

Učinci mediteranske prehrane na oksidativni stres kod pretilih bolesnika

Ortner Hadžiabdić, Maja

Doctoral thesis / Disertacija

2015

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:194590>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-09-24**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)





SVEU ILIŠTE U ZAGREBU
FARMACEUTSKO-BIOKEMIJSKI FAKULTET

MAJA ORTNER HADŽIABDI

**U INCI MEDITERANSKE PREHRANE NA
OKSIDATIVNI STRES KOD PRETILIH BOLESNIKA**

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2015.



UNIVERSITY OF ZAGREB
FACULTY OF PHARMACY AND BIOCHEMISTRY

MAJA ORTNER HADŽIABDI

**THE EFFECT OF MEDITERRANEAN DIET ON
OXIDATIVE STRESS IN OBESE PATIENTS**

DOCTORAL THESIS

Zagreb, 2015



SVEU ILIŠTE U ZAGREBU
FARMACEUTSKO-BIOKEMIJSKI FAKULTET

MAJA ORTNER HADŽIABDI

**U INCI MEDITERANSKE PREHRANE NA
OKSIDATIVNI STRES KOD PRETILIH BOLESNIKA**

DOKTORSKI RAD

Mentor:
Prof. dr. sc. Velimir Božikov

Zagreb, 2015.



UNIVERSITY OF ZAGREB
FACULTY OF PHARMACY AND BIOCHEMISTRY

MAJA ORTNER HADŽIABDI

**THE EFFECT OF MEDITERRANEAN DIET ON
OXIDATIVE STRESS IN OBESE PATIENTS**

DOCTORAL THESIS

Supervisor:
Professor Velimir Božikov, Ph.D.

Zagreb, 2015

Rad je predan na ocjenu Fakultetskom vijeću Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu radi stjecanja akademskog stupnja doktora znanosti iz područja biomedicine i zdravstva, polje farmacija, grana farmacija.

Rad je izrađen na Zavodu za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma Kliničke bolnice Dubrava, na Zavodu za biokemiju prehrane i na Zavodu za medicinsku biokemiju Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta, u sklopu doktorskog studija „Farmaceutsko-biokemijske znanosti“ Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu te u sklopu projekta “ Učinci mediteranske (dalmatinske) prehrane na tijek metaboličkog sindroma” Ministarstva znanosti, obrazovanja i športa Republike Hrvatske (006-0000000-3521).

Zahvaljujem svom mentoru, prof. dr. sc. Velimiru Božikovu što mi je omogućio rad na ovom iznimnom projektu.

Hvala kolegama i zaposlenicima KB Dubrava koji su svojim radom na ovom projektu doprinijeli istraživanju: doc. dr. sc. Dariju Raheli u, Ivi Mucalo, Ireni Martinis, Mirni Lasi , Evi Pavi , Martini Šari , sestrama Mili i Marini kao i svim pacijentima koji su se uključili i trudili ostati u studiji do kraja.

Posebno se zahvaljujem Dubravki Vitali , Lovorki , Mariji Grdi Rajkovi i Mireli Matokanovi što su mi pomogle kada je to bilo najpotrebnije i omogućile izvedbu glavnih analiza za ovaj rad.

Neizmjerne sam zahvalna članovima povjerenstva prof. dr. sc. Sandi Vladimir Knežević , doc. dr. sc. Donatelli Verbanec i doc. dr.sc. Srećku Maruši u koji su svatko na svoj način uvelike pomogli i koje zbog toga iznimno cijenim.

Hvala prof. dr. sc. Mladenu Petroviću i Periću Hrabi u na svim savjetima, idejama i statističkom znanju koje su mi prenijeli.

U izradi ovog rada moji su se prijatelji i kolege svojom stručnom pomoć i podrškom uključivali kada god sam ih zatrebala. Posebno hvala Dudi, Dariji, Vanji, Ivoni!

Najveća hvala mojoj obitelji- na svemu!

SAŽETAK

Kontinuirana progresija prevalencije pretilosti tijekom proteklih desetljeća i njezina terapijska tvrdokornost uvrstile su pretilost u red globalno najvažnijih javnozdravstvenih, socioekonomskih i kliničkih tema. Prema recentnim smjernicama najvažnije mjesto u liječenju pretilosti zauzima promjena životnih navika s naglaskom na dijetu i tjelesnu aktivnost. U posljednje se vrijeme ističe u dobrobiti mediteranske dijeta za koju danas postoji sve veći broj dokaza, ali točan mehanizam djelovanja mediteranske dijeta još nije u potpunosti razjašnjen. Svrha ovoga rada bila je istražiti djelovanje mediteranske dijeta na oksidativni stres kao primarnu mjeru ishoda te time pridonijeti boljem razumijevanju mehanizma njezina djelovanja u pretilih bolesnika. Sekundarne mjere ishoda obuhvaćale su antropometrijske mjere te kliničke i biokemijske imbeničke rizika u pretilih osoba. U istraživanje su bila uključena 124 pretila bolesnika (spol: 32 M i 92 Ž; dob: $47,5 \pm 12,42$ godina; ITM: $41,59 \pm 7,32$ kg/m²), randomiziranih u skupine na mediteranskoj (MD) (n = 63) ili standardnoj hipolipemičkoj dijeti (SHD) (n = 61), od čega je njih 84 završilo studiju (40 ispitanika u MD skupini i 44 ispitanika u SHD skupini). Ispitanici su bili uključeni u program mršavljenja koji se sastojao od promjena prehrane, tjelovježbe i bihevioralne terapije, a u sklopu kojega je bila petodnevna edukacija te pet kontrolnih pregleda unutar dvanaest mjeseci nog razdoblja. Rezultati ovog istraživanja pokazali su da je MD bila značajno uinkovitivija u povećanju ukupnog antioksidativnog kapaciteta (TAC); TAC je nakon dvanaest mjeseci iznosio $2,47 \pm 0,45$ mmolTE/L u MD skupini i $2,31 \pm 0,51$ mmolTE/L u SHD skupini (P < 0,001 za uinkovitivnost vremena, P = 0,009 za uinkovitivnost interakcije vremena i dijeta). Metodom multiple regresije, vrsta dijeta pokazala se kao jedini značajan imbenički faktor za promjenu TAC-a (P = 0,013), dok tjelesna aktivnost, spol, promjena tjelesne mase i koncentracija urata nisu značajnije doprinijeli promjeni koncentracije TAC-a. U ovom istraživanju nije primijećena statistički značajna uinkovitivnost uinkovitivnost ili statistički značajna razlika u djelovanju između ispitivanih intervencija na oxLDL, OLAB ili njihov omjer. Istraživanje je također potvrdilo povoljan utjecaj ispitivanih intervencija na mršavljenje; obje su intervencije utjecale na značajno smanjenje tjelesne mase (P < 0,001), opsega struka (P < 0,001) i ITM-a (P < 0,001) tijekom vremena. Osim toga, ovaj je rad potvrdio bolju uinkovitivnost MD u smanjenju sistoličkog arterijskoga tlaka (pad od $8,27 \pm 18,32$ mmHg u MD skupini vs $1,25 \pm 18,34$ mmHg u SHD skupini) i u povišenju vrijednosti HDL-kolesterola (porast od $0,11 \pm 0,24$ mmol/L u MD skupini i $0,003 \pm 0,19$ mmol/L u SHD skupini) u usporedbi s SHD. Stoga ovi rezultati potvrđuju hipotezu da MD dovodi do redukcije većeg

broja imbenika metaboli kog sindroma. Ovo istraživanje po prvi put je na uzorku pretilih bolesnika hrvatske populacije ustanovilo važne imbenike uspješnosti mršavljenja uz primijenjene nefarmakološke mjere. Pored toga, dobiveni rezultati pridonijeli su razumijevanju pretpostavljenog antioksidativnog mehanizma djelovanja mediteranske prehrane, daju i dobru osnovu za daljnja usmjerena istraživanja u ovom području.

ključne riječi: mediteranska dijeta, oksidacijski stres, ukupni antioksidativni kapacitet (TAC), oksidirani LDL, antitijela na oksidirani LDL, pretilost

ABSTRACT

The rise in global obesity rates over the last decades and its non-responsiveness to the therapeutic measures have been substantial, presenting obesity as a major public health, socioeconomic and clinical issue. The recent guidelines for the management of obesity recommend lifestyle changes with diet and physical activity as the most important therapeutic measure. Numerous evidence point to the benefits of Mediterranean diet (MD); however, its exact mechanism of action is still ambiguous. Therefore, the aim of this work was to explore the effect of MD on oxidative stress as the primary endpoint what could lead to the better understanding of the mechanism of action of MD in obese patients. 124 obese patients participated in study (sex: 32 M and 92 F, age: 47.5 ± 12.42 , BMI: $41.59 \pm 7.32 \text{ kg/m}^2$), and were randomized to either MD (n = 63) or standard hypolipemic diet (SHD) (n = 61) group. 84 subjects (40 in MD and 44 in SHD group) completed the study. All subjects participated in a weight reduction programme, involving intensive 5-day educational intervention on diet, physical activity and behavioural therapy, followed by five follow-up visits during the twelve months. The results imply MD beneficial effect on total antioxidant capacity (TAC); twelve months mean (\pm SD) TAC values were $2.47 \pm 0.45 \text{ mmolTE/L}$ and $2.31 \pm 0.51 \text{ mmolTE/L}$ in MD and SHD, respectively ($P < 0.001$ for time effect; $P = 0.005$ for time-diet interaction effect). Multiple regression model identified type of diet as the only significantly contributing factor to TAC change ($P = 0.013$), while physical activity, gender, body weight change and urate concentration did not contribute significantly. We did not observe the statistically significant effect on oxLDL, OLAB or their ratio. This study confirmed the beneficial effect of both interventions in weight management, measured as reduction in body weight ($P < 0.001$), waist circumference ($P < 0.001$) and BMI ($P < 0.001$). Compared with the SHD, systolic blood pressure (SBP) decreased ($8.27 \pm 18.32 \text{ mmHg}$ and $1.25 \pm 18.34 \text{ mmHg}$ in MD and SHD group, respectively) and HDL cholesterol increased ($0.11 \pm 0.24 \text{ mmol/L}$ and $0.003 \pm 0.19 \text{ mmol/L}$ in MD and SHD group, respectively) significantly in the MD group. Therefore, these results confirm the hypothesis that adherence to the MD is associated with more prominent reduction of the metabolic syndrome components. This is the first study identifying variables predictive of successful weight loss among obese Croatian patients. Additionally, the obtained results contribute to the understanding of proposed antioxidative mechanism of MD and could be used as the basis for further research in this area.

Keywords: Mediterranean diet, oxidative stress, total antioxidative capacity (TAC), Oxidized low-density lipoprotein (oxLDL), anti-oxLDL antibodies, obesity

OBJAŠNJENJA KRATICA, AKRONIMA I TUČICA

| | |
|-------|--|
| ABTS | 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonat) |
| ACC | Američki zbor kardiologije (engl. <i>American Colledge of Cardiology</i>) |
| AHA | Američka udruga za srce (engl. <i>American Heart Association</i>) |
| AT | arterijski tlak |
| CRP | C reaktivni protein |
| DAT | dijastolički arterijski tlak |
| ELISA | „sendvič“ enzimski imunotest (engl. <i>sandwich enzyme-linked immunosorbent assay</i>) |
| GUP | koncentracija glukoze u plazmi |
| HbA1c | hemoglobin A1c |
| HDL | lipoproteini velike gustoće (engl. <i>high-density lipoprotein</i>) |
| HRPO | peroksidaza iz hrena (engl. <i>horseradish peroxidase</i>) |
| IDF | Meunarodna dijabetička federacija (engl. <i>International Diabetes Federation</i>) |
| IL-1 | interleukin-1 |
| IL-6 | interleukin-6 |
| IPAQ | Meunarodni upitnik o razini tjelesne aktivnosti (engl. <i>International Physical Activity Questionnaire - short form</i>) |
| ITM | indeks tjelesne mase |
| LDL | lipoproteini male gustoće (engl. <i>low-density lipoprotein</i>) |
| MD | mediteranska dijeta |
| MET | metabolički ekvivalent |
| NADPH | nikotinamid adenin dinukleotid fosfat |
| OS | opseg struka |
| OLAB | antitijela na oksidirani LDL |
| oxLDL | oksidirani LDL |
| POMC | proopiomelanokortin |
| ROS | reaktivni oblici kisika (engl. <i>reactive oxygen species</i>) |
| SAT | sistolički arterijski tlak |
| SHD | standardna hipolipemička dijeta |

| | |
|------|--|
| SZO | Svjetska zdravstvena organizacija (engl. <i>World Health Organisation</i>) |
| % TM | postotak tjelesne masti |
| TAC | ukupni antioksidativni kapacitet (engl. <i>total antioxidative capacity</i>) |
| TEAC | antioksidativni kapacitet izražen Trolox ekvivalentom (engl. <i>Trolox equivalent antioxidative capacity</i>) |
| TG | Trigliceridi |
| TNF- | Faktor nekroze tumora-alfa (engl. <i>tumor necrosis factor-alpha</i>) |
| TOS | Radna skupina za stručne smjernice i Društvo za debljinu (engl. <i>Task Force on Practice Guidelines and The Obesity Society</i>) |

SADRŽAJ

| | |
|---|-----------|
| 1. UVOD | 1 |
| 1.1 PRETILOST | 2 |
| 1.1.1 UVOD I DEFINICIJA | 2 |
| 1.1.2 EPIDEMIOLOGIJA PRETILOSTI | 3 |
| 1.1.3 PATOFIZIOLOGIJA PRETILOSTI | 4 |
| 1.1.4 ULOGA OKSIDATIVNOG STRESA U MEHANIZMU NASTANKA PRETILOSTI | 7 |
| 1.1.5 ETIOLOGIJA PRETILOSTI | 8 |
| 1.1.6 KLINIČKE POSLJEDICE PRETILOSTI | 12 |
| 1.1.7 LIJEČENJE PRETILOSTI | 14 |
| 1.2 MEDITERANSKA DIJETA | 21 |
| 1.2.1 KOMPONENTE MEDITERANSKE PREHRANE | 23 |
| 1.2.2 DOKAZI O UČINCIMA MEDITERANSKE DIJETE | 27 |
| 1.2.3 UTJECAJ MEDITERANSKE DIJETE NA OKSIDATIVNI STRES | 30 |
| 2. OBRAZLOŽENJE TEME | 34 |
| 3. MATERIJALI I METODE | 37 |
| 3.1 MATERIJALI | 38 |
| 3.1.1 INSTRUMENTI | 38 |
| 3.1.2 REAGENSI | 38 |
| 3.2 METODE | 42 |
| 3.2.1 DIZAJN STUDIJE | 42 |
| 3.2.2 ISPITANICI | 42 |
| 3.2.3 OPIS I TIJEK ISTRAŽIVANJA | 44 |
| 3.2.4 ANTROPOMETRIJSKA MJERENJA | 47 |
| 3.2.5 MJERENJE ARTERIJSKOG TLAKA | 48 |
| 3.2.6 UZIMANJE I POHRANA UZORAKA VENSKE KRVI | 48 |
| 3.2.7 ODREĐIVANJE ANTIOKSIDATIVNOG POTENCIJALA SERUMA | 49 |
| 3.2.8 ODREĐIVANJE OKSIDIRANOG LDL-A | 52 |
| 3.2.9 ODREĐIVANJE ANTITIJELA NA OKSIDIRANI LDL | 53 |
| 3.2.10 ODREĐIVANJE KONCENTRACIJA OSTALIH BIOKEMIJSKIH POKAZATELJA | 54 |
| 3.2.11 PROCJENA TJELESNE AKTIVNOSTI | 56 |
| 3.2.12 ODREĐIVANJE METABOLIČKOG SINDROMA | 57 |
| 3.2.13 STATISTIČKA OBRADA PODATAKA | 57 |
| 4. REZULTATI | 59 |
| 4.1 OBILJEŽJA ISPITANIKA NA POČETKU STUDIJE | 60 |
| 4.2 PRAĆENJE BOLESNIKA: RAZLOZI ISKLJUČIVANJA IZ PROGRAMA I ODUSTAJANJA OD NJEGA | 64 |
| 4.3 PRAĆENJE PRIDRŽAVANJA DIJETE | 69 |

| | | |
|------------|---|------------|
| 4.4 | UČINAK MEDITERANSKE DIJETE NA OKSIDATIVNI STRES – PRIMARNI CILJ ISTRAŽIVANJA | 70 |
| 4.4.1 | UČINAK MEDITERANSKE DIJETE NA ANTIOKSIDATIVNI POTENCIJAL | 70 |
| 4.4.2 | UČINAK MEDITERANSKE DIJETE NA OKSIDIRANI LDL | 72 |
| 4.4.3 | UČINAK MEDITERANSKE DIJETE NA ANTITIJELA NA OKSIDIRANI LDL | 74 |
| 4.4.4 | UČINAK MEDITERANSKE DIJETE NA OMJER OLAB-A I OXLDL-A | 75 |
| 4.5 | UČINAK MEDITERANSKE DIJETE NA OSTALE PARAMETRE – SEKUNDARNI CILJEVI ISTRAŽIVANJA | 77 |
| 4.5.1 | UČINAK MEDITERANSKE DIJETE NA ANTROPOMETRIJSKE POKAZATELJE | 77 |
| 4.5.2 | UČINAK MEDITERANSKE DIJETE NA BIOKEMIJSKE POKAZATELJE (LIPIDE, GUP, HbA1C, CRP, URATE) | 82 |
| 4.5.3 | UČINAK MEDITERANSKE DIJETE NA ARTERIJSKI TLAK | 88 |
| 4.5.4 | UČINAK MEDITERANSKE DIJETE NA METABOLIČKI SINDROM | 91 |
| 4.6 | PROCJENA RAZINE TJELESNE AKTIVNOSTI I NJEZIN UTJECAJ NA OKSIDATIVNI STRES | 92 |
| 4.7 | ODREĐIVANJE PREDIKTIVNIH VARIJABLI ZA OKSIDATIVNI STRES U PRETILIH BOLESNIKA | 93 |
| 4.7.1 | MULTIVARIJATNI UTJECAJ NA ANTIOKSIDATIVNI POTENCIJAL | 93 |
| 4.7.2 | MULTIVARIJATNI UTJECAJ NA OLAB, OXLDL I NJIHOV OMJER | 94 |
| 5. | RASPRAVA | 95 |
| 5.1 | UČINAK INTERVENCIJE NA ANTIOKSIDATIVNI POTENCIJAL | 96 |
| 5.2 | UČINAK INTERVENCIJE NA OKSIDIRANI LDL I ANTITIJELA NA OKSIDIRANI LDL | 101 |
| 5.3 | UČINAK INTERVENCIJE NA OSTALE PARAMETRE (SEKUNDARNI CILJEVI ISTRAŽIVANJA) | 103 |
| 5.4 | ČIMBENICI KOJI SU UTJECALI NA PRIDRŽAVANJE PROGRAMA MRŠAVLJENJA I USPJEH U MRŠAVLJENJU | 106 |
| 5.5 | OGRANIČENJA STUDIJE | 108 |
| 6. | ZAKLJUČCI | 111 |
| 7. | LITERATURA | 115 |
| 8. | PRILOZI | 137 |
| 9. | ŽIVOTOPIS | 191 |
| 10. | TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA | 194 |

1. UVOD

1.1 PRETILOST

1.1.1 Uvod i definicija

Pretilost ili debljina kronična je endokrino-metabolička bolest karakterizirana prekomjernim nakupljanjem suvišne energije u masnom tkivu, što uzrokuje njegovu disfunkciju s posljedicama komplikacijama od strane drugih organa [1].

Svjetska zdravstvena organizacija (SZO) definirala je pretilost kao bolest još 1948. godine, kada je kao takva dobila svoje mjesto u 6. reviziji Međunarodne klasifikacije bolesti (MKB-6), ali je tek nekoliko desetljeća kasnije prepoznata kao jedan od vodećih javnozdravstvenih problema koji se mora prevenirati i liječiti [2]. Radi se o kroničnoj bolesti skromnoga simptomatskog iskaza i velikoga polimorbidnog potencijala koja se razvija u međudjelovanju različitih etioloških čimbenika, nasljednih odrednica i različitih utjecaja okoline [3]. Stupanj debljine uobičajeno se iskazuje apsolutnim iznosom tjelesne mase ili nešto boljim pokazateljem, indeksom tjelesne mase (ITM), koji predstavlja omjer tjelesne mase u kilogramima i kvadrata tjelesne visine u metrima. Osobe se prema ITM-u mogu klasificirati u normalno uhranjene, preuhranjene i pretilo, dok se sama pretilost dodatno dijeli u tri stupnja. Kriteriji za navedenu podjelu prikazani su u tablici 1. Iako vrlo jednostavni i korisni u svakodnevnoj kliničkoj praksi, tjelesna masa i ITM imaju i ograničenja te nisu primjenjivi za svaku osobu. Naime, ne uključuju komponentu tjelesnog sastava, pa u ekstremnim slučajevima možemo otkriti moguće zablude koje mogu proizići iz nekritičke primjene ITM-a [4].

Tablica 1. Stupnjevi uhranjenosti procijenjeni indeksom tjelesne mase (ITM)

| Stupanj uhranjenosti | ITM (kg/m ²) |
|----------------------|--------------------------|
| Normalna uhranjenost | 18,5-24,9 |
| Preuhranjenost | 25,0-29,9 |
| Pretilost | |
| Stupanj I | 30,0-34,9 |
| Stupanj II | 35,0-39,9 |
| Stupanj III | ≥ 40,0 |

Među dodatne pokazatelje koji doprinose procjeni i objektivizaciji stupnja i tipa uhranjenosti spadaju opseg struka i bokova te njihov omjer. U kliničkim studijama i u praksi češće se rabi opseg struka, a u posljednje su se vrijeme pojavila mišljenja kako je samo mjerenje opsega struka dostatno za postavljanje dijagnoze pretilosti i utvrđivanje indikacije o

nužnosti mršavljenja [3]. Definirana granica opsega struka koji se smatra bitno uvećanim i predstavlja rizičan imbenik za razvoj srčano-žilnih bolesti i visok rizik ukupnog morbiditeta razlikuje se za određenu populaciju (tablica 2). Prema kriterijima Međunarodne dijabetičke federacije (engl. *International Diabetes Federation*) koji su usvojeni i u 4. hrvatskim smjernicama o dijagnostici i liječenju debljine [1] normalnim se opsegom struka za bijelce (Europljane) smatra do 94 cm u muškaraca i do 80 cm u žena. Osim granica za normalan opseg struka, u literaturi je definirana i vrijednost opsega struka koja upućuje na ozbiljnu pretilost i rizike od pobola koje ona nosi, a iznosi > 102 cm u muškaraca i > 88 cm u žena [5]. Prepoznata važnost opsega struka kao mjere visceralne debljine proizlazi iz saznanja da je trbušni oblik debljine posebno opasan i praćen je im poremajem izlučivanja hormona masnoga tkiva i metaboličkim promjenama [1]. U prilog tome govore i suvremena istraživanja koja su pokazala da masne nakupine u trbušnoj šupljini predstavljaju puno veću opasnost za zdravlje od potkožnih masnih nakupina [6].

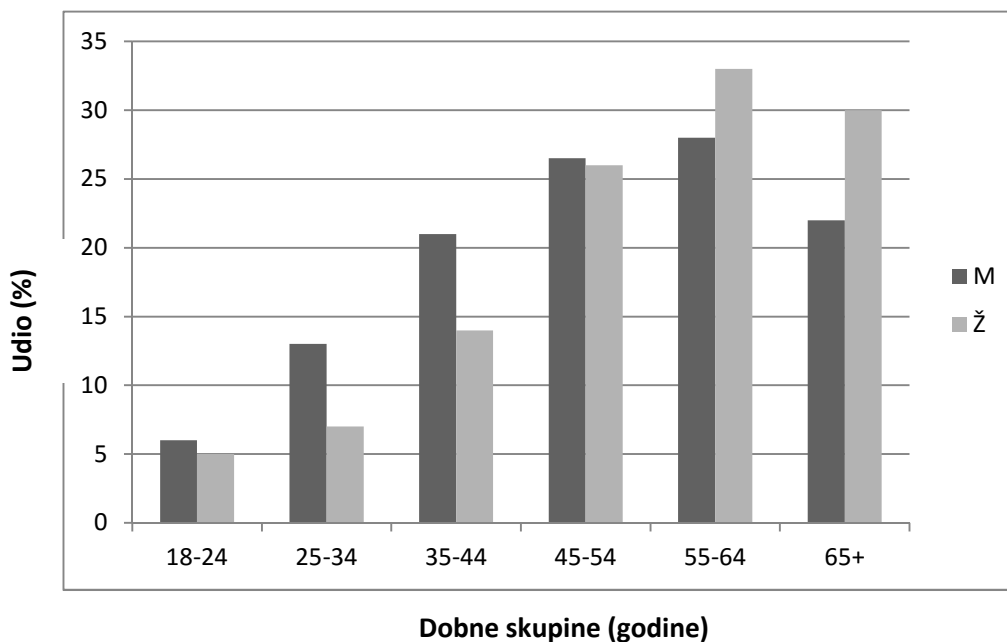
Tablica 2. Normalne vrijednosti opsega struka IDF-a za različite etničke skupine

| Etničke skupine | Muškarci | Žene |
|-------------------------------|-----------------|-------------|
| Europljani | < 94 cm | < 80 cm |
| Južna Azija, Kinezi i Japanci | < 90 cm | < 80 cm |

1.1.2 Epidemiologija pretilosti

SZO prati globalnu prevalenciju pretilosti putem Globalne baze podataka o ITM-u (*Global database on body mass index*) [7]. U 2008. godini udio osoba s prekomjernom tjelesnom masom u svijetu iznosio je 35% (ITM > 25 kg/m²) (35% muškaraca i 34% žena iznad 20 godina), dok je 10% muškaraca i 14% žena bilo pretilo [8]. Procjenjuje se da je diljem svijeta pretilo oko 500 milijuna osoba (ITM > 30 kg/m²), a čak ih milijarda ima prekomjernu tjelesnu težinu (ITM > 25 kg/m²) [8]. Putem Globalne baze podataka o ITM-u prati se i trend promjene udjela pretilog stanovništva te je za većinu zemalja primijećen njegov rast [7]. Tijekom posljednjih 20 godina udio se pretilih osoba u svijetu utrostručio [9]. Prema podacima iz Globalne baze podataka o ITM-u u svijetu postoje velike razlike u udjelu pretilog stanovništva. Tako je primjerice u Indiji pretilo manje od 1% populacije, dok na otocima u Tihom oceanu taj postotak doseže i do 80%. Vrlo visok udio pretilog stanovništva primijećen je u zemljama srednjeg dohotka u istočnoj Europi, Latinskoj Americi i Aziji, gdje je pretilost peti najčešći uzrok obolijevanja [9].

Rezultati Hrvatske zdravstvene ankete iz 2003. godine pokazuju da prekomjernu tjelesnu masu ima preko 60% muškaraca i 50% žena, što Hrvatsku svrstava u skupinu zemalja s vrlo visokim udjelom prekomjerne tjelesne mase [10]. Pretili osobe čine oko 20% odraslog stanovništva u Hrvatskoj, s otprilike podjednako zastupljenim spolovima (20,1% muškaraca i 20,6% žena). Udio se pretilih obično povećava s dobi, što je primijećeno i me u hrvatskim stanovništvom (slika 1). Više od 40% odraslih ima visceralni tip debljine (opseg struka > 102 cm kod muškaraca, odnosno > 88 cm kod žena, kriteriji SZO-a).



Slika 1. Udio pretilih odraslih osoba prema spolu i dobi u RH. Izvor: Hrvatska zdravstvena anketa, 2003.

Ukupan udio odraslih s prekomjernom tjelesnom masom kreće se od 55,4% u Zapadnoj regiji do 62% u Središnjoj regiji, dok je najmanji udio pretilih također u Zapadnoj regiji (15,5%), a najveći u Sjevernoj (25,6%) i Središnjoj (24,6%) regiji.

Velik porast udjela prekomjerne tjelesne mase stanovništva svrstava Hrvatsku među vodeće zemlje prema zastupljenosti prekomjerne tjelesne mase u Europi, ali i u svijetu.

Nedavno objavljeno istraživanje provedeno u 16 europskih zemalja pokazalo je da je Hrvatska na samome vrhu, s najvišim udjelom pretilih osoba među usporedivanim zemljama (21,5%) [11].

