICROVASCULAR REACTIVITY IN RANDOMLY SELECTED ADULT POPULATION EHUH STUDY CROATIAN SCIENTIFIC

- FOUNDATION // JOINT MEETING ESH-ISH 2021 ON-AIR on-line, 2021. str. /-/ (poster, međunarodna recenzija, sažetak, znanstveni)
3. **Perić, Leon**; Bačun, Barbara; Vincetić, Ivo; Botić, Ena; Degmečić, Dunja; Bačun, Tatjana. Virtual follow-up of a patient with type 1 diabetes during quarantine due to COVID-19 // Book of abstracts OSCON 2021 ; 3rd International Translational Medicine Congress of students and Young Physicians "Pandemic: The new normal". Osijek, Hrvatska, 2021. str. 69-69 (poster, domaća recenzija, sažetak, stručni)
 4. **Perić, Leon**; Vincetić, Ivo; Petrinović, Matea; Degmečić, Dunja; Bačun, Tatjana. Severe chronic asymptomatic hyponatremia: A case report // Abstract Book OSCON 2020, 2nd International Translational Medicine Congress of students and Young physicians "Modern day genetics and its future in personalized medicine". Osijek, Hrvatska, 2020. str. 42-42 (poster, domaća recenzija, sažetak, stručni)
 5. Vincetić, Ivo; **Perić, Leon**; Petrinović, Matea; Stupin, Marko. Koronarna arterijska bolest: prikaz slučaja // Abstract Book OSCON 2020. Osijek, Hrvatska, 2020. str. 43-43 (poster, domaća recenzija, sažetak, stručni)
 6. Mihalj, Martina; Drenjenčević, Ines; Stupin, Ana; **Perić, Leon**; Šola, Marija; Plužarić, Vera; Matijević, Tatjana; Muršić, Ivanka. The potential of utilizing laser doppler flowmetry and serum levels of homocysteine for the assessment of cardiovascular risk in psoriasis patients // 92nd Hungarian Dermatological Society Congress and XVIII. Dermatology-Pharma Exhibition. Debrecen, Mađarska, 2019. (predavanje, međunarodna recenzija, ostalo, znanstveni)
 7. Šola, Marija; **Perić, Leon**; Stupin, Ana; Krajina, Ivana; Muršić, Ivanka; Tolušić Levak, Maja; Plužarić, Vera; Vekić Mužević, Marina; Biljan, Darko; Drenjančević, Ines; Mihalj, Martina. Vasodilatation in skin microcirculation of psoriasis patients receiving TNF-alpha-blocking therapy // 92nd Hungarian Dermatological Society Congress and XVIII. Dermatology-Pharma Exhibition. Debrecen, Mađarska, 2019. (poster, međunarodna recenzija, ostalo, znanstveni).