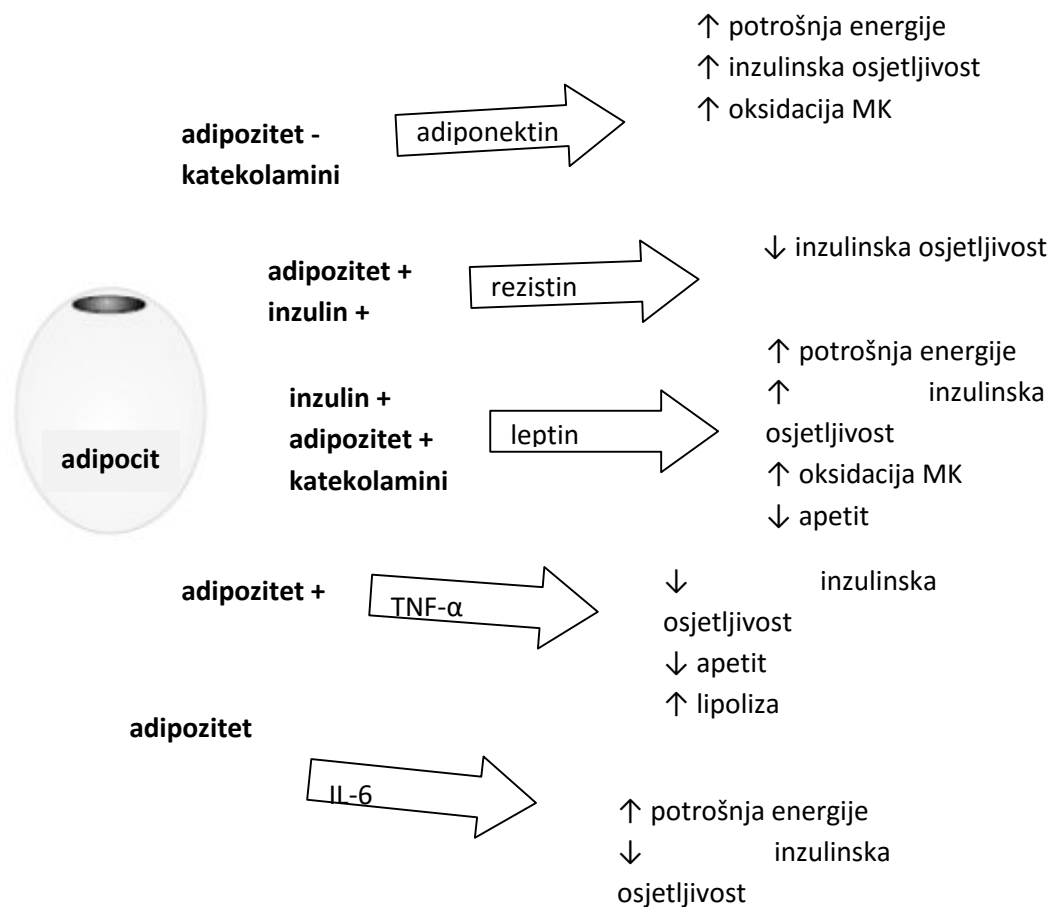
1.1.3 Patofiziologija pretilosti

Patofiziologija pretilosti uvjetovana je povećanom količinom energije koja se zadržava u organizmu te se u obliku masti skladišti u masnim stanicama. Postoji vrlo jednostavna

formula koja opisuje taj proces, a temelji se na prvom zakonu termodinamike; unos energije, određen unosom prehrambenih namirnica, umanjen za potrošnju energije jednak je energiji koja ostaje uskladištena u organizmu. Kada u navedenoj formuli dođe do neravnoteže, tj. kada je unos povećan ili potrošnja smanjena, količina energije koja se zadržava u organizmu je povećana i skladišti se u obliku masti u masnim stanicama. *In vivo* je mehanizam homeostaza energije mnogo složeniji, iako fundamentalno točan, prvi zakon termodinamike ne može u potpunosti objasniti mehanizam nastanka debljine jer ne uzima u obzir nekoliko vrlo važnih principa [12]. Već je sama mjera unosa energije hranom, kao što su kalorije, ograničena jer ne mjeri stvarne kalorije apsorbirane probavnim sustavom pojedine osobe i time ne određuje stvarnu energiju unesenu u organizam. Osim toga, način na koji tijelo reagira na promjene u unosu energije nije statičan. Tijekom evolucije ljudski je organizam razvio mehanizme preživljavanja u razdoblju gladovanja te je homeostaza energije podešena u svrhu održavanja tjelesne mase. Stoga je namjerno smanjen unos hrane suprotstavljen nesvjesnim mehanizmima smanjene potrošnje energije, što proces mršavljenja čini mnogo složenijim od formule koja se temelji na zakonima fizike. Energetska ravnoteža i unos energije određeni su naime različitim čimbenicima; uz fiziološke i kulturološke faktore, oni su hormonski i neurološki uvjetovani, tj. regulirani osjetom gladi.

Regulacija osjeta gladi složen je proces u kome dolazi do međudjelovanja periferije, tj. hormonski aktivnih masnih stanica i centra za glad u hipotalamusu. Kada je masna stanica prepunjena trigliceridima iz nje se luku različiti peptidi nazvani adipokinima. Peptidni hormon leptin jedan je od najbolje ispitanih adipokina povezanih s pretilošću [13-16], a ima sposobnost prelaska krvno-moždane barijere te smanjuje osjet gladi, ali i izaziva lučenje niza drugih peptida. Leptin djeluje tako da potiče anoreksigene neurone koji luče primjerice proopiomelanokortina (POMC), kokainom- i amfetaminom- reguliranog transkripta (CART) i kortikoliberina (CRH) smanjuju osjet gladi i tjelesnu masu, a inhibira oreksigene neurone koji luče primjerice neuropeptid Y (NPY) i melanin koncentriraju eg hormona (MCH) izazivaju osjet gladi i promoviraju dobitak tjelesne mase. Spomenuti oreksigeni i anoreksigeni peptidi svojim međudjelovanjem reguliraju osjet gladi u hipotalamusu.

Uz leptin postoji niz drugih peptida, kao što su adiponektin, rezistin, grelin, inkretini GLP1 i GIP, faktor nekroze tumora-alfa (engl. *tumor necrosis factor-alpha*, TNF- α), interleukini 1 i 6 (IL-1 i IL-6), angiotenzinogen i inhibitor plazminogen aktivatora-1 (PAI-1) za koje se također smatra da su regulatori metaboličkih procesa i unosa hrane. Spomenute tvari potječu iz bijelog adipoznog tkiva i imaju bitnu ulogu u homeostazi i važnim fiziološkim procesima (slika 2).



Slika 2. Prikaz glavnih adipokina i njihove uloge. Adipozno tkivo lu i nekoliko adipokina koji su metaboli ki aktivni, centralno i u perifernim tkivima. Lu enje ovih adipokina regulirano je inzulinom, katekolaminima i adipozitetom. TNF- : faktor nekroze tumora-alfa; IL-6: interleukin-6; MK: masne kiseline; GLUT-4: glukozni prijenosnik tip 4 (prilago eno po Fernandez-Sanchez i sur. Int. J. Mol. Sci. 2011, 12; 3117-3132)

Pretilost je na razini patofizioloških zbivanja usko povezana s nizom mehanizama koji presudno utje u na razvoj pojedinih poreme aja. Adipociti pretilih osoba imaju manju gusto u inzulinskih receptora i ve u gusto u beta-3-adrenergi kih receptora zbog ega dolazi do pove ane lipolize iz tog podru ja. Pritom se oslobaaju masne kiseline, koje su pak nizom mehanizama povezane s patološkim procesima debljine. Dolazi primjerice do sljede ih procesa: pove anog stvaranja slobodnih kisikovih radikala; smanjenog klirensa inzulina koji pak dovodi do hiperinzulinemije i smanjene inzulinske osjetljivosti; sinergisti kog djelovanja IL-6 i TNF- te indukcije apoptoze u -stanicama guštera e. Dodatno, pove an dotok slobodnih masnih kiselina u jetra uzrokuje pove anu sintezu triglicerida i hiperlipoproteinemiju. Svi nabrojeni procesi objedinjeni su pojmom lipotoksi nosti. Tako

disfunkcija adipoznog tkiva i lipotoksičnost su dva povezana mehanizma važna za razjašnjenje razvoja inzulinske rezistencije i proupalno stanje prisutno u pretilih bolesnika.

Osim toga, u pretilih osoba, uz kroničnu, tinjajuću i generaliziranu upalu, dolazi i do razvoja disfunkcije endotelne stanice što u tankome sloju pokrivaju sve cirkulacijske šupljine tijela. Pretilost također, navedenim mehanizmima i potiče i pridružena stanja rezistencije tkiva na inzulin te visoke sklonosti zgrušavanju krvi, dovodi do razvoja aterosklerotske tromboembolijske bolesti koja se klinički najčešće manifestira akutnim srčano-žilnim poteškoćama. Stanje pretjerane uhranjenosti posredno djeluje i na razvoj važnih kliničkih događaja potiče i razvoj aterogene dislipidemije s visokim ukupnim LDL-kolesterolom (engl. *low density lipoproteins*, LDL) te niskim protektivnim HDL-kolesterolom (engl. *high density lipoproteins*, HDL), razvoj arterijske hipertenzije, urinarne dijateze i šećerne bolesti tipa 2.

1.1.4 Uloga oksidativnog stresa u mehanizmu nastanka pretilosti

Reaktivni oblici kisika (engl. *reactive oxygen species*, ROS) nastaju kako u fiziološkim uvjetima tako i u stanju mnogih bolesti, a mogu uzrokovati izravno ili posredno oštećenje različitih tkiva i organa. Danas je poznato da je oksidativni stres uključen u patološke procese pretilosti, šećerne bolesti tipa 2, srčano-žilne bolesti i aterogene procese. Postoje dokazi da je veza pretilosti i oksidativnog stresa dvosmjerna; pretilost može potaknuti nastajanje oksidativnog stresa, dok je s druge strane oksidativni stres povezan s poremećajem u stvaranju adipokina koji primjerice doprinose nastajanju metaboličkog sindroma [17].

Vincent i Taylor smatraju da postoji niz čimbenika koji doprinose povećanom oksidativnom stresu u pretilih osoba, a uključuju hiperglikemiju, povećanu mišićnu aktivnost zbog nošenja suvišne tjelesne mase, povišenu koncentraciju lipida u krvi, lošu antioksidativnu obranu, kroničnu upalu, stvaranje ROS-a u endotelu i hiperleptinemiju [18]. Nabrojani čimbenici nisu međusobno isključivi; pretilost može uključivati samo neke ili sve spomenute čimbenike koji doprinose nastanku oksidativnog stresa. Ovisno o stanju pretile osobe, određeni čimbenik može uzrokovati veći oksidativni stres od drugoga, a njihov se doprinos pak može mijenjati kako se mijenja metaboličko i fizičko stanje pojedinca. Dokazi o izvoru oksidativnog stresa dobiveni su iz brojnih eksperimentalnih modela, uključujući i kulture stanica, životinjske modele i ljude [18].

Pretpostavlja se da je povećan oksidativni stres u stanju pretilosti povezan s povećanjem adipoznog tkiva koje je, kao što je već rečeno, izvor proupalnih citokina, poput TNF- α , IL-1 i IL-6. Spomenuti su citokini važni za stvaranje reaktivnog kisika i dušika u makrofazima i monocitima, pa se smatra da je njihova povećana koncentracija odgovorna za nastajanje oksidativnog stresa. Dodatno, adipocitima i angiotenzin II koji potiče djelovanje nikotinamid adenin dinukleotid fosfat (NADPH) oksidaze uključene u put nastanka ROS-a u adipocitima. Rezultati studije Furukawe i suradnika potvrđuju činjenicu da je NADPH oksidaza glavni izvor ROS-a u adipocitima te da pojačana ekspresija NADPH oksidaze doprinosi povećanom nastajanju ROS-a u masnom tkivu [19]. Osim toga, povećana masa adipoznog tkiva može zbog pritiska većeg broja masnih stanica uzrokovati oštećenje drugih stanica, primjerice u nealkoholnom steatohepatitisu, i tako prouzročiti dodatno nastajanje proupalnih citokina, a posljedično opet povećano nastajanje ROS-a i lipidne peroksidacije.

Nadalje, u stanju pretilosti povećana je potrošnja kisika. Kao posljedica povećane potrošnje kisika opet dolazi do pojačanog stvaranja ROS-a u obliku superoksida, hidroksilnih radikala i hidrogen peroksida koji nastaju u procesu respiracije u mitohondrijima. Osim toga, dolazi do stvaranja superoksidnog radikala zbog gubitka elektrona u transportnom lancu elektrona.

Prehrana koju konzumiraju pretili ljudi često je bogata mastima, što također doprinosi nastajanju ROS-a. Masne su naslage podložne oksidacijskim reakcijama do kojih dolazi zbog pomaka ravnoteže pro- i antioksidativnog sustava u smjeru nastajanja slobodnih radikala, s posljedičnom lipidnom peroksidacijom.

1.1.5 Etiologija pretilosti

U nastanku i održavanju pretilosti sudjeluje više činitelja: nasljedni, okolišni, psihološki, socijalni i kulturni čimbenici koji uzrokuju prevelik unos hrane i smanjenu tjelesnu aktivnost, promijenjeni metabolizam masnog tkiva, nedostatna ili smanjena termogeneza te određeni lijekovi [20;21]. Pojedinačni su doprinosi svakog od tih činitelja detaljno istraživani te je, iako je ustanovljeno da geni imaju važnu ulogu u održavanju tjelesne mase, Konzultacijska grupa o debljini SZO-a (engl. *World Health Organization Consultation on Obesity*) ipak zaključila da su za dramatično povećanje pretilosti u posljednja dva desetljeća u prvome redu odgovorni bihevioralni i okolišni čimbenici (primjerice sjedila način života i povećan unos hrane).

Doprinos nasljeđa u nastanku pretilosti dokazan je još 80-tih godina prošloga stoljeća kada su Stunkard i suradnici u studiji na blizancima pokazali da je podudarnost stupnja pretilosti među u jednojajanim parovima blizanaca bila čak dva puta veća nego među u dvojajanim blizancima [22]. Praćenje istih ispitanika nakon 25 godina dodatno je potvrdilo ulogu gena u regulaciji tjelesne mase. Druga klasina studija koja je proučavala povezanost ITM-a posvojene djece i njihovih bioloških roditelja pronašla je vrlo snažnu korelaciju između u njihovih ITM-ova, dok takva povezanost nije primijećena između u ITM-ova posvojene djece i njihovih posvojitelja [23]. Maes i suradnici procijenili su da su genetski imbenici odgovorni za čak 50 do 90% promjene ITM-a [23]. Što se tiče na ina nasljeđivanja, debljina može biti nasljeđena prema mendelskom tipu nasljeđivanja (autosomno dominantni ili recesivni tipovi nasljeđivanja kao npr. Prader-Willi sindrom), može biti monogeniski (gen za leptin, leptin receptor, POMC i prohormon konvertazu) ili pak poligeniski nasljeđena. Iako su zabilježeni monogeniski uzroci debljine, debljina je kod većine populacije ipak uzrokovana poligeniskim utjecajem. Karlin i suradnici, koji su proučavali mutacije gena, ustanovili su da je promjenom na samo jednom genu moguće objasniti oko 6% debljine [24]. Promatrajući statističke modele, došlo se do zaključka da je nasljeđe odgovorno za oko 30% tjelesne mase kada se radi o oligogenском ili poligenском modelu. Osim toga, do danas je nađeno 250 gena i alela koji su povezani s debljinom i smatra se da su bitni u kodiranju proteina koji sudjeluju u unosu i potrošnji energije [25].

Iako su dokazi o ulozi nasljeđa u nastanku pretilosti vrlo jaki, geni međutim ipak ne mogu objasniti epidemijske razmjere pretilosti u posljednje vrijeme. Genetske se promjene među u populacijom ne javljaju u tako kratkom razdoblju, stoga moraju postojati drugi imbenici koji uvelike utječu na nastanak pretilosti. Mnoge su nedavne studije pokazale da upravo bihevioralni i okolišni imbenici imaju mnogo veći utjecaj na ITM nego što se ranije smatralo [26; 27]. Zapravo, najvjerojatnije je objašnjenje pojave debljine upravo interakcija više različitih gena koji povećavaju rizik za razvoj pretilosti u pojedinca i okolišnih imbenika koji omogućuju da se pretilost zaista razvije. Stoga će se pretilost najlakše razviti u osoba koje su podložne ponašanju kakvo „štedi“ energiju, a našle su se u sredini u kojoj je energetska bogata hrana brzo i jednostavno dostupna te koja ne zahtijeva tjelesnu aktivnost [28].

Promatrajući i promjene u nađinu ishrane tijekom posljednjih nekoliko generacija, primijećeno je da se tradicionalan nađin ishrane mijenja te da je tzv. brza hrana mnogo dostupnija nego ranije [29], a da u dječjem jelovniku sve više prevladavaju zaslađena jela i zaslađena gazirana pića [30]. Malika i suradnici su na najvišoj razini dokaza sustavno istražili postoji li korelacija između u prekomjerne tjelesne težine u djece i konzumacije slatkih napitaka

[31]. Ve ina studija, iako ne sve, dokazale su snažnu pozitivnu korelaciju izme u tjelesne mase i konzumacije slatkih napitaka. Isto se pokazalo i na uzorku žena [32]. Nadalje, koli ina obroka i veli ina porcije bitno su se pove ale u usporedbi s onima od prije 20-30 godina [33]. Istraživanja su pokazala da, uzmemo li u obzir pove ani unos hrane kao jedini promijenjeni imbenik, on sam uzrokuje dovoljno pove anje dnevno unesenih kalorija i posljedi no debljanje [34-37]. Promjene tradicionalnoga ina prehrane o ite su i u Hrvatskoj [38].

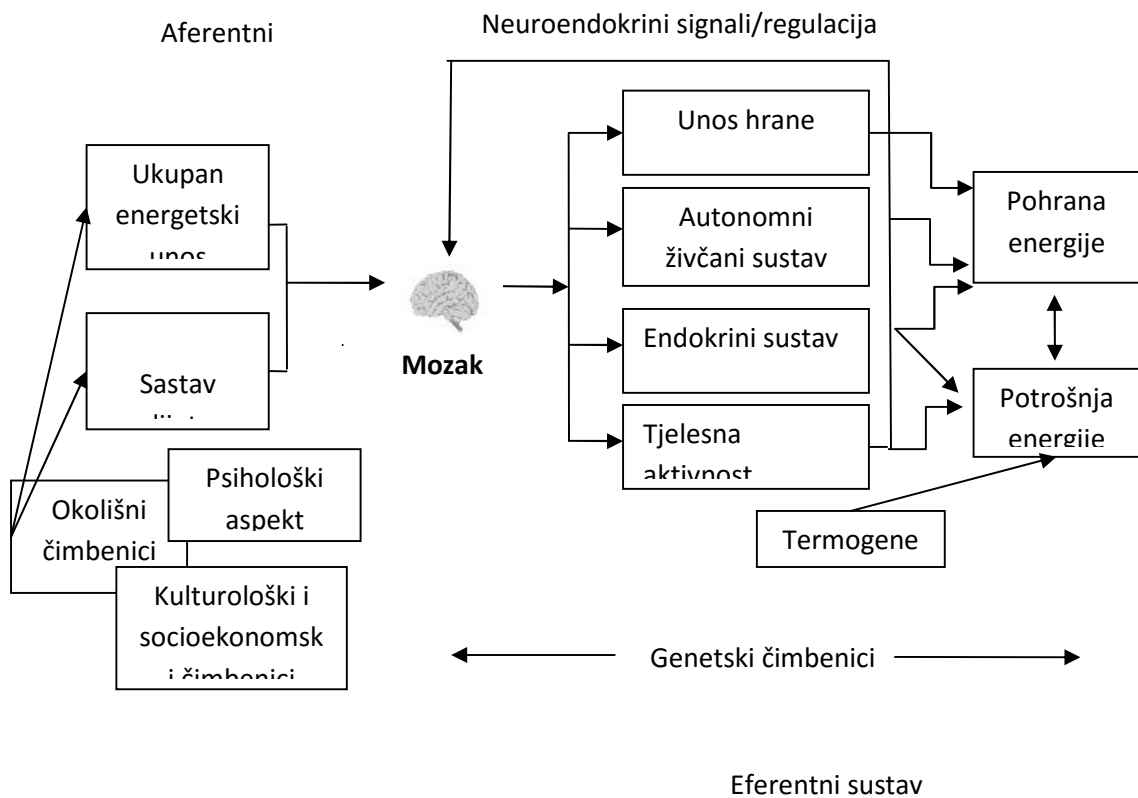
Manja tjelesna aktivnost izravno je povezana s debljinom i tako er se navodi kao važan uzrok epidemije debljine [39]. Mnoga istraživanja upu uju na to da danas više ljudi na radno mjesto ide i s njega se vra a automobilom, više je ljudi zaposleno na „sjedila kim“ radim mjestima a manje na poslovima koji zahtijevaju fizi ki rad te da sve ve i broj ljudi slobodno vrijeme provodi pred televizijskim ekranima i ra unalima, a ne bave i se slobodnim aktivnostima na otvorenome [40-42]. Weinsier ak smatra da je upravo smanjena tjelesna aktivnost glavni razlog nastale epidemije jer postoje dokazi da se unos ukupne energije, a posebno unos masti, ipak smanjuje [28].

Nadalje, psihološki, socijalni i kulturni imbenici tako er mogu utjecati na unos hrane i doprinijeti nastanku pretilosti. Konzumacija jela u pretilih je osoba više ovisna o vanjskim utjecajima nego o unutarnjem osjeaju gladi [20]. Tako izgled, oblik i miris hrane u pretilih osoba eš e pobu uju osjeaj želje za hranom nego u mršavim. S druge strane, emocionalno stanje, kao osjeaj ugone, raspoloženja, tuge, depresije i sli no, može dovesti do želje za hranom, što se naziva „emocionalno jedenje“.

Još jedna bitna komponenta za razvoj pretilosti je potrošnja, tj. izdavanje energije, odre ena metaboli kim imbenicima. U izdavanju energije sudjeluju tri osnovne komponente: metabolizam u stanju mirovanja, termogeneza zbog tjelesnog rada i termogeneza ovisna o hrani. Metabolizam u stanju mirovanja je potrošak energije u mirovanju potrebne za održavanje osnovnih fizioloških funkcija (rad srca, disanje i sli no) i održavanje tjelesne temperature. Taj je metabolizam nešto ve i nego bazalni metabolizam i iznosi 60-70% dnevnog potroška energije, a ovisan je o masi tijela, posebno nemasnog tkiva koje je metaboli ki aktivnije. Bazalni metabolizam i metabolizam u mirovanju u pretilih je osoba nešto ve i nego u osoba standardne tjelesne težine zbog pove ane mase tijela. Kada se uzme u obzir ta pove ana tjelesna masa, u pretilih je osoba potrošnja energije u mirovanju podjednaka onoj u osoba normalne tjelesne mase. Prema dostupnim dokazima, smatra se da neznatne promjene u potrošnji energije u mirovanju ne mogu bitno doprinijeti nastanku debljine [28]. Suprotno tome, termogeneza zbog tjelesnog rada, koja ini oko 30% ukupne energijske potrošnje, vrlo je promjenjiva komponenta ovisno o pojedincima i ustanovljeno je da snažno

korelira s debljinom [28]. Termogeneza zbog tjelesnog rada u prvome redu ovisi o težini rada. Izdavanje energije pri istom tjelesnom radu u pretilih je veće nego u mršavih, budući da je u pretilih povećana masa tijela. Dijetom inducirana termogeneza ovisi o vrsti makronutrijenata. Općenito, energija potrebna za probavljanje hrane iznosi oko 10% ukupno unesene energije. Ovisno o vrsti hrane, ta energija iznosi 25% za bjelanjke, 10% za ugljikohidrate te 3% za masnoće [20]. Utjecaj termogeneze inducirane hranom na nastanak debljine nije ustanovljen [28].

Od ostalih mogućih uzroka debljine navedeni su manjak sna [43], koji je proporcionalan povećanoj težini, sve opsežnija primjena psihotropnih lijekova (antidepresiva, antipsihotika) [44] te starija doba žena koje rade djecu s većim rizikom za debljinu [45]. Slika 3. prikazuje međudjelovanje različitih čimbenika važnih za nastanak debljine.



Slika 3. Čimbenici važni za nastanak debljine. Prikazano je međudjelovanje različitih čimbenika koji utječu na regulaciju potrošnje energije i tjelesne mase. Mozak integrira niz aferentnih signala (nutricijskih, metaboličkih, hormonalnih i neuroloških) i na njih odgovara poticajima i promjenama u unosu hrane, aktivnosti autonomnog živčanog sustava, hormonalnog odgovora ili spontane tjelesne aktivnosti

1.1.6 Kliničke posljedice pretilosti

U ovom poglavlju bit će riječi o kliničkim posljedicama pretilosti iji su patološki procesi opisani u poglavlju 1.1.3. Zbog povećane tjelesne težine nastaju brojne kliničke komplikacije koje smanjuju kvalitetu života, radnu sposobnost i životni vijek oboljelih. Hipokrat je još davno napisao: „Debljina nije samo bolest po sebi, debljina je i pokazatelj drugih bolesti.“ Debljina je važan predisponirajući faktor za šećernu bolest tipa 2, arterijsku hipertenziju, dislipoproteinemije, srčano-žilne bolesti, cerebrovaskularne bolesti, gastrointestinalne, degenerativne bolesti zglobova, ginekološke probleme, endokrinološke poremećaje, maligne tumore, poremećaj disanja u snu, psihološke probleme [1].

Među brojnim komorbiditetima debljine srčano-žilne bolesti i šećerna bolest tipa 2 ine se posebno važnima s obzirom na to da su vodeći uzrok smrti i invalidnosti.

Većina opsežnih epidemioloških studija ukazuje na to da je debljina intermedijarni faktor rizika nastanka srčano-žilnih oboljenja. Prospektivna longitudinalna istraživanja provedena 80-tih i 90-tih godina prošloga stoljeća, koja debljinu prepoznaju kao važan rizikni faktor za srčano oboljenja, uključuju: Studiju srca Framingham [46-49], Srčani program Honolulu [50], Parišku prospektivnu studiju [51], Istraživanje muškaraca rođenih 1913. [52], i Nurses' Health studiju [53;54].

Framinghamska studija najpoznatija je i najduža prospektivna studija koja istražuje rizike za nastanak srčano-žilnih bolesti. Studija je započela 1948. godine s 5209 odraslih ispitanika u gradu Framingham (Massachusetts, SAD), a danas u studiji sudjeluje treća generacija ispitanika. Istraživanje Framingham između ostaloga je pokazalo da je učestalost srčano-žilnih oboljenja usko povezana s porastom ITM-a u oba spola [46].

Nadalje, važni dokazi potječu iz istraživanja Nurses' Health koje je pokazalo da povećani rizik za nastanak srčano-žilnih bolesti ne postoji samo u pretilih osoba, već da se povećava kako rastu vrijednosti ITM-a unutar poželjne tjelesne mase i raste s povećanjem tjelesne mase. Najmanji rizik za razvoj srčano-žilnih bolesti imale su žene s ITM-om od 21,00 do 22,99 kg/m². Kod vrijednosti ITM-a od 23,00 do 24,99 kg/m² relativni rizik bio je veći za 50%, a kod vrijednosti ITM-a od 25,00 do 28,99 kg/m² rizik je bio dvostruko veći [53]. Prema istraživanju Nurses' Health povećanje tjelesne mase nakon osamnaeste godine ozbiljan je predznak rizika za nastanak srčano-žilnih bolesti. Ako se promjena tjelesne mase promatra kao kontinuirana varijabla, rizik za nastanak srčano-žilnih bolesti raste 3,1% za svaki dobiveni kilogram [53].

Odavno je poznata i jasna epidemiološka veza između debljine i hipertenzije [55; 56]. Najveće istraživanje koje se bavilo tom tezi klinička je studija Community Evaluation koja je obuhvatila više od milijun stanovnika [55]. Među osobama srednje dobi (od 40 do 64 godine) s povišenom tjelesnom masom, njih 50% ima veći rizik za hipertenziju u usporedbi s osobama poželjnog ITM-a. U tom su istraživanju sudionici sami klasificirali svoju tjelesnu masu, pa je za pretpostaviti da su neke osobe prekomjerne tjelesne mase sebe svrstale u skupinu normalne mase te da je povezanost između i veća nego što pokazuju rezultati studije. Povezanost hipertenzije i prekomjerne tjelesne mase uočena je i kod mlađe populacije. Daljnja su opsežnija istraživanja koristila preciznije kvantitativne mjere da bi dokazala povezanost debljine i hipertenzije. Istraživanje NHANES ocijenilo je da Amerikanci u dobi od 20 do 75 godina s ITM > 27,00 kg/m² imaju tri puta veći rizik za hipertenziju u usporedbi sa svojim sunarodnjacima normalne tjelesne mase [56]. Najveći je rizik za hipertenziju postojao među mlađom populacijom u dobi od 20 do 45 godina i bio je šest puta veći nego u osoba normalne tjelesne mase. U istraživanju Framingham i sistolički i dijastolički arterijski tlak rastao je proporcionalno povećanju tjelesne mase [48].

Istraživanje Nurses' Health pokazuje da je, osim dobne starosti, ITM glavni rizik i čimbenik za pojavu šećerne bolesti tipa 2. Rizik se povećavao s porastom ITM-a, pa su i žene prosječne tjelesne mase (ITM = 24,00 kg/m²) imale povećani rizik. U usporedbi sa ženama kojima je tjelesna masa stabilna, rizik od šećerne bolesti tipa 2 bio je dvostruko veći u žena koje su dobile od 5 do 7,9 kilograma nakon 18. godine, a trostruko veći u žena koje su dobile 8 ili više kilograma. Žene koje su pak izgubile više od 5 kilograma upola su smanjile taj rizik. Ti su rezultati dobiveni neovisno o obiteljskoj anamnezi šećerne bolesti tipa 2 [57].

Slični rezultati dobiveni su i u istraživanju NHANES – među odraslom populacijom u dobi od 20 do 75 godina rizik od šećerne bolesti tipa 2 se utrostručio [56]. Među mlađom populacijom (u dobi od 20 do 45 godina) rizik od šećerne bolesti tipa 2 bio je i četiri puta veći, a među starijom populacijom (od 45 do 75 godina) dvostruko veći ako je njihova tjelesna masa bila prekomjerna. Istraživanje NHANES pokazalo je da je relativni rizik od hiperkolesterolemije u pretilih Amerikanaca u dobi od 20 do 75 godina bio 1,5 puta veći nego u osoba normalne tjelesne mase [56]. Među mlađom populacijom (20 do 45 godina) relativni rizik od hiperkolesterolemije bio je dvostruko veći nego u osoba normalne tjelesne mase.

Novije metaanalize potvrđuju prikazane velike epidemiološke studije, čiji su rezultati većinom objavljeni između 80-tih i 90-tih godina prošlog stoljeća. Tako su Cerhan i suradnici obradili 11 prospektivnih studija koje su uključile 650.386 ispitanika da bi ustanovile neovisan u inak opsega struka na smrtnost [58]. Rezultati su pokazali da se

o ekivano trajanje života smanjuje za prosječno 3 godine u muškaraca i 5 godina u žena kada se usporede osobe s višim i nižim opsegom struka. Ustanovljena je veća povezanost opsega struka sa smrtnošću od srčanih i respiratornih bolesti nego sa smrtnošću od karcinoma.

Pretilost je nedvojbeno povezana s nizom funkcionalnih i organskih, pa i malignih bolesti gastrointestinalnog trakta: od nealkoholne masne infiltracije jetri i kolelitijaze do zloćudnih novotvorevina debelog crijeva [3; 4].

Procjenjuje se da je 20% svih slučajeva karcinoma uzrokovano debljinom [59]. U izvješću Međunarodne agencije za istraživanje karcinoma (engl. *International Agency for Research into Cancer*) i Svjetske zaklade za istraživanje karcinoma (engl. *World Cancer Research Fund*) ističe se postojanje snažnih dokaza o povezanosti debljine sa sljedećim vrstama karcinoma: karcinomom endometrija, adenokarcinomom jednjaka, rakom debelog crijeva, dojke, prostate i bubrega, dok su kao rjeđi karcinomi povezani s debljinom navedeni: leukemija, ne-Hodgkinov limfom, multipli mijelom, zloćudni melanom kože i rak štitnjače.

Osim što utječe na zdravlje, debljina pokazuje i negativan utjecaj na dugovječnost. Smrtnost naglo raste s porastom ITM-a između 27,00 i 40,00 kg/m² [60]. U osoba s tjelesnom masom koja je za 60% veća od standardne udvostručuje se poboljšavanje od svih bolesti, a smrtnost je dvostruko veća nego među ostalom populacijom. Procjenjuje se da ITM iznad 40,00 kg/m², odnosno ekstremna debljina, skraćuje o ekivano trajanje života. Pretili osobe imaju oko 20% veći rizik umiranja od osoba kojima je ITM u granicama normalnih vrijednosti [61]. Studija o o ekivanom trajanju života pri rođenju u SAD-u pokazala je da u osoba s ITM-om iznad 30,00 kg/m² svaki porast ITM-a za 1 kg/m² skraćuje o ekivano trajanje života u rasponu od 0,33 do 0,93 godine u muškaraca, odnosno od 0,30 do 0,81 godinu u žena [62].

1.1.7 Liječenje pretilosti

Promjene ponašanja iz klasične tetrade bihevioralnih rizika (posebice prehrambenih navika i tjelesne aktivnosti) osnova su svakog programa mršavljenja kojemu je cilj prevencija i redukcija metaboličkih rizika srčano-žilnih oboljenja.

Liječenje debljine temelji se na kombinaciji: a) promjene prehrane s naglaskom na redovitu uravnoteženu prehranu s umjerenim smanjenjem unosa energije, b) pojačane tjelesne aktivnosti i c) promjena u ponašanju [1; 63]. Preporuka je da se plan liječenja sastoji od dvije faze: prvotno mršavljenje s ciljem smanjenja tjelesne mase od 2 do 4 kg/mjesec, tj. gubitak od 5% do 10% početne tjelesne mase tijekom razdoblja od 6 mjeseci, te potom održavanje

postignute niže tjelesne mase u drugoj fazi [1]. Velik gubitak tjelesne mase u kratkom razdoblju nije preporucljiv. Naprotiv, tjelesnu je masu potrebno postupno gubiti tijekom duljeg razdoblja. Cilj je ste i dugotrajnu stabilnost u održavanju postignute niže tjelesne mase prije ponovnog mršavljenja. Prijevremeno ponovno mršavljenje smatra se kontraproduktivnim. Najnovija istraživanja pokazuju da smanjenje od samo 3 do 5% po etne tjelesne mase dovodi do klinički značajnih rezultata u vidu smanjenja rizika od obolijevanja od niza bolesti povezanih s debljinom [63]. Gubitak tjelesne mase od 2,5 do 5,5 kg postignut tijekom dvogodišnjeg programa mršavljenja rezultira 30 do 60% smanjenim rizikom od razvoja šećerne bolesti tipa 2. Također se pokazalo da je poboljšanje lipidnog profila ovisno o broju smanjenih kilograma; smanjenje tjelesne mase od 3 kg rezultiralo je smanjenjem koncentracije triglicerida od 0,17 mmol/L, dok je smanjenje mase od 5 do 8 kg dovelo do smanjenja koncentracije LDL-a od 0,13 mmol/L i povećanja HDL-a od 0,05-0,08 mmol/L. Opseg smanjenja tjelesne mase utjecao je i na vrijednosti arterijskoga tlaka. Tako je 5%-tno smanjenje tjelesne mase dovelo do smanjenja sistoličkog arterijskog tlaka od 3 mmHg i dijastoličkog arterijskog tlaka od 2 mmHg, dok je manje smanjenje tjelesne mase imalo neznatan i varijabilan utjecaj na arterijski tlak. AHA/ACC/TOS smjernice za menadžment prekomjerne debljine i pretilosti u odraslih Američke udruge za srce (engl. *American Heart Association*), Američkog zbora za kardiologiju (engl. *American College of Cardiology*) te Radne grupe za stručne smjernice i Društva za debljinu (engl. *Task Force on Practice Guidelines and The Obesity Society*) naglašavaju potrebu za informiranjem bolesnika o korisnim u incima smanjenja prekomjerne tjelesne mase, što posljedica dovodi do snažnije motiviranosti bolesnika za promjenu navika [63].

U liječenju debljine sudjeluje multidisciplinarni tim koji uključuje liječnika obiteljske medicine, endokrinologa (internist ili pedijatar), medicinsku sestru, psihologa i/ili psihijatra, nutricionistu-dijetetičara, kineziologa, fizijatra i fizioterapeuta, kirurga te po potrebi i druge specijalnosti, ovisno o komorbiditetima [1]. Metode i cilj smanjenja prekomjerne tjelesne mase moraju biti prilagođeni svakom bolesniku ponaosob nakon pažljive analize rizika i simptoma i općega zdravstvenog stanja bolesnika.

Sveobuhvatna strategija liječenja u svrhu smanjenja tjelesne mase i njezina održavanja obuhvaća dijetu, tjelesnu aktivnost i promjene na ina ponašanja, koje su detaljnije opisane u tekstu koji slijedi.

Promjena prehrane

Promjena prehrane s naglaskom na smanjenje unosa kalorija dio je sveobuhvatne intervencije za promjenu loših životnih navika.

Smjernice AHA/ACC/TOS daju preporuke o sastavu i strukturi dijeta za mršavljenje (sastava makronutrijenata, vrste i kvalitete ugljikohidrata i masti, nutritivne gustoće i veličine energetske deficita) te strategiji mršavljenja (primjerice dnevni broj obroka, vrijeme obroka u danu) koje se temelje na 23 od 1422 pregledana i analizirana rada [4]. Prema njihovim preporukama, za postizanje energetske deficita žene bi trebale unositi 1200-1500, a muškarci 1500-1800 kcal na dan. Ukoliko se želi procijeniti potreban unos energije za pojedinog bolesnika, potrebno je smanjenje unosa od 500 -750 kcal/dan, tj. 30% energetske deficita. Moguće su i *ad libitum* dijeta kod kojih se ne propisuje točno smanjenje unosa kalorija, već se energetske deficit postiže restrikcijom ili eliminacijom određene vrste hrane. Preporučene dijeta za koje je dokazano da povoljno djeluju na mršavljenje prikazane su u tablici 3.

AHA/ACC/TOS smjernice također navode da liječnici mogu elektroničkom poštom bolesnicima poslati programe i preporuke za smanjenje tjelesne mase. Program smanjenja tjelesne mase obično traje 12 mjeseci. Postoje i vrlo niskokalorične dijeta (< 800 kcal/dan), koje se mogu provoditi u iznimnim situacijama i samo pod strogim liječničkim nadzorom, obično uz hospitalizaciju.

Tablica 3. Dijete koje povoljno utje u na mršavljenje prema AHA/ACC/TOS smjernicama za menadžment prekomjerne tjelesne mase i debljine u odraslih

| Naziv dijete | Glavna obilježja dijete |
|---|---|
| Dijabetička dijeta* | Temelji se na skupinama namirnica te propisuje potreban unos jedinica iz određene skupine (primjerice kruh, mlijeko, meso, voće, povrće, masnoće i njihove zamjene) bez propisane restrikcije kalorija, ali uz ostvareni energetske deficit |
| Visokoproteinska dijeta | Dijeta s 25% udjela energije iz bjelančevina, 30% iz masti, 45% iz ugljikohidrata, uz određene namirnice koje ostvaruje energetske deficit |
| Visokoproteinska „Zona“ dijeta | Dijeta s 5 obroka na dan, svaki 30% udjela energije iz bjelančevina, 30% iz masti i 40% iz ugljikohidrata, bez propisane restrikcije kalorija, ali uz ostvareni energetske deficit |
| Laktoovo-vegetarijanska dijeta | Laktoovo-vegetarijanska dijeta (od životinjskih proteina zastupljeni su jaja, mlijeko i mliječni proizvodi) uz energetske restrikciju |
| Redukcijska dijeta | Niskoenergetska dijeta uz točno određenu restrikciju kalorija |
| Dijeta s niskim udjelom ugljikohidrata | Dijeta s < 20 g/dan ugljikohidrata, bez propisane restrikcije kalorija, ali uz ostvareni energetske deficit |
| Niskomasna vegan dijeta | Dijeta s 10 do 20% udjela energije iz masti, bez točno određene restrikcije kalorija, ali uz ostvareni energetske deficit |
| Niskomasna dijeta | Dijeta s 20% udjela energije iz masti, bez propisane restrikcije kalorija, ali uz ostvareni energetske deficit |
| Dijeta niskog glikemijskog indeksa | Konzumacija hrane s niskim glikemijskim indeksom, uz propisanu restrikciju kalorija ili bez nje |
| Niskomasna mliječna dijeta | Dijeta s ≤ 30% udjela energije iz masti i većim unosom mlijeka i mliječnih proizvoda (4 serviranja/na dan), s ili bez povećanog unosa vlakana i/ili namirnica niskog glikemijskog indeksa uz propisanu restrikciju kalorija |
| Dijeta temeljena na makronutrijentima | Dijeta s 15 do 25% udjela energije iz proteina, 20 do 40% udjela iz masti, 35, 45, 55 ili 65% udjela iz ugljikohidrata uz propisanu energetske restrikciju |
| Mediterranska dijeta | Mediterranska dijeta uz propisanu energetske restrikciju |
| Dijeta s umjerenim unosom bjelančevina | Dijeta s 12% udjela energije iz bjelančevina, 58% iz ugljikohidrata i 30% iz masti, uz određene namirnice koje ostvaruje energetske deficit |
| Step 1 dijeta* | Propisana restrikcija energije od 1500 do 1800 kcal/dan uz < 30% udjela energije iz < 10% zasićenih masti |
| Dijeta temeljena na glikemijskom indeksu | Dijeta s unosom namirnica visokog ili niskog glikemijskog indeksa uz propisanu energetske restrikciju |

* Prema smjernicama Europske udruge za istraživanje dijabetesa (engl. *European Association for the Study of Diabetes, EASD*)

**Prema smjernicama Američke udruge za srce (engl. *American Heart Association, AHA*)

Tjelesna aktivnost

Programi mršavljenja koji se temelje na sveobuhvatnoj intervenciji za promjenu loših životnih navika obično preporučuju aerobnu tjelesnu aktivnost (primjerice brzi hod ili vožnja biciklom) u trajanju od 150 min/tjedan (što odgovara 30 min/dan). U svrhu održavanja postignute niže tjelesne mase ili dugoročno sprečavanja ponovnog debljanja nakon više od godinu dana preporučuje se tjelesna aktivnost većeg intenziteta od 200 do 399 min/tjedan. Istraživanja koja su uspoređivala u inak same dijetete ili tjelesne aktivnosti i dijetete u kombinaciji s tjelesnom aktivnošću ukazala su na to da je njihova kombinacija dala najbolje rezultate. Sustavan pregled takvih istraživanja pokazao je da su intervencije koje su se temeljile samo na dijeti dovele do gubitka od 6,7 kg nakon šest mjeseci te 3,8 kg nakon dvanaest mjeseci. Ispitanici koji su samo povećali tjelesnu aktivnost izgubili su 2,2 kg nakon šest mjeseci te 2,0 kg nakon 12 mjeseci, dok su ispitanici čiji program mršavljenja je uključivao dijetu i tjelesnu aktivnost, izgubili 10,9 kg nakon šest mjeseci i 6,5 kg nakon dvanaest mjeseci [64]. Drugi sustavan pregled pokazao je da je kombinacija dijetete i tjelesne aktivnosti dovela do 20% većeg smanjenja tjelesne mase kako početno tako i nakon godinu dana [65]. Avenell i suradnici su pokazali da je uključivanje tjelesne aktivnosti u programe mršavljenja dovelo do većeg gubitka tjelesne mase te do boljih vrijednosti HDL-a, triglicerida i arterijskog tlaka [66]. Sustavan pregled Cochrane kolaboracije prikazao je slične rezultate; uključivanje samo tjelesne aktivnosti u program mršavljenja rezultiralo je malenim smanjenjem tjelesne mase te, u usporedbi s programom bez ikakve intervencije, nije bilo značajnu razliku. Nasuprot tome, tjelesna aktivnost u kombinaciji s dijetom dovela je do većeg smanjenja tjelesne mase nego sama dijeta, a povećanje intenziteta tjelesne aktivnosti povećalo je i gubitak tjelesne mase. Uključivanje tjelesne aktivnosti dovelo je i do poboljšanja drugih mjerenih ishoda, poput lipida u krvi, arterijskoga tlaka i glukoze u plazmi. Sama tjelesna aktivnost rezultirala je smanjenjem dijastoličkog arterijskog tlaka od 2 mmHg, triglicerida od 0,2 mmol/L i glukoze na tašte od 0,2 mmol/L [67].

Promjene u ponašanju (bihevioralna terapija)

Sveobuhvatne intervencije za promjenu loših životnih navika zahtijevaju strukturirani program promjene ponašanja, tj. bihevioralnu terapiju. Bihevioralna se terapija može provoditi grupno ili pojedinačno, a obično je provodi zdravstveni tim u kojem su psiholog ili psihijatar, nutricionist-dijetetičar i liječnik. Bihevioralni pristup pretilosti temelji se na

prevladavanju psiholoških prepreka za usvajanje i primjenu u inkovitim ponašanja u kontroli tjelesne mase te mu je cilj usvajanje vještina koje e dovesti do zdravije tjelesne mase. Bihevioralni pristup pretilosti karakteriziraju sljede e ključne komponente: postavljanje realnog cilja, samomotrenje i vještine rješavanja problema. Samomotrenje se provodi tako da osoba bilježi svu unesenu hranu i pi e, tjelesnu aktivnost i tjelesnu masu. Bilježenje unesene hrane i pi a te tjelesne aktivnosti provodi se svakodnevno, dok se samomotrenje tjelesne mase preporu a najmanje jedan put na tjedan [63]. Bihevioralnim tretmanom osoba postupno prepoznaje obrazac nezdravih navika hranjenja te ih s pomo u razli itih bihevioralnih tehnika postupno zamjenjuje primjerenijima. Da bi tretman bio u inkovitiji, potrebno je raditi ne samo na promjeni ponašanja nego i na spoznaji (kogniciji). Stoga danas bihevioralno-kognitivna terapija zamjenjuje bihevioralnu. Kognitivno restrukturiranje pomaže u prepoznavanju i mijenjanju disfunkcionalnih stavova i misli o regulaciji tjelesne mase, ali i slici tijela, te se radi na prihva anju i primjerenom vrednovanju postignutog gubitka mase. Cilj bihevioralno-kognitivnog lije enja debljine je svesti porast tjelesne mase, koji obi no slijedi nakon njezina gubitka, na minimum , tako da se prevladaju psihološke prepreke usvajanju u inkovitim ponašanja u kontroli tjelesne mase. Bihevioralni tretmani pretilosti u kombinaciji s niskokalori nom dijetom obi no dovode do prosje nog gubitka od 8 do 10% po etne tjelesne težine, u razdoblju od 6 mjeseci od po etka tretmana [68].

Farmakoterapija

Farmakoterapija je indicirana u pretilih bolesnika iji je ITM $> 30 \text{ kg/m}^2$, ali i kod bolesnika s pove anom tjelesnom masom (ITM $> 27 \text{ kg/m}^2$) koja je pra ena drugim bolestima. Farmakoterapija se propisuje i bolesnicima kod kojih nefarmakološke mjere nisu pokazale zadovoljavaju e rezultate, odnosno ako nije postignuto smanjenje tjelesne mase za najmanje 5% u vremenskom razdoblju od tri mjeseca ili 10% u vremenskom razdoblju od šest mjeseci. Uzimanje lijekova za smanjenje tjelesne mase treba zapo eti odmah u bolesnika iji je ITM $> 35 \text{ kg/m}^2$, u onih sa smanjenom pokretljivoš u te u bolesnika kod kojih su prethodne nefarmakološke mjere bile neuspješne. U usporedbi s dostupnom terapijom u lije enju kroni nih bolesti poput hipertenzije i hiperlipidemije, terapijske mogu nosti u lije enju pretilosti nisu dosegle takav uspjeh. U Republici Hrvatskoj je od lijekova danas registriran samo orlistat [1], dok je registracija za sibutramin unutar Europske unije suspendirana, a temeljeno na izvještaju Europske agencije za lijekove (engl. *European Medicines Agency*, EMA) i velike klini ke studije SCOUT (engl. *Sibutramine Cardiovascular OUTcomes*) [69].

Orlistat se ubraja u farmakoterapijsku skupinu lijekova protiv pretilosti s perifernim djelovanjem, ATK oznake A08AB01. Potentan je specifičan inhibitor gastrointestinalne lipaze dugog djelovanja. Njegovo terapijsko djelovanje odvija se u lumenu želuca i tankom crijevu gdje stvara kovalentne veze s aktivnim serinskim mjestom gastričnih i gušteračnih lipaza. Inaktivni enzim stoga nije raspoloživ za hidrolizu prehranbene masti odnosno triglicerida u slobodne masne kiseline i monogliceride koji bi se mogli apsorbirati.

Podaci iz četverogodišnjeg kliničkog istraživanja XENDOS pokazali su da je 21% bolesnika liječenih orlistatom i 10% bolesnika liječenih placebom izgubilo 10% tjelesne mase, uz srednju razliku u gubitku mase između te dvije grupe od 2,7 kg [70].

Što se alternativnih metoda liječenja tiče, trenutno ne postoje kvalitetne studije koje bi potvrdile dugotrajnu učinkovitost dodatka prehrani, akupunkture i hipnoze [1].

Ako se sa svim dosad navedenim načinima liječenja tijekom duljeg vremenskog razdoblja ne uspije postići ITM < 35 kg/m², potrebno je razmotriti mogućnost primjene kirurškog liječenja pretilosti [1].

Kirurško liječenje

Za bolesnike koji imaju ITM > 40 kg/m² ili > 35 kg/m² uz bolesti koje su povezane s pretilošću, a motivirani su za smanjenje tjelesne težine, ali dijetom, tjelesnom aktivnošću i farmakoterapijom nije postignuta ciljna tjelesna masa, terapijska opcija je barijatrijska kirurgija. Prilikom izbora barijatrijske kirurgije za liječenje pretilosti potrebno je uzeti u obzir i ostale kliničke rizika kao što su dob, druga stanja povezana s pretilošću, rizik od kratkoročnih i dugoročnih komplikacija te psihološke i psihosocijalne kliničke kliničke.

Postoje različiti tipovi kirurških zahvata kojima se liječi debljina, od jednostavnih kao što je laparoskopsko podvezivanje želuca podesivom želudnom vrpcom do složenih koji kombiniraju djelomično odstranjenje želuca i njegovo premošćivanje (*bypass*). Tim se postupcima mijenja anatomija gastrointestinalnog trakta i posljedično smanjuje ukupan kalorijski unos. Gubitak tjelesne mase nakon kirurškoga zahvata dostiže svoj maksimum nakon 18-24 mjeseca, a, ovisno o vrsti zahvata, kreće se od 20 do 50 kg, odnosno u rasponu od 47 do čak 70% prekomjerne tjelesne težine. Operativni mortalitet povezan s barijatrijskom kirurgijom iznosi od 0.1 do 2.0%. Kliničke kliničke koji doprinose povećanoj smrtnosti su nedovoljno iskustvo kirurga, dob bolesnika, muški spol, ekstremna pretilost – ITM > 50, pridružene bolesti. Perioperativne komplikacije su plućna tromboembolija, popuštanje šavova, infekcija rane, krvarenje, hernije, opstrukcija tankoga crijeva. Postoperativne

gastrointestinalne komplikacije su mu nina i povra anje, posebno nakon brzog unosa ve e koli ine hrane, dumping sindrom te nedostatak vitamina i minerala što iziskuje redovitu kontrolu i nadoknadu željeza, kalcija, folata, vitamina B12 te vitamina topivih u mastima.

1.2 MEDITERANSKA DIJETA

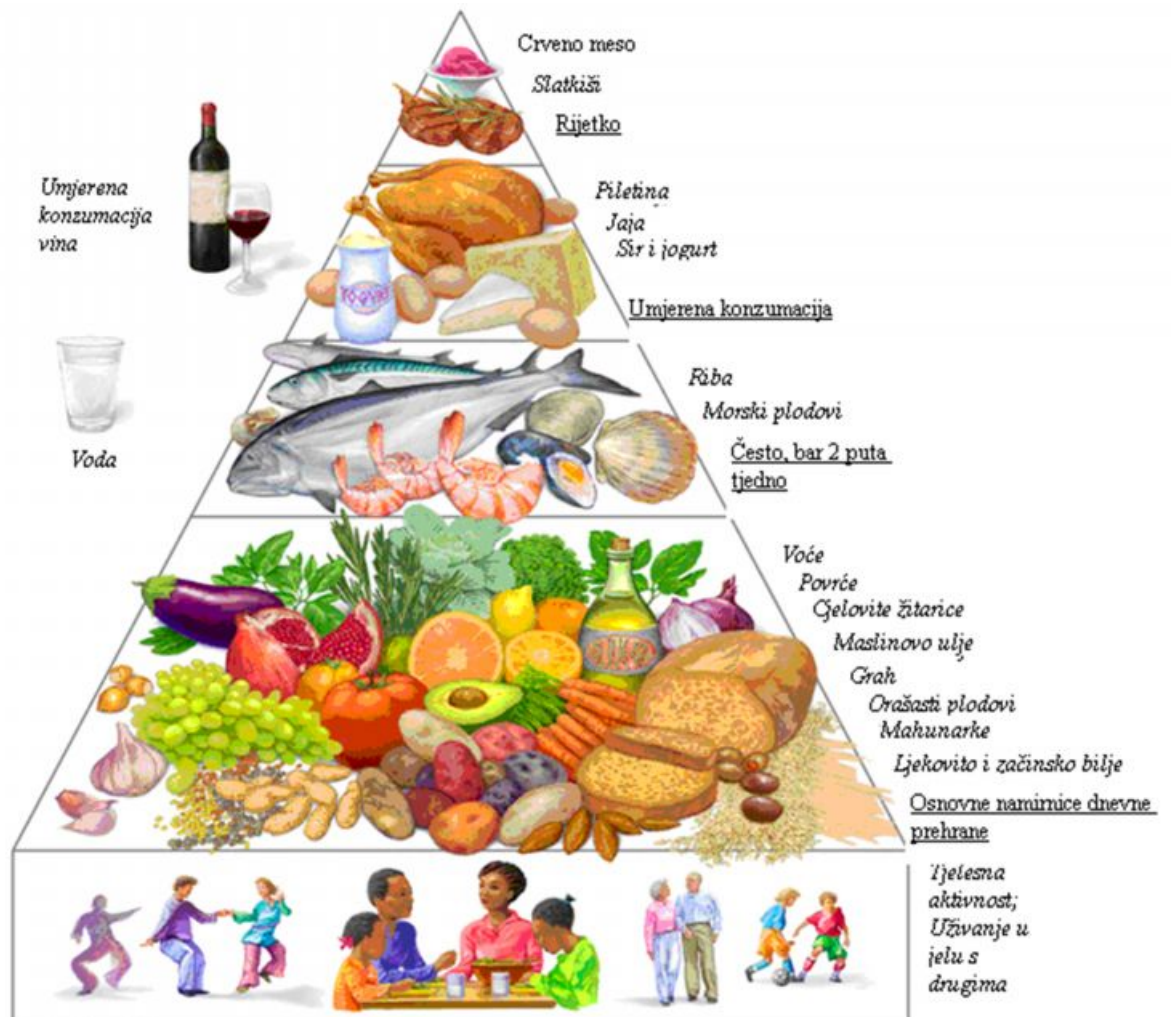
Mediteransku prehranu odlikuje nutricionisti ki model koji se na podru ju Sredozemlja sa uvaio stolje ima. Postoje velike razlike u shva anju pojma mediteranske prehrane, ovisno o socijalnim, geopoliti kim i ekonomskim razlikama izme u zemalja koje spadaju u mediteransko podru je.

Zanimanje za izu avanje mediteranske dijete pojavilo se polovinom prošloga stolje a kada je na njezine dobrobiti prvi put ukazao Ancel Keys. Nakon što su objavljeni rezultati njegove pionirske epidemiološke studije, tzv. Studije sedam zemalja, uslijedio je niz istraživanja. Studija sedam zemalja dokazala je svojevrtan paradoks jer je me u stanovnicama Sredozemlja, iako su obilno konzumirali masno e te unato lošoj ili nepostoj o medicinskoj skrbi, u ustalost sr ano-žilnih bolesti i smrtnosti bila manja nego kod recimo stanovnika Sjedinjenih Ameri kih Država koji su konzumirali iste koli ine masno a [71].

Mediteranska je prehrana postala op eprihva ena i to nije definirana 1990-ih godina, a opisana je kao „model prehrane tipi an za Kretu i ostatak Gr ke te južnu Italiju do ranih 1960-ih godina, koja uz redovitu tjelesnu aktivnost podrazumijeva obilne koli ine hrane biljnoga podrijetla, svježe vo e kao dnevni desert, maslinovo ulje kao osnovni izvor masno a, mlije ne proizvode (uglavnom sir i jogurt) te malu do umjerenu konzumaciju ribe, peradi i vina, od nijednog do najviše etiri jajeta na tjedan te malu koli inu crvenog mesa” [72].

Danas je sastav mediteranske prehrane vrlo precizno odre en, a slikovito je prikazan piramidom (slika 3). Odlikuje se dnevnom konzumacijom cjelovitih žitarica i povr a (2-3 serviranja/dan), vo a (4-6 serviranja/dan), maslinova ulja kao glavnog oblika masno e, nemasnih ili niskomasnih mlije nih proizvoda; tjednom konzumacijom krumpira (4-5 serviranja/tjedan), ribe (4-5 serviranja/tjedan), maslina, mahunarki i orašastih plodova (> 4 serviranja/tjedan), rje e konzumacije piletine (1-3 serviranja/tjedan), jaja i slatkiša (1-3 serviranja/tjedan); mjese nom konzumacijom crvenog mesa i mesnih proizvoda (4-5 serviranja/mjesec). Tako er je karakteristi na umjerena konzumacija alkohola, pretežno vina (1-2 aše na dan uz jelo) i visok omjer mononezasi enih i zasi enih masnih kiselina [73-75]. Iako je konzumacija mlijeka umjerena, konzumacija sira i jogurta relativno je visoka. Feta sir

se redovito dodaje salatama i povrtnim kuhanim jelima [75]. Ukupan udio masti u ovakvoj prehrani iznosi 25 do 35% ukupnih kalorija (nekada i do 40%) [76; 77], od čega na zasićene masne otpada tek 8% kalorija [72].



Slika 4. Piramida mediteranskog načina prehrane; prilagođeno prema www.oldwayspt.org

Mediterranski način života uključuje i tjelesnu aktivnost, što je istaknuto uvođenjem tjelesne aktivnosti u piramidu mediteranske dijeta. Kombinacijom dijeta i tjelesne aktivnosti postiže se sinergistički učinak, što dovodi do većeg smanjenja tjelesne mase u odnosu na to kada se primjenjuju samo dijeta ili tjelesna aktivnost [78].

Tijekom nekoliko desetljeća istraživanja mediteranske prehrane znanstvenici su pokušavali otkriti glavnu komponentu zaslužnu za dobrobiti koje se pripisuju ovom načinu ishrane. Na početku je naglašavana niska zastupljenost zasićenih masnih kiselina i maslinovo ulje kao glavni izvor masnoća. Stoga je niska smrtnost od srčano-žilnih bolesti, primijećena u epidemiološkim studijama, bila objašnjena pozitivnim učinkom mediteranske dijeta na lipidni

profil. Ipak, noviji dokazi upućuju na važnost namirnica biljnoga podrijetla zbog antioksidansa i omega-3-masnih kiselina koje sadrže. Tako je već prva klinička studija koja je dokazala zdravstvene dobrobiti mediteranske dijeta, The Lyon Diet Heart Study, pretpostavila da ključnu komponentu čini nužno maslinovo ulje, već namirnice bogate antioksidansima, koje uključuju voće, povrće i njihove prerađevine (primjerice ocat), te riba bogata omega-3-masnim kiselinama, pa čak i suncokretovo ulje [79; 80]. Ipak, danas se smatra da je upravo međudjelovanje svih komponenti mediteranske prehrane, uključujući i način života, ključno za njezine dobrobiti. Ova hipoteza dobro se uklapa u današnju paradigmu nutricionističke epidemiologije koja proučava dijetu u cjelini, a ne njezine zasebne nutrijente i sastojke [81], a što se temelji na spoznaji da sastojci hrane mogu imati međusobno sinergističko ili antagonističko djelovanje kada se konzumiraju u kombinaciji.

1.2.1 Komponente mediteranske prehrane

Voće i povrće

Povećan unos voća i povrća preporuka je mnogih javnozdravstvenih akcija i važna je mjera u smanjenju rizika od srčano-žilnih bolesti. Voće i povrće su glavni izvor vitamina, minerala, vlakana, vode i antioksidansa, a relativno su siromašni kalorijama. Svakodnevna konzumacija voća i povrća dovodi do nakupljanja nitrata, nitrita, dušik (II)-oksida, nezasićenih masnih kiselina i polifenola, koji svi sudjeluju u obrani od oksidativnog stresa, a dokazana je i njihova učinkovitost u sprečavanju infarkta miokarda [82]. Voće i povrće kao bogat izvor antioksidansa sadrže vitamine C i E, flavonoide, karotenoide i sl. U vodi topiv vitamin C i u masti topiv vitamin E, koji imaju dokazano antioksidativno djelovanje kojim povoljno utječu na imunski sustav, štite od negativnog utjecaja slobodnih radikala i imaju ulogu u sprečavanju procesa ateroskleroze. Osim vitamina, od tvari prisutnih u voću i povrću antioksidativno djelovanje imaju i karotenoidi kao što su likopen, beta-karoten i lutein. Crveni pigment likopen prisutan je u različitim crvenom voću i povrću, posebice u rajčici koju se preporuča termički obraditi zbog maksimalnog iskorištavanja likopena. Istraživanja su pokazala da ekstrakt rajčice te dodaci prehrani koji sadrže likopen povoljno utječu na hipertenziju i srčano-žilne bolesti te štite kožu od ultraljubičastih zraka [83]. Sanchez-Moreno i suradnici na uzorku zdravih ispitanika dokazali su da konzumacija gazpacha, tipično španjolske hladne juhe od rajčice, smanjuje F₂-izoprostan, biljeg oksidativnog stresa, a povećava koncentraciju vitamina C u plazmi [84].

Nadalje, povr e iz porodice krstašica (lat. *Brassicaceae*), kao što su primjerice kupus, kelj, brokula i cvjeta a, ima protektivnu ulogu u razvoju karcinoma, što se pripisuje relativno visokom sadržaju glukozinolata. Glukozinolati i njihovi razgradni produkti zanimljivi su zbog svojih nutritivnih i antinutritivnih svojstava te antikancerogenih svojstava, a povr u daju karakteristi nu aromu [85; 86]. Mehanizam njihova djelovanja još uvijek nije u potpunosti poznat, ali rezultati istraživanja pokazuju da glukozinolati i njihovi razgradni produkti modificiraju aktivnost enzima Faze I i Faze II koji predstavljaju prvu obrambenu liniju ljudskog organizma od kancerogenih tvari. Za razliku od vitamina C, vitamina E, polifenola i karotenoida, koji neutraliziraju slobodne radikale, pa se ubrajaju u direktne antioksidanse, glukozinolati i njihovi razgradni produkti se zbog djelovanja na enzime Faze I i Faze II smatraju indirektnim antioksidansima [87]. Osim toga, inhibiraju rast stanica tumora i stimuliraju apoptozu [88].

Vo e i povr e zastupljeno u mediteranskoj prehrani sadrži još mnoge bioaktivne tvari s antioksidativnim svojstvom, a me u njima su: organosumporne tvari (alicin) koje se nalaze u ešnjaku, luku i poriluku; flavonoidi (kvercetin, kemferol, katehin) u jabukama, zelenoj salati i bobi astom vo u; te izoflavoni (genistein, daidzein) u mahnarkama [89].

Maslinovo ulje

Prema ve re enom, maslinovo ulje (*Olea europea*) ima iznimnu važnost u mediteranskoj prehrani, pa ne udi što je njegov utjecaj na zdravlje uvelike istraživan. Dugo se smatralo da maslinovo ulje svoj blagotvoran u inak na zdravlje srca i krvnih žila duguje isklju ivo povoljnom profilu masnih kiselina koje sadrži. Ono je bogato jednostruko i višestruko nezasi enim masnim kiselinama, od kojih je najzastupljenija oleinska kiselina iz obitelji jednostruko nezasi enih masnih kiselina, kojoj se pripisuju antiatrogena svojstva. Danas dostupni dokazi me utim upu uju na važnost razli itih mikronutrijenata kojima maslinovo ulje tako er obiluje, od kojih neki posjeduju antioksidativna svojstva [90]. Me u zastupljene tvari s antioksidativnim svojstvima spadaju fenoli (najzna ajniji oleuropein i hiroksitirozol), vitamin E, karotenoidi i klorofil. Smatra se da fenoli doprinose zdravstvenim dobrobitima maslinova ulja; oni smanjuju rizik od bolesti srca i krvnih žila i upalu povezanu s procesom ateroskleroze, pa se stoga ini primjerena preporuka maslinova ulja bolesnicima u svim stadijima ateroskleroze [91]. Prisutnost fenola u maslinovu ulju vezana je za proces ekstrakcije ulja. Ekstra djevi ansko maslinovo ulje dobiva se jednostavnim prešanjem i filtriranjem zdravih maslina pri emu sadržaj blagotvornih sastojaka ostaje maksimalno

o uvan, pa je takvo ulje bogato fitosterolima i antioksidansima. Kod rafinirana maslinova ulja polifenoli su izgubljeni tijekom procesa prerade, pa zbog njihova smanjenog sadržaja takvo ulje ima smanjeni antioksidativnog potencijal, iako je sadržaj masnih kiselina podjednak onome u ekstra djevi anskom maslinovu ulju [92; 93]. U *in vitro* [94; 95] i životinjskim modelima [96; 97] fenoli iz maslinova ulja su, ovisno o dozi, spre avali oksidaciju lipida. I sama oleinska kiselina ima sposobnost spre avanja *in vitro* LDL oksidacije [98]. Antioksidativno djelovanje maslinova ulja povoljno utje e i na arterijski krvni tlak, vrijednosti lipida u krvi, poboljšava tijekom še erne bolesti tipa 2 i smanjuje rizik od tromboze [83]. Istraživanja su pokazala da je konzumacija maslinova ulja povezana sa smanjenim rizikom od sr ano-žilnih bolesti i smanjenim rizikom od karcinoma [99; 100]. Temeljem metaanalize 19 opservacijskih studija na 13.800 ispitanika podvrgnutih konzumaciji maslinova ulja i 23.340 kontrolna ispitanika ustanovljeno je da konzumacija maslinova ulja smanjuje vjerojatnost pojave karcinoma za 34% [101]. Najve a opservacijska studija koja je prou avala utjecaj maslinova ulja na pojavnost bolesti srca i krvnih žila, EPICOR, ra ena je u Italiji na uzorku od 29.686 žena koje su pra ene 7,85 godina [102]. Na eno je bitno smanjenje rizika od sr ano-žilnih bolesti me u onim ispitanicama koje su konzumirali najviše maslinova ulja (više od 31.2 g/dan).

Orašasti plodovi

Epidemiološki dokazi u prilog kardioprotektivnog djelovanja orašastih plodova vrlo su dosljedni. Tri velika kohortna istraživanja, Iowa Women's Health Study [103], Nurses' Health Study [104] i Physician's Health Study [105], ukazala su na vezu izme u redovite konzumacije orašastih plodova i smanjenog rizika za pojavu sr ano-žilnih bolesti, iako svi rezultati nisu bili statisti ki zna ajni. Nekoliko manjih randomiziranih klini kih studija (< 50 ispitanika) koje su ispitivale dijete oboga ene orašastim plodovima, ve inom bademima i orasima, dokazalo je smanjenje ukupnog kolesterola i LDL-a [106], dok u inci na HDL nisu pokazali dosljedne rezultate. Najvažniji dokazi u prilog konzumaciji orašastih plodova i njihova povoljnog u inaka na smanjenje rizika od sr ano-žilnih oboljenja potje u iz studije PREDIMED [107]. Na uzorku od 7216 ispitanika s visokim rizikom za nastanak sr ano-žilnih bolesti randomiziranih u jednu od tri skupine (mediteransku dijetu uz dodatak maslinova ulja, mediteransku dijetu uz dodatak orašastih plodova i kontrolnu niskomasnu dijetu), pra enih tijekom 4,8 godina, pokazalo se da je skupina na mediteranskoj dijeti uz dodatak orašastih plodova imala 39% manji rizik od smrtnosti u usporedbi s ispitanicima koji nisu konzumirali

orašaste plodove [107]. Orašastim plodovima se prvenstveno pripisuje protuupalno i vazodilatacijsko djelovanje, a mogu e i antioksidativno djelovanje. Lopez-Uriarte i suradnici pokazali su da je svakodnevna konzumacija 30 g orašastih plodova tijekom 12 tjedana dovela da smanjenog oksidativnog ošte enja DNA, ali nije utjecala na oksidaciju LDL estica, antioksidativni kapacitet plazme, konjugaciju diena i koncentraciju 8-izoprostana u urinu [108].

Orasi, bademi, lješnjaci i drugi orašasti plodovi, primjerice pinjoli, uobi ajeni su dio mediteranske dijete zbog njihove prisutnosti na tom podru ju. Uz visok udio jednostruko nezasi enih masnih kiselina, pretežno oleinske kiseline, te višestruko nezasi enih masnih kiselina (linolne i alfa-linolenske kiseline) u orasima, orašasti plodovi imaju visok sadržaj vlakana (od 5 do 9%) te su dobar izvor kalija, arginina, vitamina E i drugih bioaktivnih komponenti. Smatra se da je njihov jedinstven sastav zaslužan za opažene povoljne uinke u opservacijskim i klini kim studijama. Nasuprot tome, visok udio masti u orašastim plodovima dugo je izazivao sumnju u mogu e preporuke orašastih plodova pretilim bolesnicima. Ipak, istraživanja su pokazala da dijete bogate jednostruko nezasi enim masnim kiselinama nemaju utjecaja na debljanje [109] te da mogu biti korištene u programima mršavljenja [110;111].

Riba

Riba je namirnica gotovo idealnoga nutritivnog sastava. Bogata je esencijalnim masnim kiselinama i visokovrijednim proteinima. Masne kiseline koje sadrži riblje meso uglavnom su nezasi ene, a uklju uju i esencijalne masne kiseline koje se u organizmu ne mogu sintetizirati, ali su prijeko potrebne za održavanje dobrog zdravlja [112; 113]. Dvije glavne omega-3 višestruko nezasi ene masne kiseline iz ribe su eikozapentaenska i dokozaheksaenska. Studije koje su ispitivale u inak pripravaka koji sadrže omega-3 masne kiseline, za razliku od studija koje su ispitivale konzumaciju same ribe, dale su dosljednije rezultate. Tako je dokazano da u bolesnika s povišenim trigliceridima, u dozama od 2 do 4 grama na dan, omega-3 masne kiseline snižavaju trigliceride za 25 do 30%. Isto tako, omega-3 masne kiseline u dozi od 1 gram na dan u bolesnika s preboljenim infarktom miokarda zna ajno smanjuju ukupnu smrtnost i rizik od iznenadne smrti zbog aritmije [114]. Metaanaliza sedamnaest kohortnih studija pokazala je da su niska (1 serviranje ribe/tjedan) ili umjerena (2-4 serviranja/tjedan) konzumacija ribe imale povoljan uinak na smanjenje mortaliteta od sr ano žilnih bolesti [115].

Alkohol

U ve ini se mediteranskih zemlja vino konzumira umjereno, pretežito uz obrok. Istraživanja su pokazala da umjerena konzumacija vina pove a antioksidativni u inak mediteranske dijete i smanjuje oksidativno ošte enje [116]. Istraživanje parova, provedeno u dijelu južne Hrvatske gdje je konzumacija alkohola visoko zastupljena, pokazalo je da je umjerena konzumacija alkohola bila zaštitni imbenik za infarkt miokarda s omjerom izgleda 0.63 [117]. Vino, posebice crveno, sadrži razli ite fitonutrijente, me u kojima su i polifenoli s antioksidativnim djelovanjem. Njihovo antioksidativno djelovanje ima zaštitni utjecaj na oksidaciju LDL-a i drugih ciljnih molekula u procesu oksidativnog stresa. Fenoli iz crnog vina, naro ito resveratrol kojeg, osim u crnom vinu, ima mnogo i u kožici boba grož a (ne i u mesu), smanjuje oksidaciju LDL- estica, a time i njihovu aterogenost, djeluje protuupalno i smanjuje agregaciju trombocita, što sve pridonosi mogu im protuateroskleroti kim u incima. Mehanizam djelovanja resveratrola o ituje se na više razina: djeluje na stani nu signalizaciju, apoptozu, ekspresiju gena i enzimske putove [83]. Velik dio zaštitnih u inaka vina pripisuje se i povišenju zaštitnog HDL-kolesterola [118; 119]. Istraživanja su tako er pokazala da konzumacija vina pove a udio višestruko nezasi enih masnih kiselina, omega-3 masnih kiselina te omjer omega-3/omega-6 masnih kiselina [120].

1.2.2 Dokazi o učincima mediteranske dijete

Do danas je objavljeno mnogo dokaza velikih epidemioloških studija, randomiziranih klini kih studija te metaanaliza o djelovanju mediteranske dijete. Prvotno je nekoliko manjih opažajnih (opservacijskih) studija ukazalo na negativnu povezanost mediteranske dijete s ukupnom smrtnoš u u starijoj populaciji [76; 121]. Potom je veliko opservacijsko istraživanje u Gr koj (EPIC kohortna studija), koje je uklju ivalo 22.000 ispitanika, pokazalo da je ve i stupanj pridržavanja mediteranske dijete povezan sa smanjenom ukupnom smrtnoš u, i to posebno sa smrtnoš u od sr ano-žilnih bolesti. Sli ni su rezultati proizišli iz HALE kohortne studije koja je uklju ivala zdrave osobe u dobi od 70-90 godina [122] te iz dvaju velikih kohortnih istraživanja provedenih u Sjedinjenim Ameri kim Državama; NIH-AARP studija [123] i Nurses Health Study [124]. Dva su istraživanja parova (engl. *case-control study*) tako er dokazala negativnu povezanost izme u pridržavanja mediteranske dijete i pojavnosti ne-fatalnih koronarnih doga aja [125; 126]. Metaanaliza koja je uklju ila 12 kohortnih studija

s ukupno 1.574.299 ispitanika pratećih u vremenskom razdoblju od 3 do 18 godina potvrdila je rezultate pojedinačnih studija i pokazala da je već pridržavanje mediteranske dijeta povezano sa smanjenom ukupnom smrtnošću, smrtnošću od srčano-žilnih oboljenja te, dodatno, pojave i smrtnosti od zloćudnih bolesti, i pojave Alzheimerove i Parkinsonove bolesti [127; 128].

Ovi važni dokazi koji su ukazali na vezu mediteranske dijeta sa smanjenom smrtnošću i pojavom najčešćih kroničnih oboljenja potaknuli su randomizirane kliničke studije da bi se našli jači dokazi o njezinu pozitivnom učinku. Prva od njih, Lyon Heart Study, provedena je u Francuskoj 90-ih godina prošloga stoljeća, a uspoređivala je u inak modificirane mediteranske dijeta (obogaćene ω -linolenskom kiselinom, a ne maslinovim uljem) s u inkom kontrolne dijeta na smanjenje srčano-žilnih događaja i smrtnost od srčano-žilnih oboljenja [80]. Studija je došla do dojmljivih rezultata: smanjenje rizika od ponovnog infarkta miokarda i smrtnosti od srčano-žilnih bolesti od čak 50-60% tijekom četverogodišnjeg praćenja [80]. Rezultati su se činili „predobrima da bi bili istiniti“ i mnogi su metodološki aspekti studije doživjeli kritike znanstvene i stručne javnosti. Primjerice, procjena prehrane na početku i na kraju studije je bila dostupna samo za manju podskupinu (30% kontrolne grupe i 50% eksperimentalne grupe), stoga je konzumirana dijeta svih ispitanika uključujući u studiju bila nepoznata [129]. Osim toga, u skupini na mediteranskoj dijeti, sadržaj jednostruko nezasićenih masnih kiselina iznosio je samo 13% ukupno unesene energije, što je bitno manje od zastupljenosti jednostruko nezasićenih masnih kiselina u tradicionalnoj mediteranskoj dijeti (20% ukupno unesene energije) [130]. Kako glavni izvor masnoće u studiji Lyon Heart nije bilo maslinovo ulje već margarin dobiven od ulja uljane repice obogaćene ω -linolenskom kiselinom [80], rezultati studije nisu dali saznanja o ulozi maslinova ulja u mediteranskoj dijeti. Isto tako, u pitanje se dovodi i poprilično nizak broj opaženih ishoda (44 u kontrolnoj grupi i 12 u grupi mediteranske dijeta), nevjerojatno veliko smanjenje relativnog rizika (RR) uz neprimjetne promjene većine klasičnih rizikofaktora (primjerice lipidni profil i arterijski tlak), te činjenica da je istraživanje završeno ranije (nakon 27 mjeseci). Usprkos svemu, ova je studija do danas ostala vrlo važan dokaz o učinku mediteranske dijeta u sekundarnoj prevenciji srčano-žilnih događaja.

Danas, u vremenu medicine temeljene na dokazima, dugo su nedostajali dokazi randomiziranih kliničkih studija o učinku mediteranske dijeta u primarnoj prevenciji srčano-žilnih bolesti. Velik doprinos tom području dala je randomizirana studija PREDIMED provedena u 16 centara diljem Španjolske na 7000 ispitanika u dobi od 55 do 90 godina. Ispitanici su imali visok rizik za nastanak srčano-žilnih oboljenja, što je uključivalo prisutnost

še erne bolest tipa 2 ili triju od sljede ih imbenika rizika: hipertenziju, hiperlipidemiju, pretilost, pušenje ili pozitivnu obiteljsku anamnezu za sr ano-žilne bolesti. Studija PREDIMED uspore ivala je u inak mediteranske dijete oboga ene maslinovim uljem ili orašastim plodovima s niskomasnom dijetom na rizik od zna ajnih sr ano-žilnih doga aja. Rezultati studije pokazali su da se primjenom prehrane bogate orašastim plodovima (> 3 serviranja/tjedan, 30 g) tijekom 5 godina smanjuje rizik od smrtnosti uslijed sr ano-žilnih bolesti za 55% te smrtnosti od karcinoma za 45%. Tako er, op a smrtnost bila je smanjena za 39% u osoba na mediteranskoj dijeti oboga enoj maslinovim uljem ili orašastim plodovima, dok je u skupini na mediteranskoj dijeti uz dodatak isklju ivo orašastih plodova taj rizik bio manji za ak 45% [131].

Zanimljivo je da su dokazani u inci iz studija PREDIMED i Lyon Heart usporedivi s u inkom statina. Još uvijek me utim ne možemo biti sigurni je li mediteranska prehrana dostatna alternativa za farmakoterapiju. Dostupni dokazi o djelovanju statina temelje se na etvrt milijuna ispitanika koji su sudjelovali u velikim randomiziranim studijama. Tako najnovije smjernice preporu aju ranije uvo enje statina nego dosad, pri 7,5-postotnom riziku od sr ano-žilnih bolesti, za razliku od prijašnjih preporuka o njegovu uvo enju pri 10-postotnom riziku [132; 133]. Iako dosadašnja istraživanja upu uju na velike dobrobiti mediteranske prehrane, potrebno je još velikih, multicentralnih, randomiziranih studija na kojima e se mo i temeljiti jasne preporuke o pridržavanju mediteranske dijete.

Danas dostupne metaanalize opservacijskih i randomiziranih studija upu uju tako er na dobrobiti mediteranske prehrane u pretilih bolesnika i bolesnika s metaboli kim sindromom [134; 135]. Metaanaliza 50 epidemioloških i klini kih studija koje su sveukupno uklju ile 534.906 ispitanika pokazala je bitno smanjenje rizika od metaboli kog sindroma u onih ispitanika koji su se pridržavali mediteranske dijete [135]. Metaanaliza isklju ivo randomiziranih studija koje su prou avale u inak dijete na tjelesnu masu na uzorku od 3436 ispitanika (1848 ispitanika randomiziranih u skupinu mediteranske dijete i 1588 u kontrolnu skupinu) pokazala je da je mediteranska dijeta bila u inkovita u mršavljenju, osobito uz kalorijsku restrikciju i pove anu tjelesnu aktivnost [134].

Razli iti pristupi u prilagodbi mediteranskog na ina prehrane nemediteranskim populacijama istaknuti su kao mogu e rješenje rastu eg problema nezaraznih kroni nih bolesti [136]. Razlog tome su rezultati studija u nemediteranskim zemljama koje potvr uju zaštitnu ulogu mediteranske prehrane od prijevremene smrti [137-141] te smanjenu smrtnost uslijed cerebrovaskularnih bolesti [142] u razli itim populacijama. Iako u Hrvatskoj, koja se dijelom smatra mediteranskom a djelom nemediteranskom zemljom, dosada nije bilo

istraživanja iji bi cilj bio dokazivanje djelovanja mediteranske dijete, dostupni su podaci koji proizlaze iz subanalize drugih studija, a koji ukazuju na injenicu da je me u hrvatskim stanovništvom koje se pridržava na ela mediteranske prehrane prisutna manja prevalencija pretilosti [143; 144]. Dokazi randomiziranih klini kih studija o u inku mediteranske dijete na hrvatsku populaciju me utim do sada nisu postojali.

Pored najbolje dokazanog utjecaja mediteranske dijete na sr ano-žilne bolesti, a potom i na zlo udne bolesti/novotvorine, njezino se povoljno djelovanje o itovalo i u drugim stanjima. Skarupski i suradnici [145] pokazali su kako prehrana koja je u skladu s karakteristikama mediteranske pokazuje potencijal u smislu smanjenja depresije u bolesnika starije životne dobi (starijih od 65 godina).

1.2.3 Utjecaj mediteranske dijete na oksidativni stres

Kao što je ve re eno, dostupni dokazi velikih randomiziranih studija te dokazi epidemioloških studija i njihovih sustavnih pregleda ukazali su na povoljno djelovanje mediteranske dijete u sr ano-žilnih bolesnika, bolesnika sa zlo udnim tumorima, Alzheimerovom i Parkinsonovom boleš u, kao i u pretilih te bolesnika s metaboli kim sindromom. Patofiziologija nabrojanih bolesti i stanja povezuje se izme u ostaloga s oksidativnim stresom, pa se i protektivno djelovanje mediteranske dijete pri navedenim bolestima može povezati s njezinim antioksidativnim u inkom. U prilog tome idu i namirnice zastupljene u mediteranskoj dijeti za koje je dokazano da imaju antioksidativno djelovanje. Ipak, mehanizam djelovanja mediteranske dijete nije tako jednostavno razlu iv pa, bez obzira na važna istraživanja, još uvijek postoje dvojbe. Naime, za djelovanje mediteranske dijete odgovorno je nekoliko razli itih mehanizama, od protuupalnog i antitrombotskog do antioksidativnog, te se do danas nije ustanovilo koliki je doprinos pojedinog djelovanja. Pri dokazivanju antioksidativnog djelovanja dijete, koje je od posebne važnosti za ovaj rad, postoji nekoliko problema. Kao prvo, za odre ivanje oksidativnog stresa u organizmu ne postoje standardizirani parametri ili rutinske metode kojima bi se odredio oksidativni stres i antioksidativni potencijal [146]. Rezultate razli itih istraživanja koja su koristila razli ite parametre stoga je teško interpretirati i izravno uspore ivati. Nadalje, mjerenje antioksidativnog u inka same dijete i razlu ivanje imbenika koji doprinose izmjerenom antioksidativnom u inku vrlo je složeno zbog postojanja više varijabli, primjerice razli itih nutrijenata i njihova me udjelovanja, u inka tjelesne aktivnosti, stila života i mnogih vanjskih imbenika koji svi mogu utjecati na izmjereni oksidativni stres [146].

Na neka od navedenih pitanja pokušale su odgovoriti različito dizajnirane studije. U tablici 4 prikazana su sva meni poznata epidemiološka i klinička istraživanja koja su proučavala utjecaj mediteranske dijeta na oksidativni stres. Iz prikazanog se može ustanoviti da dobiveni rezultati nisu dosljedni. Rezultati epidemioloških istraživanja podupiru hipotezu o vezi mediteranske dijeta i oksidativnog stresa [147; 148]. Rezultati randomiziranih studija se međutim razlikuju; nekoliko manjih, kratkih studija (trajanja < 6 mjeseci) upućuju na pozitivan utjecaj inak mediteranske dijeta na smanjenje oksidativnog stresa [149-153], dok ostale nisu pokazale bitne promjene u pokazateljima oksidativnog stresa između mediteranske i kontrolne dijeta [152; 154-156]. Spomenute su studije uključile bolesnike s reumatoidnim artritisom, s transplantiranim bubrezima, bolesnike s prekomjernom tjelesnom masom ili pretilo bolesnike te zdrave ispitanike. Prema meni dostupnim podacima, provedena je samo jedna velika randomizirana studija (PREDIMED) koja je uključivala bolesnike s visokim rizikom od srčano-žilnih bolesti. Na uzorku od 372 ispitanika pokazalo se statistički značajno smanjenje koncentracije oxLDL-a u ispitanika na mediteranskoj dijeti s dodatkom orašastih plodova ili maslinova ulja tijekom tri mjeseca nasuprot ispitanicima na kontrolnoj dijeti [157], dok se na uzorku od 187 bolesnika pokazalo povećanje ukupnog antioksidativnog potencijala u plazmi tijekom razdoblja od tri godine također u onih kojima je bila dodijeljena mediteranska dijeta [158]. U inak mediteranske dijeta na GSH-Px nije se razlikovao od u inak niskomasne kontrolne dijeta [157].

Tablica 4. Epidemiološke i kliničke studije koje su istraživale u inak mediteranske prehrane na parametre oksidativnog stresa

| AUTOR/ GODINA | ISPITANICI | DIZAJN STUDIJE | ISPITIVANI TIP DIJETE | ODREĐIVANI PARAMETRI OKSIDATIVNOG STRESA | REZULTATI |
|---------------------------------------|--|---|---|---|--|
| EPIDEMIOLOŠKE STUDIJE | | | | | |
| Pitsavos i sur., 2005. | 3042 zdrava ispitanika iz provincije Attica (Grčka) | Presječno istraživanje | Pridržavanje MD procijenjeno s pomoću MD bodovne skale | TAC | TAC u pozitivnoj korelaciji s MD bodovima; ispitanici u najvišem tercilu s obzirom na MD bodove 11% ↑ TAC od onih u najnižem tercilu |
| Dai i sur., 2008. | 138 jednojajčanih i dvojajčanih parova blizanaca | Presječno istraživanje | Pridržavanje MD procijenjeno s pomoću MD bodovne skale | GSH/GSSG (veći omjer = niži OS) | ↑ MD bodova za 1 jedinicu povezano s 7% većim GSH/GSSG |
| RANDOMIZIRANE KLINIČKE STUDIJE | | | | | |
| Leighton i sur., 1999. | 42 M ispitanika | RKS, praćenje: 3 mjeseca | I. MD II. Visokomasna dijeta | Konc. vit. C u plazmi, TAC, konc. 8-OHdG | ↑ TAC u MD skupini (28%); ↓ konc. vit. C i ↑ oksidirane DNA u skupini na visokomasnoj dijeti; uz dodatak vina, u obje skupine ↓ OS |
| Hagfors, i sur., 2003. | 51 bolesnik s reumatoidnim artritismom (10 M i 41 Ž) | RKS, praćenje: 3 mjeseca | I. MD II. Kontrolna dijeta (uobičajena prehrana ispitanika) | Konc. retinola u plazmi, antioksidansi (α- i γ - tokoferol, β-karoten, likopen, vit. C, urična kiselina), MDA u urinu | Bez promjene |
| Ambring i sur., 2004. | 22 zdrava ispitanika (12 M i 10 Ž) | R-križna- KS: 4 tjedna intervencija I + 4 tjedna čišćenje + 4 tjedna intervencija II | I. Švedska dijeta II. MD obogaćena ω-3 MK i esterima sterola | 8-izo-PGF _{2α} u urinu | Bez učinka |

| AUTOR/ GODINA | ISPITANICI | DIZAJN STUDIJE | ISPITIVANI TIP DIJETE | ODREĐIVANI PARAMETRI OKSIDATIVNOG STRESA | REZULTATI |
|--------------------------|--|--------------------------|---|--|--|
| Stachowska i sur., 2005. | 37 bolesnika s transplantiranim bubregom | RCT, praćenje: 6 mjeseci | I. MD (21 bolesnik) II. Niskomasna dijeta (16 bolesnika) | α -tokoferol, TBARS u plazmi i eritrocitima, SOD, katalaza, GSH-Px u eritrocitima | U MD skupini \uparrow SOD, \downarrow katalaza, \downarrow GSH-Px, \downarrow TBARS, nepromijenjen α -tokoferol |
| Fito i sur., 2007. | 372 ispitanika s visokim SŽ rizikom/ podskupina od 72 ispitanika za ispitivanje MDA | RKS, praćenje: 3 mjeseca | I. MD + maslinovo ulje II. MD + orašasti plodovi III. Niskomasna dijeta | oxLDL, GSH-Px, MDA | \downarrow oxLDL u obje skupine MD, ali samo u MD + maslinovo ulje statistički signifikantno u usporedbi s niskomasnom GSH-Px bez promjene MDA- promjene pratile one s oxLDL |
| Buscemi i sur., 2009. | 20 pretilih osoba ili prekomjerne TM (žene) | RKS, praćenje: 2 mjeseca | I. MD II. Dijeta s niskim udjelom ugljikohidrata | 8-izo-PGF _{2α} u serumu | Bez učinka |
| Razquin, i sur., 2009. | 187 ispitanika s visokim SŽ rizikom | RKS, praćenje: 3 godine | I. MD + maslinovo ulje II. MD + orašasti plodovi III. Niskomasna dijeta | TAC | \uparrow TAC u obje MD skupine |

RKS - randomizirana klinička studija, SŽ - srčano-žilni, MD - mediteranska dijeta, M - muškarci, Ž - žene, 8-OHdG- 8-hidroksideoksigvanozin, OS - oksidativni stres, 8-izo-PGF_{2 α} - prostaglandin F_{2 α} , GSH-Px- glutation peroksidaza, TM - tjelesna masa, TAC - ukupni antioksidativni kapacitet, MDA - malondaldehid, SOD – superoksid dismutaza

2. OBRAZLOŽENJE TEME

Pretilost se tijekom protekloga desetljeća, zbog svoga ogromnog kliničkog, javnozdravstvenog i socioekonomskog utjecaja, kontinuirane progresije prevalencije i stupnja pretjerane uhranjenosti te terapijske tvrdokornosti, uvrstila u red globalno najvažnijih medicinskih tema [3]. U Hrvatskoj pretilost poprima sve veće razmjere, što Hrvatsku danas svrstava među vodeće zemlje po zastupljenosti debljine u Europi [11], ali i u svijetu [159]. Prema recentnim smjernicama [1; 63], vidljivo je da u liječenju pretilosti najvažnije mjesto i dalje zauzima promjena životnih navika s naglaskom na dijetu i tjelesnu aktivnost. U posljednje se vrijeme ističe u dobrobiti mediteranske dijeta za koju, osim epidemioloških podataka poznatih još od 60-ih godina prošloga stoljeća, danas postoji sve veći broj dokaza randomiziranih studija i sustavnih pregleda. Točan mehanizam djelovanja mediteranske dijeta još nije u potpunosti razjašnjen. Svrha ovoga rada bila je istražiti djelovanje mediteranske dijeta na oksidativni stres te time pridonijeti boljem razumijevanju mehanizma njezina djelovanja u pretilih bolesnika. Istraživanje je provedeno na pretilim bolesnicima jer se radi o populaciji za koju je promjena prehranbenih navika ključna terapijska mjera te se upravo mediteranska prehrana pokazala jednom od pogodnih dijeta u liječenju pretilosti [134]. Također, problem pretilosti povezan je s oksidativnim stresom te se pretpostavlja da bi dijeta dizajnirana tako da povećava unos hrane bogate fitonutrijentima, antioksidansima i alfa-linolenskom kiselinom mogla zbog svoga sastava imati povoljan učinak u pretilih bolesnika. Rezultati dosadašnjih istraživanja nisu jednoznačni, a dokazali su povoljan [149-153] ili neutralan [152; 154-156] učinak mediteranske dijeta na oksidativni stres u usporedbi s kontrolnom dijetom. Dosadašnja istraživanja uključila su ispitanike s različitim bolestima i stanjima, od čega su dvije studije provedene na pretilim bolesnicima [149; 156]. Dostupna istraživanja razlikuju se i prema duljini praćenja, koja većinom varira od 3 do 6 mjeseci, s iznimkom studije PREDIMED u trajanju od 3 godine [158]. U svakom slučaju, postoji potreba za dodatnim podacima koji će bolje razjasniti utjecaj mediteranske dijeta na oksidativni stres. Pored toga, prema dostupnim podacima, dosadašnjim radovima nije istražen učinak mediteranske dijeta u odnosu na duljinu pridržavanja, što je također predviđeno ovim radom.

Iz svega navedenog proizašli su specifični ciljevi istraživanja:

1. Primarni cilj istraživanja bio je odrediti utjecaj mediteranske dijeta na oksidirani LDL (oxLDL), antioksidativni potencijal na oksidirani LDL (OLAB) i ukupni antioksidativni potencijal

(engl. *total antioxidative capacity*, TAC) u tri vremenske to ke tijekom razdoblja pra enja od godinu dana (na po etku, nakon jednog i dvanaest mjeseci).

2. Sekundarni ciljevi ovog rada su bili sljede i:
 - a. potvrditi u inkovitost mediteranske dijete u redukciji tjelesne mase pra enjem tjelesne mase, indeksa tjelesne mase i opsega struka;
 - b. odrediti varijable koje su utjecale na uspješnost smanjenja tjelesne mase i ostanak bolesnika u programu mršavljenja;
 - c. odrediti utjecaj mediteranske dijete na klini ke (arterijski tlak) i biokemijske (glukoza u plazmi (GUP), LDL-kolesterol, trigliceridi, HDL-kolesterol, ukupni kolesterol, C reaktivni protein (CRP), urati) rizi ne imbenike u pretilih osoba;
 - d. procijeniti razinu tjelesne aktivnosti tijekom razdoblja pra enja bolesnika te njezin utjecaj na oksidativni stres i antioksidativni potencijal;
 - e. istražiti povezanost i prediktivnu vrijednost s oksidativnim stresom i antioksidativnim potencijalom onih ispitivanih varijabli za koje se na temelju dosadašnjih spoznaja pretpostavlja da bi na njih mogle utjecati (dijeta, tjelesna aktivnost, smanjenje tjelesne mase, urati, spol).

Kako bi se ostvarili navedeni specifi ni ciljevi ovoga doktorskog rada, provedena je randomizirana studija u trajanju od 12 mjeseci tijekom kojih su bolesnici pra eni u više unaprijed odre enih vremenskih to ki. Osim u inka dijete, iznimno je važno bilo sagledati u inak svih dostupnih imbenika koji su mogli utjecati na razinu oksidativnog stresa. S obzirom na prou avanje utjecaja velikog broja varijabli na oksidativni stres i antioksidativni potencijal u pretilih bolesnika, ovo bi randomizirano istraživanje trebalo doprinijeti razjašnjenju složenih mehanizama djelovanja nefarmakoloških mjera u lije enju pretilosti.

3. MATERIJALI I METODE

3.1 MATERIJALI

3.1.1 Instrumenti

Priprema uzoraka za analize ili pohranu:

- o R Rotina Hettich centrifuga, Tuttlingen, Njema ka

Odre ivanje TEAC-a:

- o UV-VIS spektrometar UV 4-100, ATI Unicam, Cambridge, Velika Britanija
- o Vortex miješalica, tip VTY-3000L, Mixer UZUSIO, Tokio, Japan

Odre ivanje oxLDL-a:

- o ita mikrotritaraskih plo ica Multiscan Ascent, Thermo Electron Corporation, Vantaa, Finska

Odre ivanje OLAB-a:

- o ita mikrotritaraskih plo ica Victor³ 1420 (Perkin Elmer, Waltham, SAD)

Odre ivanje biokemijskih parametara:

- o Olympus AU 2700 plus analizator, Beckman-Coulter, Tokio, Japan

Odre ivanje arterijskog tlaka:

- o Omron Digital Automatic Blood Pressure Monitor HEM-9000AI, Healthcare, Kyoto, Japan

3.1.2 Reagensi

Odre ivanje TEAC-a:

- o Kalijev persulfat, p.a., Sigma, St. Luis, SAD
- o Diamino-2, 2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonska kiselina), Sigma, St. Luis, SAD

- o Etanol, p.a., Kemika d.o.o, Zagreb, Hrvatska
- o 6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karbonska kiselina, Sigma, St. Luis, SAD

Određivanje oxLDL-a:

- o ELISA komercijalni kit za određivanje oxLDL-a, Uscn Life Science Inc, Hubei, Kina
 - o mikrotitarska ploča obložena protutijelima na oxLDL
 - o standard i otapalo
 - o detekcijski reagens A i otopina za razrjeđivanje A (biotin-konjugirana protutijela)
 - o detekcijski reagens B i otopina za razrjeđivanje B (HRPO enzim-konjugirani avidin)
 - o supstrat (tetrametilbenzidina)
 - o pufer za ispiranje
 - o stop otopina (sulfatna kiselina)

Određivanje OLAB-a:

- o ELISA komercijalni test kit tvrtke Biomedica, Beč, Austrija:
 - o mikrotitarska ploča obložena oxLDL-om
 - o standardne otopine (37, 75, 150, 300, 600, 1200 mU/mL OLAB-a)
 - o kontrolne otopine (300, 1000 mU/mL OLAB-a)
 - o konjugat monoklonskog protutijela nehumanog porijekla IgG s enzimom HRPO
 - o supstrat (tetrametilbenzidina)
 - o stop otopina (sulfatna kiselina)
 - o pufer za analizu
 - o pufer za ispiranje

Određivanje ukupnog kolesterola

- o reagensi proizvođača Beckman-Coulter, Tokio, Japan
 - o fosfatni pufer (pH 6,5) 103 mmol/L
 - o kolesterol esteraza (Candida) 0,2 kU/L (3,3 μkat/L)

- 4-aminoantipirin 0,31 mmol/L
- kolesterol oksidaza (Brevibacterium) 0,2 kU/L (3,3 μ kat/L)
- fenol 5,2 mmol/L
- peroksidaza (Horseradish) 10,0 kU/L (166,7 μ kat/L)

Odre ivanje HDL-kolesterola

- reagensi proizvo a a Beckman-Coulter, Tokio, Japan
 - kolesterol esteraza (Pseudomonas) 375 U/L
 - kolesterol oksidaza (E.coli) 750 U/L
 - peroksidaza (Horeradish) 975 U/L
 - askorbat oksidaza (Curcubita sp,) 2250 U/L
 - DSBmT 0,75 mmol/L
 - 4-aminoantipirin 0,25 mmol/L
 - detergent 0,375%

Odre ivanje LDL-kolesterola

- reagensi proizvo a a Beckman-Coulter, Tokio, Japan
 - MES pufer (pH 6,3)
 - kolesterol esteraza (Pseudomonas) 1875 U/L
 - kolesterol oksidaza (Nocardia) 1125 U/L
 - peroksidaza (Horseradish) 975 U/L
 - detergent 1 0,75%
 - detergent 2 0,75%
 - DSBmT 0,25 mmol/L
 - 4-aminoantipirin 0,375 mmol/L
 - askorbat oksidaza 2250 U/L

Odre ivanje triglicerida

- reagensi proizvo a a Beckman-Coulter, Tokio, Japan
 - PIPES pufer (pH 6,3) 50 mmol/L
 - lipaza (Pseudomonas) 1,5 kU/L (25 μ kat/L)

- glicerol kinaza (*Bacillus stearothermophilus*) 0,5 kU/L (8,3 μ kat/L)
- askorbat oksidaza (*Curcubita species*) 1,5 kU/L (25 μ kat/L)
- peroksidaza (Horseradish) 0,98 kU/L (16,3 μ kat/L)
- ATP 1,4 mmol/L
- 4-aminoantipirin 0,50 mmol/L
- magnezij acetat 4,6 mmol/L
- MADB 0,25 mmol/L

Odre ivanje hemoglobina A1C (HbA1c)

- reagensi proizvođača Beckman-Coulter, Tokio, Japan
 - reagens HbA1c antitijela: HbA1c antitijela; gove i serumski albumin; pufer pH 8,1; 0,6% ne-ionski detregent (surfaktant); 0,1% prodin (konzervans)
 - HbA1c aglutiniraju i reagens: HbA1c hapten; gove i serumski albumin; pufer pH 2,0; surfaktant; 0,1% prodin (konzervans)
 - reagens za ukupni hemoglobin: natrij hidroksid 0,4% (pH 13); 0,7% ne-ionski detergent (surfaktant)

Odre ivanje glukoze:

- reagensi proizvođača Beckman-Coulter, Tokio, Japan
 - PIPES pufer (pH 7,6) 24,00 mmol/L
 - NAD⁺ 1,32 mmol/L
 - heksokinaza 0,59 KU/L
 - ATP 2,0 mmol/L
 - Mg²⁺ 2,37 mmol/L
 - G6P-DH 1,58 KU/L

Odre ivanje CRP-a

- reagensi proizvođača Beckman-Coulter, Tokio, Japan
 - tris pufer 80 mmol/L
 - natrijev klorid 125 mmol/L

- polietilen glikol 6000 1,5%
- kozja anti-CRP antitijela 0,6 g/L

Određivanje urata

- reagensi proizvođača Beckman-Coulter, Tokio, Japan
 - fosfatni pufer (pH 7,5) 42 mmol/L
 - peroksidaza 5,9 kU/L
 - MADB 0,15 mmol/L
 - 4-aminofenazon 0,30 mmol/L
 - EDTA 0,44 mmol/L
 - ureaza 250 U/L

3.2 METODE

3.2.1 Dizajn studije

Istraživanje je bilo dizajnirano kao randomizirana, jednostruko prikrivena studija s dvjema paralelnim skupinama u svrhu usporedbe u inka mediteranske prehrane s u inkom standardne hipolipemi ke dijete na parametre oksidativnog stresa kao primarne mjere ishoda. Jednostruko slijepo istraživanje podrazumijevalo je da medicinske sestre i osoblje biokemijskog laboratorija nisu znali koja dijeta je dodijeljena kojemu bolesniku. S obzirom na prirodu intervencije, ispitanici i stručnjaci uključeni u edukaciju bolesnika bili su upoznati s dijetom dodijeljenom svakome pojedincu.

Istraživanje je provedeno u tercijarnoj zdravstvenoj ustanovi, u ambulanti Zavoda za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma KB Dubrava.

3.2.2 Ispitanici

U istraživanje je bilo uključeno 124 muških i ženskih pretilih bolesnika s ITM $\geq 30 \text{ kg/m}^2$ koji su bili uključeni na liječenje pretilosti u ambulantu Zavoda za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma KB Dubrava u razdoblju od 04. studenog 2008. do 23. siječnja 2012. U istraživanje su bili uključeni svi bolesnici koji su došli liječiti pretilost, sukcesivno, do ispunjenja

broja, a koji su bili spremni reducirati tjelesnu masu, pristali na randomizaciju na jednu od slučajno odabranih dijeta (mediteranska ili standardna hipolipemička dijeta), prihvatili edukaciju o načinu prehrane tijekom petodnevno dugog boravka u dnevnu bolnicu i odlučili slijediti naputke o promjeni životnih navika.

Podobnost za sudjelovanje u studiji bila je određena sljedećim kriterijima:

Uključuju i kriteriji

- o dob između 20 i 69 godina
- o ITM $\leq 30 \text{ kg/m}^2$
- o vrijednost HbA1c manja od 8%
- o u slučaju kronične terapije određenim lijekovima, terapija nije smjela biti mijenjana najmanje tri mjeseca prije uključivanja u istraživanje
- o uredna funkcija štitnjače ili uredno uspostavljena funkcija štitnjače djelovanjem terapije koja nije mijenjana najmanje tri mjeseca prije uključivanja u istraživanje
- o zadovoljavaju i arterijski tlak ($< 160/100 \text{ mmHg}$)
- o pristanak na provođenje protokola istraživanja i potpisan Informirani pristanak.

Isključuju i kriteriji

- o trudnoća
- o dojenje
- o inzulinska terapija
- o novootkrivena šećerna bolest tipa 2 ili bolesti krvožilnog sustava (dijagnosticirane u razdoblju od šest mjeseci prije uključivanja u istraživanje)
- o konzumacija alkoholnih pića u količini većoj od 500 g alkohola/tjedan u razdoblju od 12 mjeseci prije uključivanja u istraživanje
- o prisutnost bilo kojeg stanja koje bi prema mišljenju istraživača moglo štetiti zdravlju ili sigurnosti bolesnika.

Bolesnici su bili upu eni u detalje protokola studije te su na uvid dobili Informirani pristanak (u prilogu).

Protokol studije odobrilo je Eti ko povjerenstvo KB Dubrava i Eti ko povjerenstvo Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveu ilišta u Zagrebu.

3.2.3 Opis i tijek istraživanja

Bolesnicima koji su odlu ili sudjelovati u istraživanju te su potpisali informirani pristanak nasumi no je dodijeljena mediteranska ili standardna hipolipemi ka dijeta. Jednostavna randomizacija provedena je bacanjem nov i a (pismo/glava).

Svi uklju eni bolesnici prisustvovali su petodnevnom programu Dnevne bolnice za lije enje pretilosti, a potom su pra eni tijekom 12-mjese nog razdoblja na pet unaprijed odre enih kontrolnih pregleda; nakon 7 dana, te nakon 1, 3, 6 i 12 mjeseci.

Cilj Dnevne bolnice za lije enje pretilosti bila je edukacija o pravilnoj prehrani i mijenjanju loših životnih navika.

Svaka edukacijska grupa sastojala se od pet do šest bolesnika koji su proveli pet dana (od 8:30 do 13 h) u Dnevnoj bolnici. Multidisciplinarni tim stru njaka uklju en u rad Dnevne bolnice inili su: medicinska sestra, klini ki dijeteti ar, lije nik specijalist endokrinologije, klini ki farmaceut i fizioterapeut. Edukacija je bila zajedni ka za obje skupine ispitanika, bez obzira na dodijeljenu dijetu. Tijekom edukacije bolesnici su bili upoznati sa spoznajama iz podru ja nutricionizma važnim za uspješno mršavljenje te su podu eni kako ispravno odabrati namirnice, sastaviti osobni jelovnik, pripremiti zdrav obrok, planirati jelovnik za posebne prilike, poput slavlja ili putovanja te kako se nositi s kriznim situacijama i sprije iti emocionalno jedenje. Sastavljanje jelovnika se temeljilo na konceptu jedinica preuzetom iz dijabeti ke dijete (prilog 3). Ispitanici su vježbali sastavljanje jelovnika prema spomenutom konceptu jedinica kako bi bili spremni za nadolaze e razdoblje izvan Dnevne bolnice. Edukacija je bila popra ena vizualnim pomagalicama da bi bolesnici shvatili koju koli inu hrane trebaju konzumirati. Svaki su dan bolesnicima u Dnevnoj bolnici posluženi doru ak, vo ni me uobrok i ru ak, što je predstavljalo i edukacijsku mjera jer su bolesnici mogli vidjeti koli inu i vrstu hrane predvi ene za konzumaciju toga dana. Klini ki su dijeteti ari sastavili precizan jelovnik koji je uklju ivao

koli inu sastojaka izraženih u gramima i detaljne upute za pripremu ve ere te potpuni jelovnik za idu a dva tjedna.

Preporu eni energetski unos za ispitanike na mediteranskoj dijeti (MD) bio je prosje no 1573 kcal na dan s ciljem da oko 35% kalorija dolazi iz masti. Pri tome su glavni izvor masti bili maslinovo ulje i orašasti plodovi u koli ini od 33 g maslinova ulja na dan i 56 g orašastih plodova na tjedan (pet do 7 orašastih plodova na dan). Bolesnici na MD su na po etku istraživanja dobili litru maslinova ulja te su upu eni da konzumiraju 3-4 serviranja ribe i šaku orašastih plodova na tjedan te dvije jušne žlice maslinovog ulja na dan.

Standardna hipolipemi ka dijeta (SHD) temeljila se na redukcijskoj dijeti uz preporuke za lije enje hiperlipidemije [160]. Energetski unos bio je ograni en na prosje no 1287 kcal na dan, s ciljem da 25-30% kalorija dolazi od masti, od toga < 7% od zasi enih masnih kiselina, a 50-55% od ugljikohidrata. SHD nije zahtijevala konzumaciju ribe, ali ispitanici su mogli nastaviti s tjednom konzumacijom ukoliko je riba bila dio njihove uobi ajene prehrane prije uklju ivanja u studiju. Crveno meso su trebali zamijeniti bijelim mesom. Proteini su inili 20% dnevne energije u obje dijete. Obje dijete su bile bogate cjelovitim žitaricama, vo em i povr em. U tablici 5 prikazan je dnevni prosjek energetske vrijednosti unesene hrane i koli ine dnevnog unosa pojedinih hranjivih sastojaka za obje dijete, analiziran pomo u dijetetskog ra unalnog programa KB Dubrava.

Tablica 5. Analiza hranjivih vrijednosti MD i SHD (dnevni prosjek 7-dnevnog jelovnika)

| Obilježje dijete | MD | SHD |
|--|-----------|------------|
| Energetska vrijednost, kcal/dan | 1573 | 1287 |
| Ugljikohidrati, g/dan | 158,34 | 162,83 |
| Vlakna, g/dan | 27,49 | 28,07 |
| Bjelan evine, g/dan | 69,17 | 66,3 |
| Masti, g/dan | 75,64 | 42,96 |
| Zasi ene masne kiseline, g/dan | 14,22 | 8,66 |
| Jednostruko nezasi ene masne kiseline, g/dan | 43,17 | 15,16 |
| Višestruko nezasi ene masne kiseline, g/dan | 15,86 | 12,97 |
| Kolesterol, mg/dan | 133,29 | 129,04 |

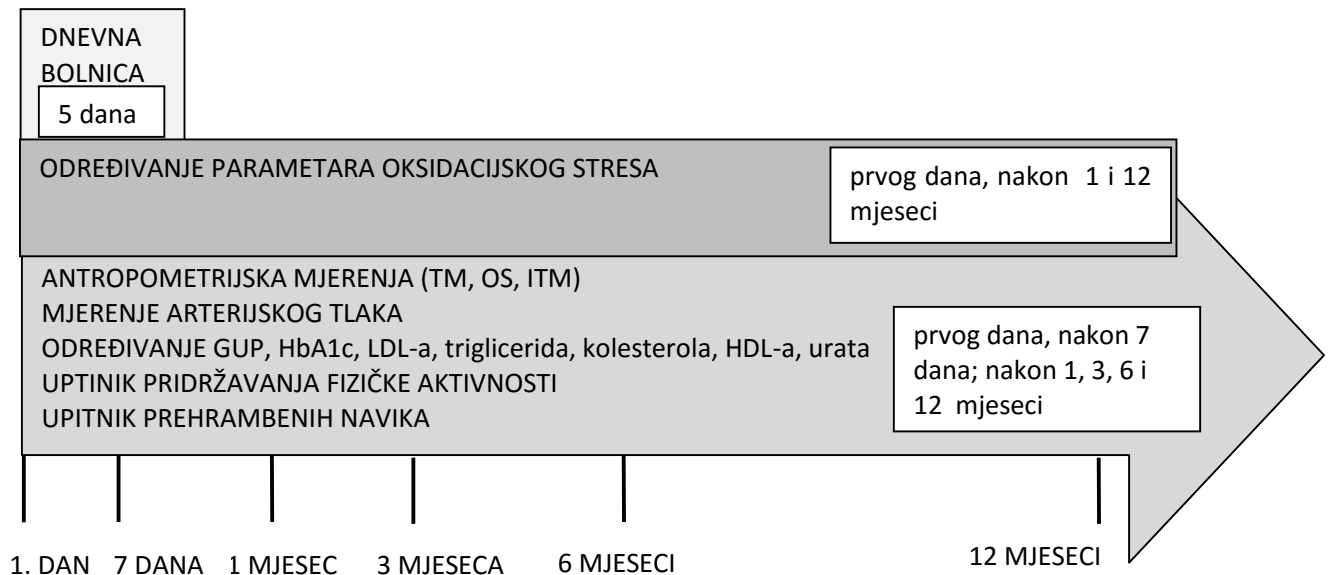
MD - mediteranska dijeta; SHD - standardna hipolipemi ka dijeta

Osim prehrane, tijekom boravka u Dnevnoj bolnici obra ene su i teme tjelesne aktivnosti i pretilosti kao bolesti. Svim je bolesnicima preporučeno da pove aju tjelesnu aktivnost uvo enjem dnevne šetnje u trajanju od najmanje 30 minuta, što je bilo predvi eno i tijekom boravka u Dnevnoj bolnici. Budu i da je ve ina bolesnika imala poteško e s koštano-miši nim sustavom, fizioterapeut je osmislio sigurne i prikladne vježbe. Svaki je bolesnik prošao savjetovanje s fizioterapeutom u trajanju od 30 minuta prilikom kojeg su mu pokazane vježbe kojima e posti i maksimalnu pokretljivost. Bolesnici su savjetovani da s pokazanim vježbama nastave i kod ku e. Bolesnici su prošli i edukaciju o pretilosti kao bolesti radi boljeg razumijevanja pretilosti s naglaskom na mogu e posljedice nelije enog stanja.

Podaci prikupljeni na kontrolnim pregledima obuhvatili su: antropometrijska mjerenja, arterijski tlak, rutinske laboratorijske pretrage te parametre oksidativnog stresa. Prije uklju ivanja u studiju ispitanicima su standardiziranim upitnicima procijenjene i prehrambene navike te fizi ka aktivnost, a istim su se upitnicima pratile promjene prehrambenih navika i fizi ke aktivnosti izme u dviju kontrola.

Detaljna obrada prehrambenog upitnika nije dio ove doktorske disertacije, stoga nije prikazana, osim podataka o klju nim preporu enim namirnicama (maslinovo ulje, orašasti plodovi, riba, vo e, povr e, crveno meso i slatka jela).

Svi parametri određivani su šest puta tijekom 12 mjeseci trajanja intervencije, s iznimkom parametara oksidativnog stresa, koji su određivani tri puta tijekom 12 mjeseci. Na slici 5 dan je shematski prikaz tijeka istraživanja.



Slika 5. Shema tijeka istraživanja

3.2.4 Antropometrijska mjerenja

Tijekom svakog posjeta ispitanicima je mjerena visina, tjelesna masa, opseg struka i ITM. Bolesnici su na svakom kontrolnom pregledu vagani bosu, uz to nost od 100 g. Visina je prilikom prvog dolaska mjerena Harpenderovim stadiometrom, uz to nost od 0,5 cm. Bolesnici su bili bosu, u uspravnom položaju, leđa priljubljenih uz zid, pogleda uperena pred sebe. Opseg struka mjerio se standardnom trakom za mjerenje, uz to nost od 0,5 cm. Indeks tjelesne mase (kg/m^2) računao se kao masa bolesnika izražena u kilogramima (kg) podijeljena s kvadratom visine bolesnika izraženim u metrima kvadratnim (m^2).

3.2.5 Mjerenje arterijskog tlaka

Prilikom svakog posjeta brahijalni arterijski tlak određivao se oscilometrijski s pomoću Omron Digital Automatic Blood Pressure Monitor HEM-9000AI (Healthcare, Kyoto, Japan). Prije mjerenja bolesnici su 10 minuta mirno sjedili. Na brahijalnoj arteriji lijeve podlaktice izvršena su tri uzastopna mjerenja s razmakom od 5 minuta između mjerenja. Za potrebe studije koristila se aritmetička sredina triju izmjerenih vrijednosti arterijskog tlaka.

3.2.6 Uzimanje i pohrana uzoraka venske krvi

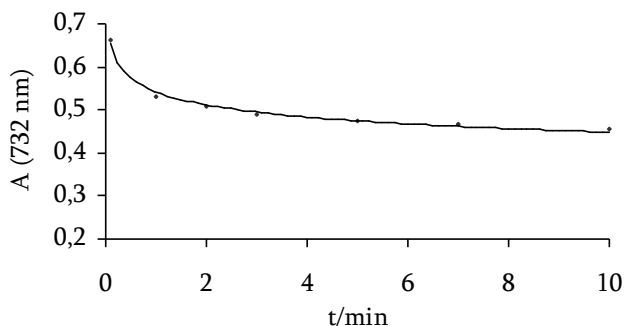
Venska se krv ispitanicima vadila natašte, u sjedećem položaju, venepunkcijom iz desne kubitalne vene uz primjenu epruveta s podtlakom za vakuaciju krvi. Uzorci krvi iz kojih je odijeljen serum za biokemijske pretrage uzimali su se u standardizirane epruvete s podtlakom: serum (bez antikoagulansa; crveni epruvet) sa žutim epruvetom ili bez (crveni epruvet) polistirenske smole za odjeljivanje seruma od stanica. Uzorci krvi za određivanje pokazatelja oksidativnog stresa uzimali su se u standardizirane epruvete s podtlakom: serum (bez antikoagulansa; crveni epruvet) bez polistirenske smole za odjeljivanje seruma od stanica. Sukladno Standardima dobre strukture prakse centrifugiranje uzoraka venske krvi provodilo se najmanje 30 minuta nakon uzimanja, 15 minuta na 1789 x g u 35 R Rotina Hettich centrifugi (Tuttlingen, Njemačka). Nakon centrifugiranja serum su odijeljeni u Eppendorf spremnike (1,5 ml) i pohranjeni u ledenicu na -80°C za naknadnu analizu parametara oksidativnog stresa. Rutinske biokemijske pretrage ukinjene su na dan uzorkovanja krvi.

Određivanje pokazatelja oksidativnog stresa i antioksidativnog statusa bolesnika

Kao pokazatelji oksidativnog stresa određivani su oxLDL kao direktni produkt oksidacije, te antitijela na oxLDL (OLAB). Također je mjereno i antioksidativni potencijal seruma TEAC testom (engl. *Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*) u svrhu određivanja antioksidativnog statusa bolesnika. Spomenuta su određivanja rađena u tri laboratorija: TEAC na Zavodu za biokemiju prehrane Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta; OLAB na Zavodu za medicinsku biokemiju Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta; i oxLDL na Kliničkom zavodu za laboratorijsku dijagnostiku KB Dubrava.

3.2.7 Određivanje antioksidativnog potencijala seruma

Kao mjera antioksidacijske aktivnosti seruma određivana je njihova sposobnost hvatanja radikala TEAC testom. TEAC test temelji se na mjerenju sposobnosti antioksidansa da neutralizira ABTS (2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonat)) radikal kation što rezultira smanjenjem apsorpcije reakcijske otopine. Apсорpcijski spektar $ABTS^{\cdot+}$ karakterizira glavni apсорpcijski maksimum na 415 nm te sekundarni apсорpcijski maksimumi na 660, 734 i 820 nm. Prema originalnoj metodi, $ABTS^{\cdot+}$ radikal se generira aktivacijom metmioglobina vodikovim peroksidom, pri čemu nastaje ferimioglobin radikal koji oksidira fenotiazin u molekuli ABTS-a, što rezultira generiranjem ABTS radikal kationa i pojavom karakterističnog plavozelenog obojenja. Velika prednost metode je topivost ABTS-a u vodenom i kiselo-organskom mediju, stoga je pogodna za određivanje antioksidativne aktivnosti hidrofilnih i lipofilnih supstrata [161]. U okviru ovog istraživanja korištena je modifikacija originalne metode prema Reu i suradnicima [162] gdje se kao oksidacijsko sredstvo koristi kalijev persulfat te se uzorak s antioksidativnom aktivnošću dodaje stabilnoj otopini prethodno generiranog ABTS radikal kationa. Dobiveni rezultati izražavaju se kao Trolox (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karbonska kiselina) ekvivalenti (odatle i naziv ovog antioksidativnog testa) tj. kao koncentracija Trolox reagensa ($mmolL^{-1}$) koja pokazuje istu antioksidativnu aktivnost kao $1\ mmolL^{-1}$ otopine istraživanog uzorka. Originalna metoda prilagođena je istraživanom tipu uzorka s obzirom na volumen uzorka i otopine ABTS radikala u reakcijskoj smjesi (300 μL razrijeđenog seruma na 2.5 mL ABTS-a) te s obzirom na uvjete inkubacije reakcijske smjese. Naime, zbog jednostavnosti postupka originalna jednominutna inkubacija na $30^{\circ}C$ zamijenjena je trominutnom na sobnoj temperaturi budući da je preliminarnim istraživanjima utvrđeno da se nakon 3 minute inkubacije na sobnoj temperaturi, u mraku, reakcijska smjesa približi dovoljno blizu platou reakcije (slika 6).



Slika 6. Ovisnost apsorbancije smjese Trolox-a i ABTS radikala o vremenu inkubacije

Priprema reagensa za TEAC test:

1. Priprema ABTS stock otopine:

Pripremljena je 7mM otopina otapanjem 38,4 mg ABTS-a u 10 mL destilirane vode

2. Priprema otopine kalijevog persulfata ($K_2S_2O_8$):

Pripremljena je 2,45 mM otopina $K_2S_2O_8$ otapanjem 66,2 mg $K_2S_2O_8$ u 100 mL destilirane vode

3. Priprema otopine ABTS radikala:

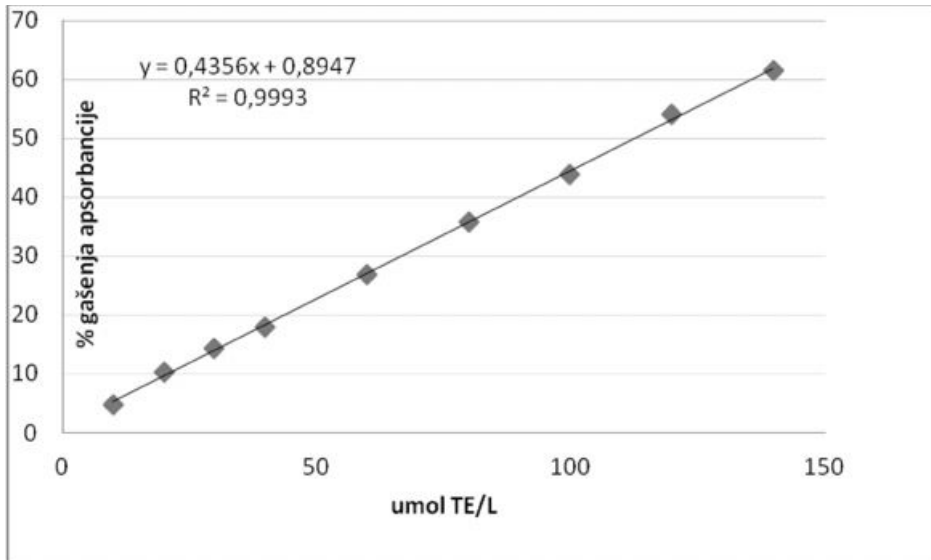
Otopine ABTS-a i kalijevog persulfata pomiješane su u jednakim omjerima. Pri tome se momentalno po eo stvarati ABTS radikal, što se o itovalo nastankom zeleno-plavog obojenja. Otopina je držana 12 sati u mraku do nastanka kona nog intenziteta boje. Nakon 12 sati otopinu smo razrijedili tako da njena apsorbancija iznosi $0,700 \pm 0,02$.

Izrada baždarnog dijagrama

U svrhu izrade baždarnog dijagrama pripremljene su radne otopine Troloxa u 96% etanolu koncentracija 2,5, 5, 7,5, 10, 15, 20, 25, 30 i 35 mg/L. Prvo je pripremljeno 20 mL izvorne (stock) otopine Troloxa koncentracije 1 mg/mL, a njenim razrje ivanjem 10 puta dobivena je otopina stock 2 (2,5 mL stock 1 razrije eno 96% etanolom na 25 mL). Zatim su izra ene radne otopine ponovnim razrje ivanjem 96% etanolom sljede ih volumena otopine stock 2 na 10 mL: 0,25, 0,5, 0,7, 1,2, 1,9, 2,3, 2,8 i 3,5 ml.

Izmjerena je apsorbancija reakcijske smjese (2,5 ml otopine ABTS radikala i 300 μ L razli itih koncentracija radne otopine Troloxa) te je izra unom postotka gašenja apsorbancije za odre enu koncentraciju radne otopine izra en baždarni dijagram. Postupak mjerenja

apsorbancije i izra unavanja postotka gašenja apsorbcije jednak je onome opisanom za uzorak (u nastavku). Dobiveni baždarni dijagram ($r = 0.99965$) prikazan je na slici 7.



Slika 7. Baždarni dijagram

Postupak

Vorteksirani uzorak seruma razrijedili smo 20 puta a fiziološkom otopinom (50 μ L seruma + 950 μ L fiziološke otopine) te ponovno vorteksirali. Reakcijska smjesa (mjerna otopina) pripremljena je miješanjem 300 μ L razrije enog seruma i 2,5 mL otopine ABTS radikala.

Potom je izmjerena apsorbcija reakcijske smjese na 734 nm s pomo u UV/VIS spektrofotometra (UV 4-100, ATI UNicam, Cambridge, Velika Britanija). Svako mjerenje je ra eno u triplicatu, te je u daljnjim izra unima korištena srednja vrijednost triju mjerenja. Postotak smanjenja asporbcije odgovara postotku obezbojenja otopine te je izra unat pomo u sljede e formule:

$$\% \text{ obezbojenja} = (A_0 - A_3) \times 100 / A_0$$

gdje je A_0 apsorbcija reakcijske smjese u vremenu $T = 0$ sekundi, a A_3 je apsorbcija reakcijske smjese u vremenu $t = 3$ minute. S obzirom da je apsorbciju reakcijske smjese nakon nula sekundi prakti ki nemogu e izmjeriti, A_0 smo odredili mjerenjem smjese u koju je umjesto uzorka dodan isti alikvot destilirane vode (2,5 ml otopine ABTS + 300 μ L destilirane vode).

Kao standard je korišten Trolox analog vitamina E topiv u vodi (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karbonska kiselina). Antioksidativna aktivnost uzorka je određena pomoću baždarnog dijagrama te je izražena u $\mu\text{mol TE/ml}$ (mikromoli Trolox ekvivalenta u mililitru). S obzirom na regresijsku jednadžbu pravca, sadržaj Trolox ekvivalenata (TE) računat je prema sljedećoj jednadžbi:

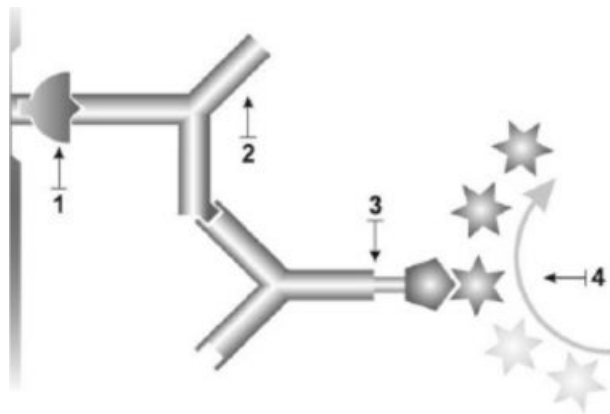
$$\mu\text{mol TE/L} = (\% \text{ smanjenja apsorbancije} - 0,8947) \times \text{razrjeenje} / 0,4356$$

3.2.8 Određivanje oksidiranog LDL-a

OxLDL je određivan iz seruma ispitanika s pomoću „sandvič“ enzimskog imunotesta (ELISA) komercijalnog kitta za određivanje oxLDL-a (Uscn Life Science Inc, Hubei, Kina), točno prema protokolu proizvođača. Princip testa temelji se na ELISA-i. Korištene su mikrotitarske ploče obložene protutijelima na oxLDL. U jažice mikrotitarskih ploča dodani su uzorci, standardne ili kontrolne otopine, te je nakon inkubacije došlo do vezanja oxLDL-a na protutijela imobilizirana u jažicama mikrotitarskih ploča. Potom je dodan konjugat koji se sastoji od biotin-konjugiranog protutijela specifičnog za oxLDL, te je reakcija inkubirana, a suvišak nevezanog konjugata je uklonjen ispiranjem. Nakon toga je u svaku jažicu dodan HRPO (engl. *horseradish peroxidase*) enzim-konjugirani avidin, te je mikrotitarska ploča ponovno inkubirana i ispirana. Na kraju je dodan supstrat tetrametilbenzidin (TMB), koji je reagirao s HRPO enzimom, što se očitavalo promjenom boje u onim jažicama u kojima su bili prisutni oxLDL, biotin-konjugirana protutijela i enzim-konjugirani avidin. Nakon inkubacije, dodatkom sulfatne kiseline (H_2SO_4) reakcija između enzima i supstrata se zaustavila te je mjerena promjena boje spektrofotometrijski na 450 nm na čitaču u mikrotitarskih pločica Multiscan Ascent (Thermo Electron Corporation, Vantaa, Finska). S pomoću izmjerenih apsorbancija standardnih otopina razrjeenja 31,2-2000 pg/ml dobiven je baždarni dijagram, a s pomoću njega određivana koncentracija oxLDL u serumu ispitanika. Izmjerena apsorbancija uzoraka proporcionalna je koncentraciji oxLDL-a u serumu ispitanika.

3.2.9 Određivanje antitijela na oksidirani LDL

Koncentracija protutijela na oxLDL (OLAB) određena je enzimskim imunotestom „sandvič“ ELISA-om, koji se temelji na određivanju IgG protutijela na oxLDL (slika 8). U tu svrhu korišten je komercijalni ELISA test kit tvrtke Biomedica (Beč, Austrija) te je određivanje provedeno točno prema protokolu proizvođača. Uzorak, standardna ili kontrolna otopina bili su inkubirani u udubljenjima (jažicama) mikrotitrarskih ploča obloženih antigenom (oxLDL). OLAB se vezao za antigen imobiliziran u jažici, a ispiranjem je uklonjen nevezani suvišak. Prisutnost auto-protutijela bila je detektirana s pomoću IgG protutijela konjugiranih s peroksidazom. Stoga je u sljedećem koraku dodan konjugat monoklonskog protutijela nehumanog porijekla IgG s enzimom HRPO i ponovno provedena inkubacija. Potom je nevezani konjugat ispran, a dodatkom tetrametilbenzidina došlo je do katalitičke reakcije u kojoj je stvoren obojeni produkt. Reakcija je zaustavljena dodatkom sulfatne kiseline. Obojeni produkt je mogao nastati samo u jažicama u kojima je došlo do vezanja antigena na protutijelo, a intenzitet boje nastalog produkta enzimске reakcije izravno je proporcionalan koncentraciji protutijela u uzorku. Koncentracija prisutnih protutijela na oxLDL kvantitativno je određena mjerenjem apsorbancije na 450 nm na ita u mikrotitrarskih pločica Victor³ 1420 (Perkin Elmer, Waltham, SAD), s pomoću dobivenog baždarnog dijagrama.



Slika 8. Princip metode određivanja OLABA-a. 1- ox-LDL vezan za jažicu mikrotitrarske ploče; 2- uzorak/kontrolne otopine/standardne otopine; 3- konjugat (monoklonsko protutijelo IgG-HRPO); 4- promjena boje uzrokovana katalitičkom reakcijom substrata (TMB) i enzima

3.2.10 Određivanje koncentracija ostalih biokemijskih pokazatelja

Laboratorijska je analiza obuhvatila određivanje serumskih koncentracija ukupnog kolesterola, HDL-kolesterola, LDL-kolesterola, triglicerida, glukoze, CRP-a, urata i udjela hemoglobina A1c (HbA1c %).

Ukupni kolesterol određivan je enzimskom metodom na Olympus AU 2700 plus analizatoru koriste i reagens istog proizvođača (Beckman-Coulter, Tokio, Japan). Metoda se temelji na enzimskim reakcijama, pri čemu u prisutnosti kolesterol-esteraze dolazi do hidrolize kolesterol estera u uzorku, a potom s pomoću kolesterol oksidaze dolazi do oksidacije slobodnog kolesterola u kolesterol-3-on s usporednim stvaranjem hidrogen peroksida. Hidrogen peroksid se oksidativno veže s 4-aminoantipirinom i fenolom uz prisutnost peroksidaze te nastaje crveno obojani kinonimin koji se može mjeriti spektrofotometrijski.

HDL-kolesterol određuje se na Olympus AU2700 plus analizatoru koriste i reagens istog proizvođača (Beckman-Coulter, Tokio, Japan). LDL, VLDL i hilomikroni inhibirani su adsorpcijom na površinu deterdženta koji otapa samo HDL frakcije. Oslobođeni HDL-kolesterol u reakciji s kolesterol-esterazom, kolesterol oksidazom i kromogenom tvori obojani kompleks koji se mjeri spektrofotometrijski.

LDL-kolesterol određuje se na Olympus AU2700 plus analizatoru koriste i reagens istog proizvođača (Beckman-Coulter, Tokio, Japan). HDL, VLDL i hilomikroni se uklone selektivnom reakcijom s kolesterol esterazom i kolesterol oksidazom koja završava stvaranjem bezbojnog kompleksa preko razgradnje peroksidnog bioproducta katalazom. U drugom se koraku katalaza inhibira, a preostali LDL-kolesterol specifično reagira s kolesterol esterazom i kolesterol oksidazom. U prisutnosti peroksidaze, peroksidni bioproduct reagira s 4-aminoantipirinom i N-etil-N-(2-hidroksi-3-sulfopropil)-3-metilnilinom (TOOS) te se stvara kinonska boja koja se mjeri spektrofotometrijski.

Trigliceridi su određeni kolorenimskom metodom na Olympus AU2700 plus analizatoru koriste i reagens istog proizvođača (Beckman-Coulter, Tokio, Japan). Lipoprotein lipaza hidrolizira trigliceride na glicerol i masne kiseline. Nakon toga, glicerol kinaza fosforilira oslobođeni glicerol u glicerol-3-fosfat uz prisutnost ATP-a i magnezijevih iona. U sljedećem koraku glicerol-3-fosfat oksidaza uz prisutnost O₂ oksidira glicerol-3-fosfat pri čemu nastaju dihidroksiaceton-fosfat i hidrogen peroksid. Hidrogen peroksid u sljedećem koraku reagira s 4-

aminoantipirinom i fenolnim derivatom pri čemu nastaje obojani produkt koji se mjeri spektrofotometrijski.

Glukoza je određena enzimskom UV spektrofotometrijskom metodom s heksokinazom na Olympus AU 2700 plus analizatoru koriste i reagense istog proizvođača (Beckman-Coulter, Tokyo, Japan). Metoda se temelji na fosforilaciji glukoze uz pomoć heksokinaze u prisustvu adenozin trifosfata (ATP) i iona magnezija pri čemu nastaju glukoza-6-fosfat i adenozin difosfat (ADP). Glukoza-6-fosfat dehidrogenaza specifično oksidira glukoza-6-fosfat u glukonat-6-fosfat uz usporednu redukciju nikotinamid adenin dinukleotida (NAD⁺) u njegov reducirani oblik (NADH). Povećanje apsorbancije proporcionalno je koncentraciji glukoze u uzorku.

HbA1c je određen imunoinhibicijskim testom na Olympus AU 2700 plus analizatoru s reagensima istog proizvođača (Beckman-Coulter, Tokyo, Japan). Metoda se temelji na određivanju udjela HbA1c u ukupnom hemoglobinu, inhibicijom aglutinacije.

HbA1c se veže za HbA1c antitijela smješтана na lateks esticama. Kako je prisutno samo jedno specifično vezno mjesto na HbA1c molekuli, nakon vezanja antitijela za njega ne dolazi do aglutinacije. Naknadno se dodaje aglutiniraju i reagens tj. sintetski polimer koji u sebi sadrži višestruke kopije imunoreaktivnog HbA1c koji se veže za slobodna mjesta na lateks esticama. U uzorku bez HbA1c aglutiniraju i reagens se veže za sva slobodna mjesta na lateks esticama, a nastala aglutinacija se mjeri na turbidimetru. Ako je u uzorku prisutan HbA1c on će se vezati za antitijela na lateks esticama (nema aglutinacije), što dovodi do smanjenja broja slobodnih mjesta na lateks esticama za vezanje aglutinirajućeg reagensa. To će se odraziti smanjenjem apsorbancije koja je proporcionalna koncentraciji HbA1c. Udio HbA1c predstavlja odnos glikoziliranog i ukupnog hemoglobina: $HbA1c (\%) = HbA1c (g/L) / \text{ukupni Hb} (g/L) \times 100$.

Ispitivanje koncentracije **CRP**-a provedeno je s pomoću imunoturbidimetrije na Olympus AU 2700 plus analizatoru koriste i reagense istog proizvođača (Beckman-Coulter, Tokyo, Japan). Metoda se temelji na stvaranju kompleksa antigen-antitijelo u otopini. Mjeri se smanjenje intenziteta propuštene svjetlosti (povećanje apsorbancije) kroz estice suspendirane u otopini koje su nastale stvaranjem kompleksa antigen-antitijelo.

Urati su određivani iz seruma UV spektrofotometrijski na Olympus AU 2700 plus analizatoru koriste i reagense istog proizvođača (Beckman-Coulter, Tokyo, Japan), nakon enzimske reakcije s ureazom i 4-aminoantipirinom u prisutnosti soli N,N-bis(4-sulfobutil)-3,5-

dimetilnilina, pri čemu nastaje kromofor. Količina stvorene boje proporcionalna je koncentraciji mokraćne kiseline u uzorku.

3.2.11 Procjena tjelesne aktivnosti

Za procjenu tjelesne aktivnosti korištena je hrvatska verzija standardiziranog Meunarodnog upitnika o razini tjelesne aktivnosti IPAQ (engl. *International Physical Activity Questionnaire- short form*) (prilog 2). Navedeni je upitnik namijenjen ispitivanju tjelesne aktivnosti odraslih osoba (15-69 godina), stoga je primjeren ovom istraživanju u kojem se ispituju pretili bolesnici u dobi 20-69 godina. Valjanost i pouzdanost IPAQ-a potvrđene su u radu Craiga i suradnika [163], a hrvatska verzija je validirana u radu Turinova i suradnika [164].

Podaci za ovo istraživanje prikupljeni su metodom strukturiranog intervjua. Ispitanici su odgovarali na sedam pitanja o količini vremena utrošenog na pojedinu vrstu tjelesne aktivnosti u posljednjih sedam dana. Pitanja su kreirana tako da su ispitanici morali odrediti uсталost bavljenja aktivnostima visokog, umjerenog i niskog intenziteta u posljednjih sedam dana.

Aktivnostima visokog intenziteta smatrane su tjelesne aktivnosti koje uzrokuju teški tjelesni napor i puno brže disanje od uobičajenog (primjerice podizanje teških predmeta, kopanje, aerobik ili brza vožnja biciklom).

U aktivnosti umjerenog intenziteta ubrajale su se aktivnosti koje uzrokuju umjereni tjelesni napor i nešto brže disanje od uobičajenog (primjerice nošenje lakšeg tereta, vožnja biciklom umjerenim tempom, tenis i sl.).

Aktivnostima niskog intenziteta smatrane su sve ostale aktivnosti koje ne ulaze u gore navedene kategorije, primjerice hodanje.

Tjelesna aktivnost izražena je metaboličkim jedinicama; MET- skor i MET-minuta. 1 MET odgovara primitku kisika u mirovanju 3,5 ml/kg x min. Energetski utrošak od 1 MET iznosi približno 1 Kcal/kg/h. Prema Ainsworthu, MET skor za hodanje iznosi 3,3, za tjelesnu aktivnost umjerenog intenziteta 4,0, a za tjelesnu aktivnost visokog intenziteta 8,0 [165]. MET-minute predstavljaju mjernu jedinicu koja se dobije umnoškom MET-skora pojedine aktivnosti i minuta trajanja aktivnosti. MET-minute su ekvivalent kilokalorijama koje osoba tjelesne mase 60 kg potroši tijekom mirnog sjedenja u trajanju od 60 minuta. Izražavanje ukupnog rezultata podrazumijeva sumiranje trajanja (u minutama) i frekvencije (u danima/tjedan) pojedine vrste

aktivnosti. Energetska potrošnja ispitanika u ovom radu je izražena kao kontinuirana varijabla u MET-min/tjedan.

$$\text{MET-min/tjedan} = \text{MET skor} \times \text{minute aktivnosti/dan} \times \text{dani u tjednu}$$

3.2.12 Određivanje metaboličkog sindroma

Metabolički sindrom je bio određen prema kriterijima koje su zajednički definirale Radna skupina za epidemiologiju i prevenciju Međunarodne udruge za dijabetes (engl. *International Diabetes Federation TaskForce on Epidemiology and Prevention*), Institut za srce, pluća i krv Američkog društva za srce (engl. *National Heart, Lung, and Blood Institute, American Heart Association*), Svjetska udruga za srce (engl. *World Heart Federation*), Međunarodno društvo ateroskleroze (engl. *International Atherosclerosis Society*) i Međunarodna udruga za istraživanje pretilosti (engl. *International Association for the Study of Obesity*) [166]. Ispitanici čija mjerenja su odstupala od normalnih vrijednosti u tri od pet navedenih kriterijuma, ispunjavali su uvjete za dijagnozu metaboličkog sindroma; povećan opseg struka (≥ 94 cm u muških ispitanika; ≥ 80 cm u ženskih), razina triglicerida ≥ 1.7 mmol/L ili terapija lijekovima za sniženje triglicerida, razina HDL-kolesterola < 1 mmol/L u muškaraca ili < 1.3 mmol/L u žena ili terapija lijekovima koji djeluju na HDL-kolesterol, sistolički arterijski tlak ≥ 130 mmHg i/ili dijastolički arterijski tlak ≥ 85 mmHg ili terapija antihipertenzivima, koncentracija glukoze u plazmi na tašte ≥ 5.5 mmol/L.

3.2.13 Statistička obrada podataka

Prikupljeni su podaci uneseni u SPSS v 20.0 (SPSS Inc, Chicago, SAD) u svrhu analize.

Za određivanje razdiobe podataka i osnovnih statističkih pokazatelja korištena je opisna statistika. Razdioba podataka u odnosu na normalnu razdiobu analizirana je Kolmogorov-Smirnovljevim testom, zasebno za svaku randomiziranu skupinu. Kao mjere središnje tendencije i varijabilnosti korišteni su prosjek i standardna devijacija u slučajevima normalne razdiobe ili medijan i interkvartilni raspon u slučajevima kada je razdioba odstupala od normalne. Kategorijski podaci prikazani su kao apsolutni i relativni broj (postotak).

Za testiranje razlika između MD i SHD skupine i razlika između serijskih mjerenja unutar iste skupine korištene su univarijatna i multivarijatna ANOVA ponovljenih mjerenja. Svaki pojedinačni odgovor na intervenciju tijekom vremena bio je ponovljeno mjerenje (po etna

vrijednost, nakon 7 dana, 1, 3, 6 i 12 mjeseci), a dodijeljena dijeta (MD vs SHD) inila je me u-subjektni imbenik (engl. *between-subject factor*). U inak interakcije vremena i intervencije testiran je uz pretpostavku da je ispunjen uvjet sferi nosti. Ukoliko pretpostavka sferi nosti nije bila potvr ena Mauchly-evim testom, ra ena je korekcija za broj stupnjeva slobode za F-raspodjelu, za što je primijenjena Greenhouse-Geisserova (u slu aju $< 0,75$) ili Huynh-Feldtova (u slu aju $> 0,75$) prilagodba.

Kategorijski podaci analizirani su hi-kvadrat testom ili Fisherovim egzaktnim testom (u slu aju da je u više od 20% polja tablice kontingencije imalo o ekivanu frekvenciju manju od 5).

Korišten je model multiple regresije u svrhu odre ivanja prediktivnih varijabli za pokazatelje oksidativnog stresa i uspješnosti u mršavljenju, te model binarne logisti ke regresije za odre ivanje varijabli koje doprinose ostanku ispitanika u programu mršavljenja.

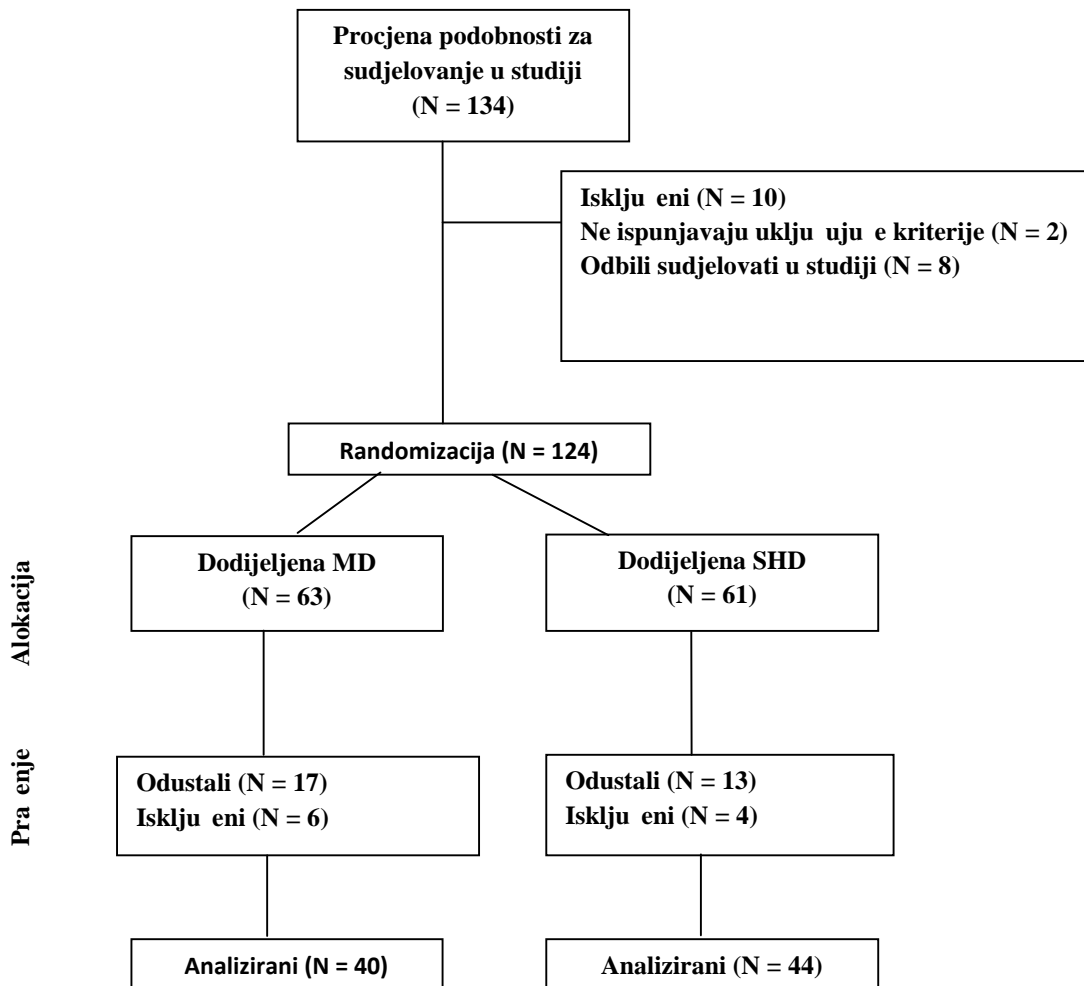
Provedena je analiza po realiziranom protokolu (engl. *per protocol analysis*) gdje su u obradu bili uklju eni svi bolesnici koji su ispunili istraživa ki protokol te iji su rezultati bili dostupni. Kako bi se izbjegle predrasude, aproksimacija kona nih rezultata koji nedostaju nije ra ena te su podaci koji nedostaju automatski isklju eni statisti kom obradom. Rezultati dobiveni statisti kom obradom prikazani su grafi ki i numeri ki (tabelarno).

S obzirom na to da nema razloga tvrditi da razlika, ukoliko postoji, može biti samo u jednome smjeru, primijenjeni su dvosmjerni testovi koji su se smatrali statisti ki zna ajnim ukoliko je $p < 0.05$.

4. REZULTATI

4.1 OBILJEŽJA ISPITANIKA NA POČETKU STUDIJE

Nakon probira ispitanika, u studiju je bilo uključeno 124 bolesnika, dok njih desetero nije ispunilo kriterije uključivanja. Razlozi neuključivanja su bili novodijagnosticirana šećerna bolest tipa 2 (N = 1) i nedostatak dobi (N = 1) te odbijanje dolaska na protokolom određene kontrolne posjete i time odbijanje sudjelovanja u studiji (N = 8). Od 124 uključena bolesnika, njima 63 (Ž = 44, M = 19) je dodijeljena MD, a 61 (Ž = 48, M = 13) SHD. Tijekom razdoblja praćenja od 12 mjeseci, 17 ispitanika iz MD i 13 ispitanika iz SHD skupine je odustalo ili bilo isključeno iz studije, a do kraja studije je ostalo 40 ispitanika u MD i 44 ispitanika u SHD skupini. Grafikon randomizacije i tijekom studije prikazan je na slici 9, a pojedinosti o bolesnicima koji su isključeni ili odustali bit će prikazane u poglavlju 4.2.



Slika 9. Grafikon randomizacije i tijekom studije

Na početku studije bolesnicima su određena sociodemografska, antropometrijska i klinička obilježja, uključujući i biokemijske pretrage te određeni pokazatelji oksidativnog stresa i antioksidativni potencijal.

Starosna dob ispitanika bila je u rasponu od 21 do 69 godina (srednja vrijednost $47,5 \pm 12,42$). Od ukupnog broja bolesnika uključeni u istraživanje, u njih 84 (67,7%) dijagnosticiran je metabolički sindrom. Sociodemografska i klinička obilježja ispitanika u MD i SHD skupinama prikazana su u tablici 6. Iz određeni P vrijednosti, vidljivo je da nitko jedan pokazatelj nije statistički značajno odstupao među uspoređivanim skupinama.

Tablica 6. Sociodemografska i klinička obilježja ispitanika na početku studije (N = 124)

| OBILJEŽJE | MD | SHD | P* |
|---|----------------|----------------|-------|
| SOCIODEMOGRAFSKA OBILJEŽJA | | | |
| Dob (godine) | 46,2 ± 12,7 | 49,0 ± 12,1 | 0,212 |
| Spol (ženski) N (%) | 44 (69,8) | 48 (78,7) | 0,260 |
| Stupanj obrazovanja (sveučilišni stupanj) N (%) | 26 (41,9) | 16 (27,1) | 0,087 |
| Radni odnos (zaposleni) N (%) | 31 (50,0) | 22 (37,3) | 0,159 |
| Brakni status (u braku) N (%) | 41 (67,2) | 41 (67,2) | 1,000 |
| KLINIČKA OBILJEŽJA | | | |
| Godine kada je započela pretilost < 20 godina N (%) | 21 (33,3) | 17 (28,8) | 0,590 |
| 20 godina N (%) | 42 (66,7) | 42 (71,2) | |
| Pretilost u roditelja N (%) | 39 (65,0) | 40 (69,0) | 0,647 |
| Metabolički sindrom N (%) | 43 (68,3) | 41 (67,2) | 0,901 |
| Bolesti štitnjače N (%) | 11 (17,5) | 16 (26,2) | 0,280 |
| Depresija N (%) | 6 (9,5) | 6 (9,8) | 1,000 |
| Pušenje N (%) | 10 (16,4) | 11 (18,6) | 0,746 |
| SAT (mmHg) | 134,19 ± 16,74 | 135,34 ± 17,04 | 0,706 |
| DAT (mmHg) | 84,24 ± 12,17 | 83,87 ± 10,96 | 0,860 |

SAT - sistolički arterijski tlak; DAT - dijastolički arterijski tlak

Rezultati izraženi kao srednja vrijednost ± SD ili N (%)

* Razlike između dviju skupina određene su Studentovim-t testom za neovisne uzorke i Hi-kvadrat testom za kategorijske varijable.

Od antropometrijskih pokazatelja mjereni su tjelesna masa, ITM i opseg struka. Prosječan ITM od $41,59 \pm 7,32 \text{ kg/m}^2$ upućuje na ekstremnu pretilost, odnosno treći (najviši) stupanj pretilosti u ispitanom uzorku bolesnika. Kao mjera abdominalne pretilosti određivan je opseg struka, a njegova prosječna vrijednost od $122,72 \pm 16,93 \text{ cm}$ je također u vrlo visokom području.

Antropometrijski pokazatelji za pojedinu skupinu prikazani su u tablici 7 te za njih nije na ena statisti ki zna ajna razlika u po etnim vrijednostima izme u ispitivanih skupina.

Tablica 7. Antropometrijski pokazatelji ispitanika na po etku studije

| POKAZATELJ | MD N = 63 | SHD N = 61 | P* |
|-------------------------------|---------------------|----------------------|-----------|
| ITM (kg/m²) | 41,98 ± 7,59 | 41,20 ± 7,07 | 0,553 |
| Tjelesna masa (kg) | 117,21 ± 23,54 | 114,67 ± 22,64 | 0,543 |
| Opseg struka (cm) | 123,96 ± 17,19 | 121,45 ± 16,70 | 0,411 |

ITM - indeks tjelesne mase

Rezultati izraženi kao srednja vrijednost ± SD

* Razlike izme u dviju skupina odre ene su Studentovim-t testom

Pri uklju ivanju ispitanika u studiju odre eni su i biokemijski pokazatelji koji su inili sekundarne ishode studije. Prema referentnim vrijednostima Klini kog zavoda za laboratorijsku dijagnostiku KB Dubrava, prosje ne vrijednosti biokemijskih pokazatelja su ve inom bile u preporu enom intervalu (GUP-NT, HbA1c, HDL-kolesterol, urati) ili blago povišene (LDL-kolesterol, trigliceridi, ukupni kolesterol i CRP). Tablica 8 prikazuje biokemijske pokazatelje na po etku studije za skupine bolesnika na MD i SHD. Izme u uspore ivanih skupina nije bilo statisti ki zna ajne razlike.

Tablica 8. Biokemijski pokazatelji ispitanika na po etku studije

| BIOKEMIJSKI POKAZATELJI | MD N = 63 | SHD N = 61 | P* |
|-----------------------------------|---------------------|----------------------|-----------|
| GUP-NT (mmol/L) | 5,80 ± 1,46 | 5,88 ± 1,53 | 0,774 |
| HbA1c (%) | 5,66 ± 0,82 | 5,64 ± 0,89 | 0,903 |
| LDL-kolesterol (mmol/L) | 3,20 ± 0,98 | 3,32 ± 1,09 | 0,509 |
| HDL-kolesterol (mmol/L) | 1,33 ± 0,24 | 1,36 ± 0,34 | 0,108 |
| muškarci (N = 32) | 1,21 ± 0,25 | 1,18 ± 0,24 | 0,728 |
| žene (N = 93) | 1,30 ± 0,23 | 1,41 ± 0,34 | 0,085 |
| Trigliceridi (mmol/L) | 1,73 ± 0,84 | 1,91 ± 1,86 | 0,483 |
| Ukupni kolesterol (mmol/L) | 5,17 ± 1,02 | 5,54 ± 1,33 | 0,087 |
| Urati (μmol/L) | 348,35 ± 79,03 | 342,62 ± 86,65 | 0,702 |
| CRP | 7,52 ± 6,63 | 7,13 ± 5,63 | 0,730 |

HbA1c- hemoglobin A1c; GUP-NT- koncentracija glukoze u plazmi natašte; SAT- sistoli ki arterijski tlak; DAT- dijastoli ki arterijski tlak

Rezultati izraženi kao srednja vrijednost ± SD

* Razlike izme u dviju skupina odre ene su Studentovim-t testom za neovisne uzorke i Hi-kvadrat testom za kategorijske varijable.

Tijekom uzimanja anamneze od uklju enih je bolesnika prikupljena i farmakoterapijska anamneza. Bolesnicima je u prosjeku bilo propisano $2,97 \pm 2,83$ lijekova. Iako su bolesnici u SHD skupini uzimali nešto više lijekova nego oni u MD skupini ($3,38 \pm 2,63$ vs $2,57 \pm 2,97$), ipak nije bilo statistički značajne razlike u broju propisanih lijekova između skupina ($t = -1,602$; $df = 121$; $P = 0,112$). Najčešće propisivani lijekovi su bili antihipertenzivi koje je ukupno uzimalo 65 (52,4%) bolesnika, a slijedili su hipolipemici koje je uzimalo 22 (17,7%) bolesnika. Za nit jednu skupinu lijekova nije ustanovljena statistički značajna razlika između ispitivanih skupina, što je vidljivo u tablici 9.

Tablica 9. Terapija lijekovima uklju enih ispitanika na početku studije

| | MD | SHD | P* |
|--|-------------|-------------|-------|
| Broj propisanih lijekova | 2,57 ± 2,97 | 3,38 ± 2,63 | 0,112 |
| Antihipertenzivi | 28 (44,4) | 37 (60,7) | 0,071 |
| Antidijabetici | 8 (12,7) | 6 (9,8) | 0,615 |
| Hipolipemici | 11 (17,5) | 10 (16,4) | 0,874 |
| Analgetici | 6 (9,5) | 6(9,8) | 0,953 |
| Psihotropni lijekovi (anksiolitici, antipsihotici, antidepresivi) | 9 (14,3) | 11 (18,0) | 0,571 |
| Hormoni štitnjače | 8 (12,7) | 12 (19,7) | 0,291 |

Rezultati izraženi kao srednja vrijednost ± SD ili N (%)

* Razlike između dviju skupina određene su Studentovim-t testom za neovisne uzorke i Hi-kvadrat testom za kategorijske varijable.

Pokazatelji oksidativnog stresa i antioksidativni potencijal, kao primarne mjere ishoda, također su bili određivani na početku studije; TAC je mjereno za sve randomizirane bolesnike (N = 124), dok su po etni oxLDL i OLAB mjereni samo u bolesnika koji su završili cjelokupni program (N = 84). Izmjerene prosječne vrijednosti su prikazane u tablici 5, te se vidi da nisu statistički značajno odstupale između ispitivanih skupina.

Tablica 10. Pokazatelji oksidativnog stresa i antioksidativni potencijal na početku studije

| POKAZATELJ | N | MD | SHD | P* |
|-----------------------|-----|-----------------|-----------------|-------|
| TAC (mmolTE/L) | 124 | 2,40 ± 0,43 | 2,38 ± 0,46 | 0,864 |
| oxLDL (pg/mL) | 84 | 650,09 ± 281,99 | 644,77 ± 289,54 | 0,932 |
| OLAB (mU/mL) | 84 | 622,05 ± 388,88 | 615,43 ± 378,31 | 0,937 |

TAC- ukupni antioksidacijski potencijal; oxLDL- oksidirani LDL; OLAB- antitijela na oksidirani LDL

Rezultati izraženi kao srednja vrijednost ± SD

* Razlike između dviju skupina određene su Studentovim-t testom

Na početku studije svim je ispitanicima određen intenzitet tjelesne aktivnosti, a iznosio je $1659,47 \pm 1878,39$ MET-min/tjedan, što odgovara srednjem intenzitetu tjelesne aktivnosti. Ispitanici u skupini MD su bili tjelesno nešto aktivniji, iako ne statistički značajno ($t = 0,740$; $df = 118$; $P = 0,461$) (tablica 11). S obzirom na vrijeme provedeno sjedeći, ispitanici su u prosjeku proveli $488,05 \pm 232,52$ min/dan sjedeći, što odgovara vremenu od otprilike 8 sati/dan. Bolesnici iz skupine MD su u prosjeku sjedili $23,72 \pm 42,96$ min/dan više nego bolesnici u SHD skupini, što također nije bilo statistički značajno ($P = 0,582$) (tablica 11).

Tablica 11. Razina tjelesne aktivnosti na početku studije

| POKAZATELJ | MD | SHD | P |
|--|-----------------------|-----------------------|----------|
| Vrijeme provedeno sjedeći (min/dan) | $509,51 \pm 217,40$ | $485,79 \pm 249,03$ | 0,582 |
| Intenzitet tjelesne aktivnosti (MET-min/tjedan) | $1782,39 \pm 2201,04$ | $1528,08 \pm 1465,48$ | 0,461 |

MET- metabolički ekvivalent

Rezultati izraženi kao srednja vrijednost \pm SD

* Razlike između dviju skupina određene su Studentovim-t testom

4.2 PRAĆENJE BOLESNIKA: RAZLOZI ISKLJUČIVANJA IZ PROGRAMA I ODUSTAJANJA OD NJEGA

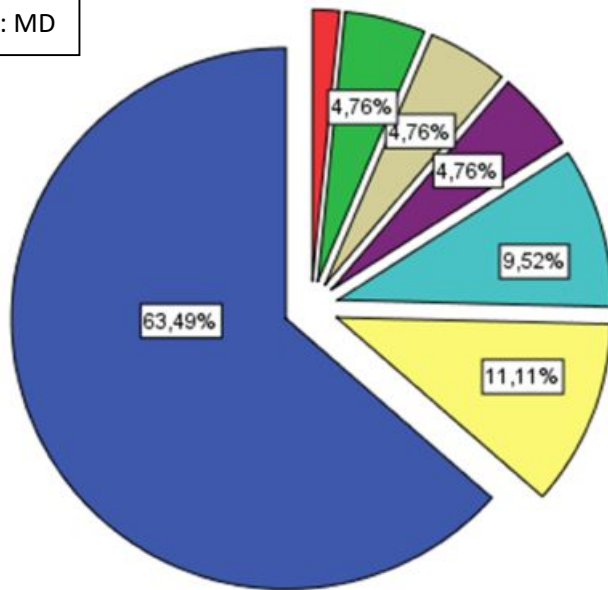
Program u trajanju od dvanaest mjeseci završilo je sveukupno 84 (67,7%) ispitanika. Najveći broj ispitanika, njih 20 (16,1%), odustalo je ili su bili isključeni u drugoj polovici programa, u razdoblju između šest i dvanaest mjeseci. Samo je dvoje (1,6%) bolesnika odustalo tijekom prvog mjeseca, njih 11 (8,9%) između prvog i trećeg mjeseca, a 7 (5,6%) bolesnika između trećeg i šestog mjeseca. Tablica 12 prikazuje broj ispitanika koji su odustali ili bili isključeni zasebno za svaku randomizacijsku skupinu. Iz studije je izišlo nešto više ispitanika iz MD skupine u usporedbi s onima iz SHD skupine, i to u razdoblju između prvog i šestog mjeseca (13 vs. 7).

Tablica 12. Izlazak ispitanika iz studije

| Dodijeljena skupina | Period izlaska iz studije | N (%) |
|----------------------------|----------------------------------|--------------|
| MD | Tijekom prvog mjeseca | 1 (1,6) |
| | Izme u 1. i 3. mjeseca | 7 (11,1) |
| | Izme u 3. i 6. mjeseca | 5 (7,9) |
| | Izme u 6. i 12. mjeseca | 10 (15,9) |
| SHD | Tijekom prvog mjeseca | 1 (1,6) |
| | Izme u 1. i 3. mjeseca | 4 (6,6) |
| | Izme u 3. i 6. mjeseca | 2 (3,3) |
| | Izme u 6. i 12. mjeseca | 10 (16,4) |

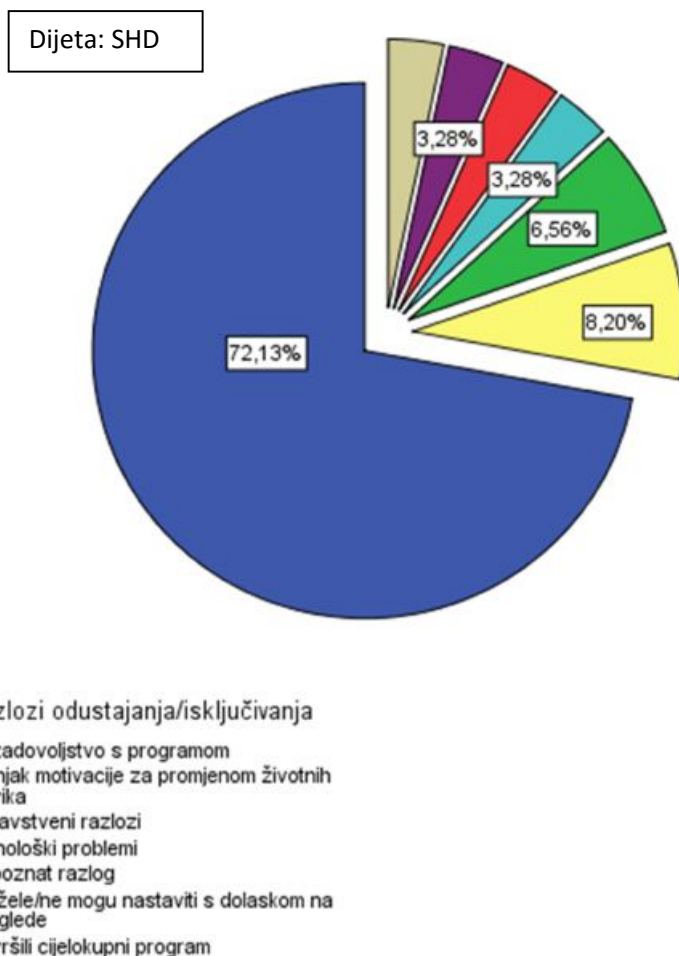
Pet je bolesnika isključeno iz studije zbog zdravstvenih razloga, od čega troje iz skupine MD te dvoje iz SHD skupine. Zdravstveni razlozi bili su: trudnoća (dvije ispitanice na MD i jedna na SHD), akutno zatajenje bubrega (ispitanik na SHD) i karcinom želuca sa smrtnim ishodom (ispitanica na MD). U četiri bolesnika je procijenjeno da nisu psihološki spremni za nastavak programa. Bolesnici koji su samostalno odustali od programa kao razloge odustajanja naveli su sljedeće: manjak motivacije za promjenom životnih navika (N = 7), nemogućnost (zbog radnog vremena, transporta ili financijske situacije) ili nedostatak želje za dolazak na kontrolni pregled (N = 12), te nezadovoljstvo programom (N = 3). U osam ispitanika, razlog odustajanja je nepoznat jer nije bilo moguće kontaktirati bolesnike. Slike 10 i 11 prikazuju udio bolesnika koji su završili program te razloge odustajanja ili isključivanja onih koji su izašli iz studije zasebno za svaku dodijeljenu dijetu.

Dijeta: MD



- Razlozi odustajanja/isključivanja
- nezadovoljstvo s programom
 - manjak motivacije za promjenom životnih navika
 - zdravstveni razlozi
 - psihološki problemi
 - nepoznat razlog
 - ne žele/ne mogu nastaviti s dolaskom na preglede
 - završili cijelokupni program

Slika 10. Udio bolesnika iz MD skupine koji su završili program te razlozi odustajanja ili iskljuivanja onih koji su izišli iz studije



Slika 11. Udio bolesnika iz SHD skupine koji su završili program te razlozi odustajanja ili isključenja onih koji su izišli iz studije

Jedan od ciljeva ove disertacije bio je odrediti varijable koje su utjecale na odustajanje bolesnika od programa mršavljenja. Među ispitanim varijablama bila su sociodemografska i klinička obilježja te vrsta dodijeljene dijeta. Varijable koje su pokazale da se statistički značajno razlikuju među ispitanicima koji su završili program i onih koji nisu (tablica 13) bile su uključene u model logističke regresije kako bi se utvrdio njihov utjecaj na ostanak bolesnika u programu mršavljenja. Model je sadržavao sljedeće nezavisne varijable: spol, tjelesnu masu i stupanj obrazovanja te odustajanje ili ostanak u programu mršavljenja kao zavisnu varijablu. Kako su antropometrijski pokazatelji (tjelesna masa, opseg struka i ITM) u međusobnoj korelaciji, za model logističke regresije bio je uzet samo jedan od njih – tjelesna masa. Model se pokazao statistički značajnim ($\chi^2 = 16,976$; $df = 3$; $p = 0,001$), a prema Waldovu testu

zna ajnosti koeficijenta, od prediktora su statisti ki zna ajni bili tjelesna masa ($P = 0,010$) i stupanj obrazovanja ($P = 0,018$), dok se spol nije pokazao kao prediktivna varijabla ($P = 0,447$) za ostanak u programu mršavljenja (tablica 14). Rezultati su pokazali da su osobe s višim stupnjem obrazovanja imale 3,26 ve e izgleda za ostanak u programu od onih s nižim stupnjem obrazovanja. Omjer izgleda za po etnu tjelesnu masu ($OR = 0,974$) ukazuje na to da što je viša po etna masa to je manji izgled da e osoba završiti program mršavljenja. Nakon što su uzeti u obzir drugi imbenici uklju eni u model, izgled pojedinca da završi program smanjuje se 0,974 puta sa svakim kilogramom više što osoba teži.

Tablica 13. Razlike me u ispitanicima koji su odustali i koji su završili program mršavljenja u sociodemografskim i klini kim obilježjima te dodijeljenoj dijeti

| VARIJABLE | Ispitanici koji su završili program (N = 84) | Ispitanici koji su odustali (N = 40) | P |
|---|--|--------------------------------------|----------------|
| SOCIODEMOGRAFSKA OBILJEŽJA | | | |
| Dob (godine) | 48,79 ± 13,10 | 44,90 ± 10,54 | 0,104* |
| Spol (ženski) N (%) | 67 (79,8) | 25 (62,5) | 0,040** |
| ITM (kg/m^2) | 40,29 ± 6,46 | 44,34 ± 8,30 | 0,008* |
| Tjelesna masa (kg) | 111,39±20,07 | 125,55±26,05 | 0,001* |
| Opseg struka (cm) | 119,38±14,20 | 129,76±19,99 | 0,005* |
| Stupanj obrazovanja (sveu ilišni stupanj) N (%) | 34 (41,0) | 8 (21,1) | 0,040** |
| Radni status (zaposleni) N (%) | 34 (41,0) | 19 (51,0) | 0,267** |
| Bra ni status (u braku) N (%) | 51 (62,2) | 31 (77,5) | 0,091** |
| Broj djece | 1,63±1,18 | 2,05±1,51 | 0,099* |
| KLINI KA OBILJEŽJA | | | |
| Godine kada je zapo ela pretilost < 20 godina N (%) | 26 (31,7) | 12 (30,0) | 0,848** |
| Pretilost u roditelja N (%) | 53 (66,7) | 26 (68,4) | 0,815** |
| Metaboli ki sindrom N (%) | 58 (69) | 26 (65) | 0,652** |
| Broj propisanih lijekova | 3,17±2,69 | 2,55±3,09 | 0,257* |
| Bolesti štitnja e N (%) | 20 (28,8) | 7 (17,5) | 0,426** |
| Depresija N (%) | 9 (10,7) | 3 (7,5) | 0,571** |
| Pušenje N (%) | 13 (15,7) | 8 (21,6) | 0,428** |
| DODIJELJENA DIJETA | | | |
| MD (%) | 40 (47,6) | 23 (57,5) | 0,304** |
| SHD (%) | 44 (52,4) | 17 (42,5) | |

ITM- indeks tjelesne mase; MD- mediteranska dijeta; SHD- standardna hipolipemi ka dijeta

Rezultati izraženi kao srednja vrijednost ± SD ili N (%)

Razlike izme u dviju skupina odre ene su Studentovim-t testom za neovisne uzorke* i Hi-kvadrat testom za kategorijske varijable**.

Tablica 14. Rezultati logisti ke regresije za zavisnu varijablu ostanak u programu mršavljenja

| Prediktor | B | SE | Wald | df | OR (95% CI) | P |
|---|--------|-------|-------|----|---------------------|-------|
| Spol (ženski) | 0,400 | 0,526 | 0,578 | 1 | 1,492 (0,532-4,186) | 0,447 |
| Tjelesna masa (kg) | -0,027 | 0,010 | 6,674 | 1 | 0,974 (0,954-0,994) | 0,010 |
| Stupanj obrazovanja (sveu ilišni stupanj) | 1,182 | 0,500 | 5,578 | 1 | 3,261 (1,223-8,695) | 0,018 |

B - koeficijent regresije; SE - standardna pogreška; Wald - Waldov test; df - stupnjevi slobode; OR - omjer šansi (engl. *odds ratio*) ; 95% CI - 95%-tni interval pouzdanosti (engl. *confidence interval*)

4.3 PRAĆENJE PRIDRŽAVANJA DIJETE

Podatke o unosu odre enih namirnica tijekom istraživanja dobili smo od ispitanika pomo u prehrambenog upitnika. Koli ina unesenih namirnica karakteristi nih za mediteransku prehranu (maslinovo ulje, orašasti plodovi i riba), ija je konzumacija bila preporu ena bolesnicima u MD skupini, uvelike se razlikovala od one u SHD skupini (tablica 15). Unos ostalih namirnica bio je podjednak u obje skupine (tablica 15). U odnosu na po etne vrijednosti, ispitanici u obje skupine su zna ajno smanjili unos crvenog mesa (nakon 1 mjeseca: $P < 0,001$ u SHD skupini i $P < 0,001$ u MD skupini; nakon 12 mjeseci: $P < 0,001$ u SHD skupini i $P = 0,001$ u MD skupini), unos slatkih jela (nakon 1 mjeseca: $P < 0,001$ u SHD skupini i $P < 0,001$ u MD skupini; nakon 12 mjeseci: $P < 0,001$ u SHD skupini i $P < 0,001$ u MD skupini) i zasla enih pi a (nakon 1 mjeseca: $P = 0,001$ u SHD skupini i $P = 0,003$ u MD skupini; nakon 12 mjeseci: $P = 0,012$ u SHD skupini i $P = 0,007$ u MD skupini).

Tablica 15. Unos glavnih namirnica nakon 1 i 12 mjeseci

| Namirnica | | Unos na početku | P* | Unos nakon 1 mjesec | P* | Unos nakon 12 mjeseci | P* |
|-------------------------------------|-----|------------------|-------|---------------------|---------|-----------------------|-------|
| Maslinovo ulje (ml/tjedan) | MD | 77,5 ± 25,45 | 0,750 | 169,9 ± 93,71 | < 0,001 | 98,6 ± 78,78 | 0,004 |
| | SHD | 70,8 ± 75,56 | | 61,4 ± 71,69 | | 49,7 ± 64,42 | |
| Orašasti plodovi (g/tjedan) | MD | 40,1 ± 146,97 | 0,730 | 22,0 ± 31,40 | 0,411 | 42,4 ± 42,10 | 0,012 |
| | SHD | 32,9 ± 59,33 | | 17,3 ± 24,18 | | 21,1 ± 31,23 | |
| Riba (g/tjedan) | MD | 238,7 ± 194,52 | 0,647 | 320,4 ± 201,60 | 0,011 | 270,0 ± 193,59 | 0,049 |
| | SHD | 215,0 ± 292,85 | | 215,7 ± 197,28 | | 186,2 ± 177,77 | |
| Voće (g/dan) | MD | 252,4 ± 330,67 | 0,177 | 277,7 ± 149,61 | 0,747 | 235,4 ± 188,21 | 0,179 |
| | SHD | 186,5 ± 168,99 | | 267,6 ± 155,87 | | 189,1 ± 98,42 | |
| Povrće (g/dan) | MD | 260,5 ± 215,77 | 0,670 | 251,4 ± 174,64 | 0,469 | 202,5 ± 175,24 | 0,873 |
| | SHD | 244,1 ± 212,24 | | 226,1 ± 163,98 | | 197,2 ± 119,77 | |
| Crveno meso (g/tjedan) | MD | 1989,2 ± 2211,07 | 0,083 | 291,0 ± 265,74 | 0,371 | 767,3 ± 628,12 | 0,140 |
| | SHD | 1433,3 ± 1018,82 | | 351,5 ± 396,57 | | 565,4 ± 592,36 | |
| Slatka jela [#] (g/tjedan) | MD | 792,1 ± 1125,40 | 0,805 | 28,3 ± 50,08 | 0,064 | 167,3 ± 221,95 | 0,277 |
| | SHD | 745,8 ± 898,34 | | 178,4 ± 580,86 | | 243,8 ± 395,54 | |
| Zaslađena pića (ml/tjedan) | MD | 1413,9 ± 3103,36 | 0,507 | 43,1 ± 140,36 | 0,904 | 152,4 ± 317,9 | 0,865 |
| | SHD | 1976,7 ± 5760,21 | | 40,0 ± 109,54 | | 168,4 ± 508,37 | |

Rezultati izraženi kao srednja vrijednost ± SD

* Razlike između u dviju skupina određene su Studentovim-t testom

[#]Slatka jela su uključivala torte, kolače, kekse, pekarske proizvode i slatkiše

4.4 UČINAK MEDITERANSKE DIJETE NA OKSIDATIVNI STRES – PRIMARNI CILJ ISTRAŽIVANJA

4.4.1 Učinak mediteranske dijetete na antioksidativni potencijal

S obzirom na primarne ciljeve ovoga rada, promatran je utjecaj inak prehrane na TAC nakon jednog i dvanaest mjeseci te je uspoređivan između u dvjema dodijeljenim dijetama. Nakon prvih mjesec dana, utjecaj je da su obje dijetete dovele do povećanja TAC vrijednosti u nešto manje od polovice ispitanika; povećanje je zabilježeno u nešto više bolesnika na MD (N = 52 (42,6%)), u odnosu na 47 bolesnika (38,5%) iz SHD skupine, iako bez statistički značajne razlike ($\chi^2 = 0,611$; df = 1; P = 0,434). No, nakon duljeg razdoblja pridržavanja dodijeljene dijetete ipak je došlo do statistički značajne razlike u utjecaju na TAC između u dviju intervencija. Tako je nakon

dvanaestomjesečne intervencije, uoeno povećanje TAC vrijednosti u odnosu na početnu vrijednost u 28 (33,3%) bolesnika na MD te u 17 bolesnika (20,2%) na SHD, a razlika u broju bolesnika kod kojih se pokazao pozitivan učinak na TAC vrijednosti bila je statistički značajna između proučavanih skupina ($\chi^2 = 8,286$; $df = 1$; $P = 0,004$).

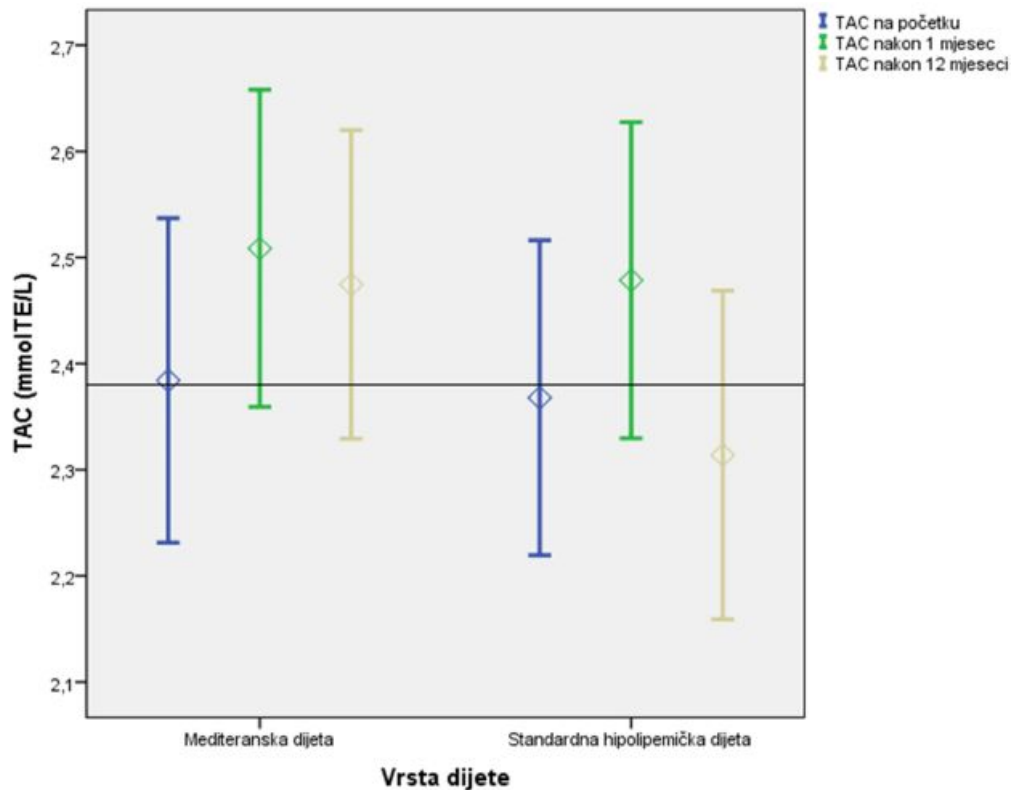
Da bismo bolje istražili učinak dviju dijeta na vrijednosti TAC-a u serumu, dodatno smo testirali razliku TAC vrijednosti između skupina na MD i SHD tijekom vremena. U tu svrhu korištena je ANOVA s ponovljenim mjerenjima, a rezultati su prikazani u tablici 16. Dokazan je statistički značaj u inak tijekom vremena ($F = 13,483$; $df = 1,697$; $P < 0,001$) s parcijalnim $\eta^2 = 0,141$, što upućuje na veliki učinak. U inak interakcije vremena i dijeta također je bio statistički značajan ($F = 5,350$; $df = 1,697$; $P = 0,009$), sa srednjom veličinom učinka u inka ($\eta^2 = 0,061$), dok u inak same dijeta nije pokazao statističku značajnost ($F = 0,463$; $df = 1$; $P = 0,499$). Razlog tome je vrlo sličan u inak MD i SHD tijekom prvog mjeseca intervencije. Na slici 12 grafički su prikazani navedeni rezultati; promjena srednjih vrijednosti TAC-a nakon prvog i dvanaestog mjeseca intervencije nije bila ujednačena među dijetama, što posebice dolazi do izražaja u razdoblju između prvog i dvanaestog mjeseca te podupire ustanovljenu statističku značajnost interakcije u inka vremena i dijeta na TAC vrijednosti.

Tablica 16. Koncentracije TAC-a u serumu u MD i SHD skupinama na početku, nakon 1 i 12 mjeseci

| TAC (mmolTE/L) | Početno | Nakon 1 mjesec | Nakon 12 mjeseci | P | | |
|-------------------|-------------|-------------------|---------------------|-------------------|-----------------------|------------------|
| | | | | Učinak vremena | Učinak interakcije | Učinak dijete |
| MD (n = 40) | 2,38 ± 0,48 | 2,51 ± 0,47* | 2,47 ± 0,45* | <0,001 | 0,009 | 0,499 |
| SHD (n = 44) | 2,37 ± 0,49 | 2,48 ± 0,49* | 2,31 ± 0,51 | | | |

Rezultati izraženi kao srednja vrijednost ± SD

*Oznaka za značajnu promjenu u odnosu na početnu vrijednost, određeno parnim t-testom ($P < 0,05$)



Slika 12. Usporedba u inka MD i SHD na TAC tijekom dvanaestomjese ne intervencije (okomiti rasponi na grafovima predstavljaju 95%-tne intervale pouzdanosti oko prosje ne vrijednosti)

4.4.2 Učinak mediteranske dijete na oksidirani LDL

Do smanjenja koncentracije oxLDL-a nakon prvih mjesec dana došlo je ukupno u 53 (63,1%) bolesnika, od toga 28 (33,3%) bolesnika u MD i 25 (29,8%) u SHD skupini. Iako je došlo do smanjenja oxLDL-a u nešto više ispitanika na MD, razlika nije bila statisti ki zna ajna ($\chi^2 = 1,56$; $df = 1$; $P = 0,211$). Postotak smanjenja koncentracije oxLDL-a u odnosu na po etnu vrijednost bio je nešto ve i u ispitanika na MD ($-4,90 \pm 68,38\%$ u MD skupini vs $-1,46 \pm 46,16\%$ u SHD skupini), ali bez statisti ke zna ajnosti ($t = -0,273$; $df = 82$; $P = 0,785$).

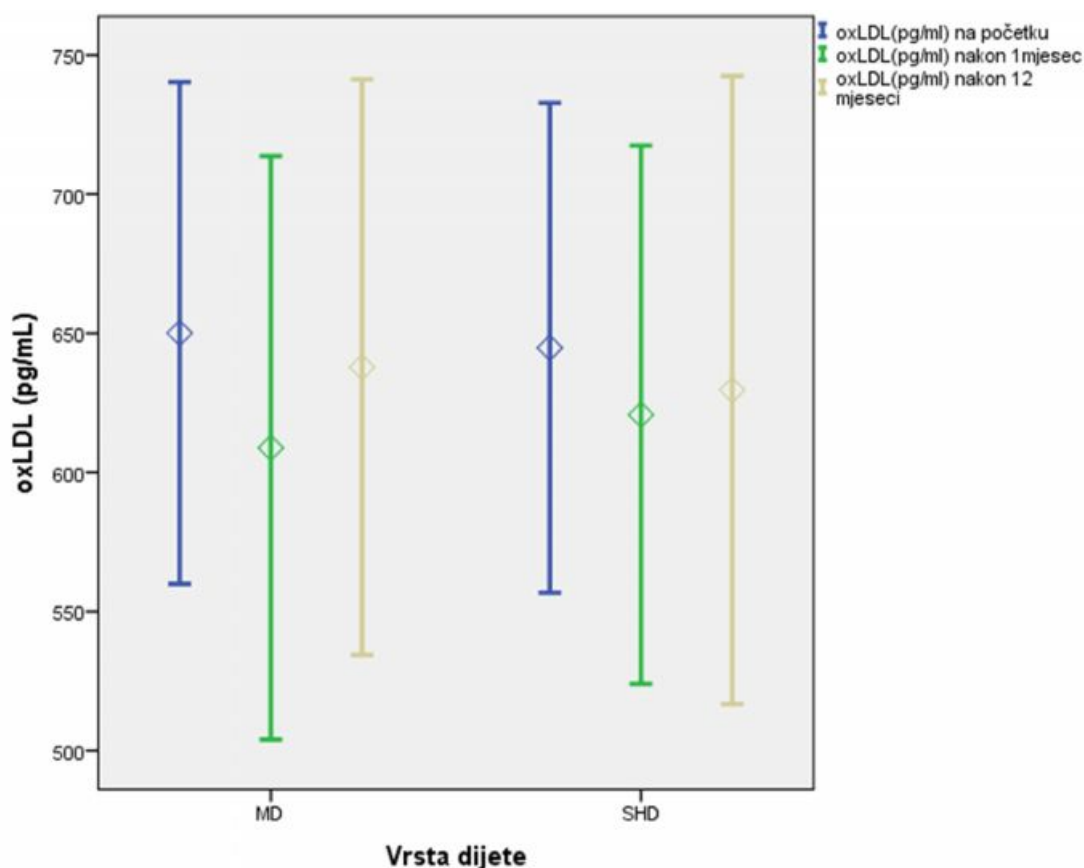
Nakon 12-mjese ne intervencije, smanjenje vrijednosti oxLDL-a zabilježeno je u 45 (53,6%) ispitanika, od ega je 22 (26,2%) ispitanika bilo na MD i 23 (27,4%) na SHD. Tako je došlo gotovo do izjedna avanja u broju ispitanika sa smanjenom koncentracijom oxLDL nakon 12 mjeseci, te ponovo nije bilo statisti ki zna ajne razlike me u skupinama ($\chi^2 = 0,063$; $df = 1$; P

= 0,802). Kao što je vidljivo na slici 13 i u tablici 17, prosje ne vrijednosti oxLDL-a su nakon pada tijekom prvih mjesec dana ponovno porasle u razdoblju izme u prvog i dvanaestog mjeseca, i to u obje prou avane skupine, ali u inak vremena, dijete ili njihove interakcije nisu bili statisti ki zna ajni.

Tablica 17. Koncentracije oxLDL-a u serumu u MD i SHD skupini na po etku, nakon 1 i 12 mjeseci

| oxLDL (pg/mL) | Početno | Nakon 1 mjesec | Nakon 12 mjeseci | P | | |
|---------------------|-----------------|-------------------|---------------------|-------------------|-----------------------|------------------|
| | | | | Učinak vremena | Učinak interakcije | Učinak dijete |
| MD (n = 40) | 650,09 ± 281,99 | 608,84 ± 327,86 | 637,83 ± 323,32 | 0,666 | 0,940 | 0,992 |
| SHD (n = 44) | 644,77 ± 289,54 | 620,72 ± 318,18 | 629,62 ± 371,26 | | | |

Rezultati izraženi kao srednja vrijednost ± SD



Slika 13. Usporedba u inaka MD i SHD na koncentraciju oxLDL-a u plazmi tijekom dvanaestomjese ne intervencije (okomiti rasponi na grafovima predstavljaju 95%-tne intervale pouzdanosti oko prosje ne vrijednosti)

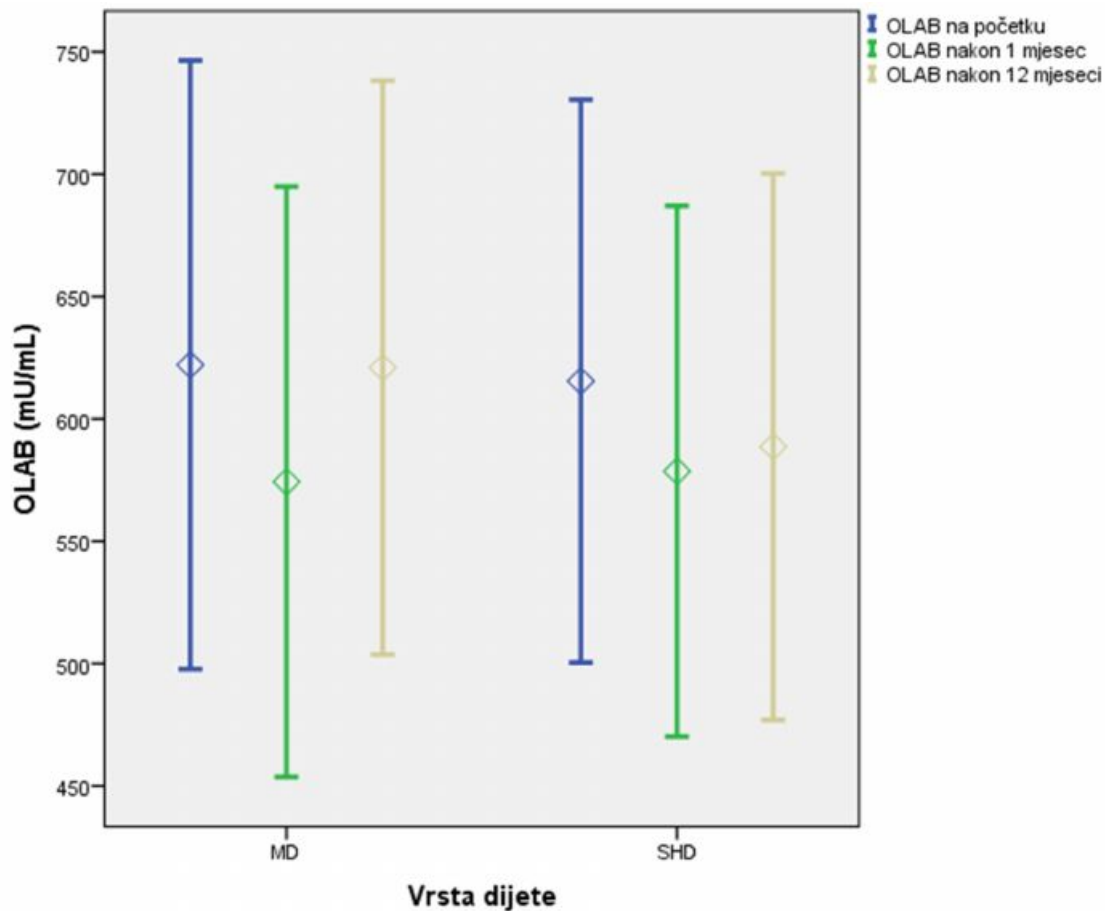
4.4.3 Učinak mediteranske dijeta na antitijela na oksidirani LDL

Smanjenje koncentracije OLAB-a tijekom prvog mjeseca intervencije pratilo je uo eno smanjenje oxLDL-a, a do njega je došlo u 53 (63,1%) bolesnika, od toga u 26 (31,0%) bolesnika na MD i 27 (32,1%) bolesnika na SHD, što nije inilo zna ajnu razliku izme u ispitivanih skupina ($\chi^2 = 0,119$; $df = 1$; $P = 0,730$). U razdoblju izme u prvog i dvanaestog mjeseca broj osoba s reduciranom vrijednosti OLAB-a smanjio se na 41 bolesnika (48,8%), od ega je njih 18 (21,4%) bilo na MD, a 23 (27,4%) na SHD, što opet nije inilo statisti ki zna ajnu razliku izme u MD i SHD skupine ($\chi^2 = 0,444$; $df = 1$; $P = 0,505$). Tablica 18 i slika 14 prikazuju kretanje prosje nih koncentracija OLAB-a tijekom studije za obje intervencijske skupine. Kao što je vidljivo, prosje ne vrijednosti OLAB-a su pale nakon prvog mjeseca u obje skupine. Tijekom sljede eg razdoblja, vrijednost OLAB-a u bolesnika na MD je porasla i vratila se na po etnu vrijednost, dok je u bolesnika na SHD primije en puno blaži porast. Niti jedan od prou avanih u inaka nije pokazao statisti ki zna ajnu razliku, kako izme u skupina tako niti tijekom razdoblja pra enja.

Tablica 18. Koncentracije OLAB-a u serumu u MD i SHD skupini na po etku, nakon 1 i 12 mjeseci

| OLAB (mU/mL) | Početno | Nakon 1 mjesec | Nakon 12 mjeseci | P | | |
|-----------------|-----------------|-------------------|---------------------|-------------------|-----------------------|------------------|
| | | | | Učinak vremena | Učinak interakcije | Učinak dijete |
| MD (n = 40) | 622,05 ± 388,88 | 574,27 ± 377,25 | 620,92 ± 366,73 | 0,145 | 0,690 | 0,882 |
| SHD (n = 44) | 615,43 ± 378,31 | 578,60 ± 356,71 | 588,61 ± 367,35 | | | |

Rezultati izraženi kao srednja vrijednost ± SD



Slika 14. Usporedba u inaka MD i SHD na koncentraciju OLAB-a u plazmi tijekom dvanaestomjese ne intervencije (okomiti rasponi na grafovima predstavljaju 95%-tne intervale pouzdanosti oko prosje ne vrijednosti)

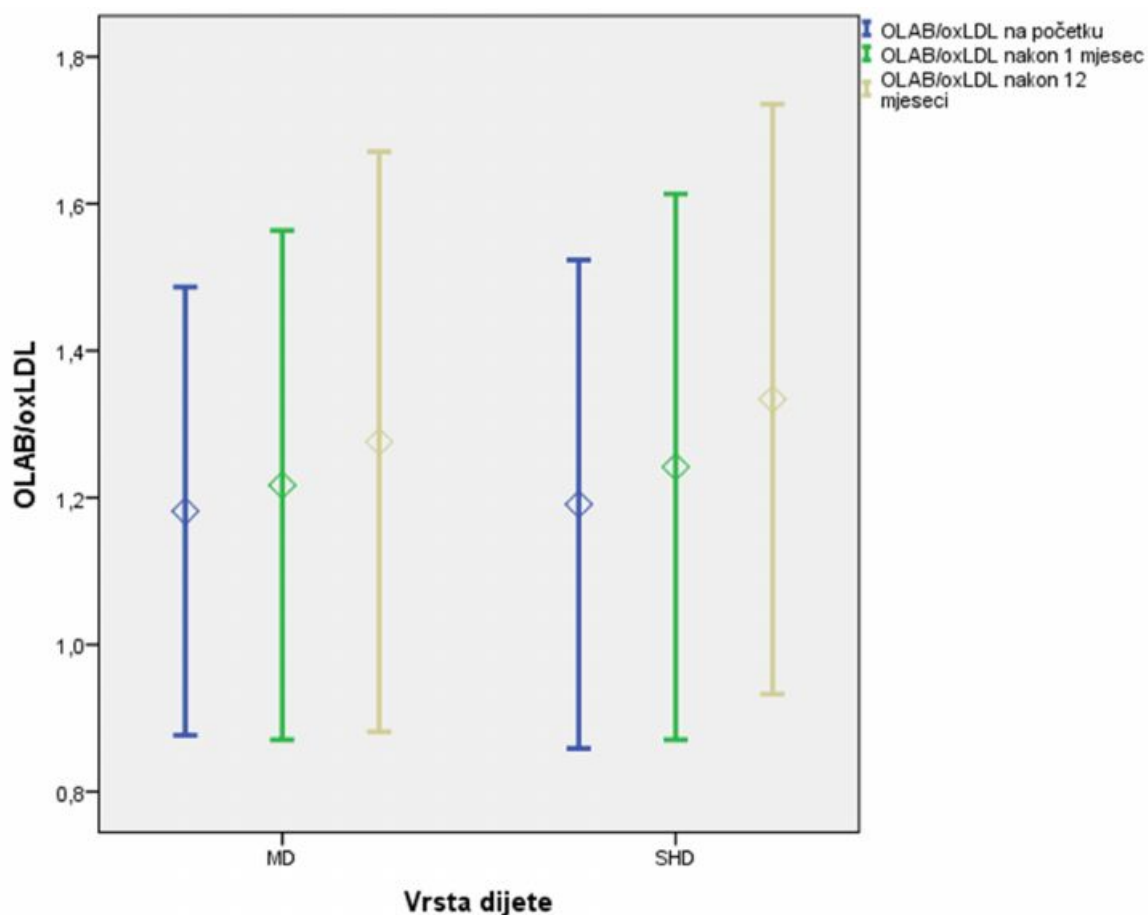
4.4.4 Učinak mediteranske dijete na omjer OLAB-a i oxLDL-a

U svrhu boljeg razumijevanja vrijednosti oxLDL-a i OLAB-a analiziran je i njihov omjer. Dobiveni rezultati su pokazali da taj omjer raste u obje skupine ispitanika tijekom itavog razdoblja pra enja (slika 15 i tablica 19). Porast je bio nešto ve i u bolesnika na SHD, iako promjena nije bila statisti ki zna ajna me u skupinama MD i SHD.

Tablica 19. Koncentracije OLAB-a u serumu u MD i SHD skupini na početku, nakon 1 i 12 mjeseci

| OLAB/oxLDL | Početno | Nakon 1 mjesec | Nakon 12 mjeseci | P | | |
|--------------|-------------|----------------|------------------|----------------|--------------------|---------------|
| | | | | Učinak vremena | Učinak interakcije | Učinak dijete |
| MD (n = 40) | 1,18 ± 0,95 | 1,22 ± 1,08 | 1,28 ± 1,23 | 0,569 | 0,976 | 0,888 |
| SHD (n = 44) | 1,19 ± 1,09 | 1,24 ± 1,22 | 1,33 ± 1,32 | | | |

Rezultati izraženi kao srednja vrijednost ± SD



Slika 15. Usporedba u inaka MD i SHD na omjer OLAB-a i oxLDL-a tijekom dvanaestomjese ne intervencije (okomiti rasponi na grafovima predstavljaju 95%-tne intervale pouzdanosti oko prosje ne vrijednosti)

4.5 UČINAK MEDITERANSKE DIJETE NA OSTALE PARAMETRE – SEKUNDARNI CILJEVI ISTRAŽIVANJA

4.5.1 Učinak mediteranske dijetete na antropometrijske pokazatelje

Uspješnost ispitivanih pretilih bolesnika u mršavljenju pronačena je mjerenjem antropometrijskih pokazatelja; tjelesne mase i opsega struka te izražavanjem indeksa tjelesne mase. Kao što je vidljivo na prikazanim grafovima (slike 16-18), bolesnici iz obje skupine uspješno su smršavili tijekom prvih tri mjeseca, da bi nakon toga ušli u razdoblje stagnacije koje je trajalo do šestog mjeseca intervencije. Nažalost, u drugoj polovici godine, odnosno na kraju promatranog razdoblja, primijećen je umjereni porast tjelesne mase u obje skupine bolesnika. Uspješnost dijetete definirana je smanjenjem 5% početne tjelesne mase. U skupini na MD bilo je 22 ispitanika (17,7%) koji su u razdoblju od dvanaest mjeseci reducirali tjelesnu masu za više od 5%, dok ih je u skupini na SHD bilo 19 (15,3%), što nije bilo statistički značajnu razliku između ispitivanih skupina ($\chi^2 = 0,199$; $df = 1$; $P = 0,655$). Također je uočeno da su se sva tri antropometrijska pokazatelja značajno promijenila tijekom 12 mjeseci ($P < 0,005$) (tablica 20); u istak vremena je bio velik (za tjelesnu masu $\chi^2 = 0,413$; za ITM $\chi^2 = 0,426$; za opseg struka $\chi^2 = 0,440$) uz snagu testa $> 0,8$. Nasuprot tome, u istak dijetete nije bilo statistički značajno, a u istak interakcije između vremena i dijetete je bio na granici statističke značajnosti za tjelesnu masu ($P = 0,051$), a statistički značajno za opseg struka ($P = 0,045$). Snaga tih statističkih testova kretala se između 0,51-0,61, što ukazuje na nedostatan velik uzorak u svrhu dokazivanja u istak interakcije dijetete i vremena. Navedeni rezultati prikazani su grafički na slikama 16-18.

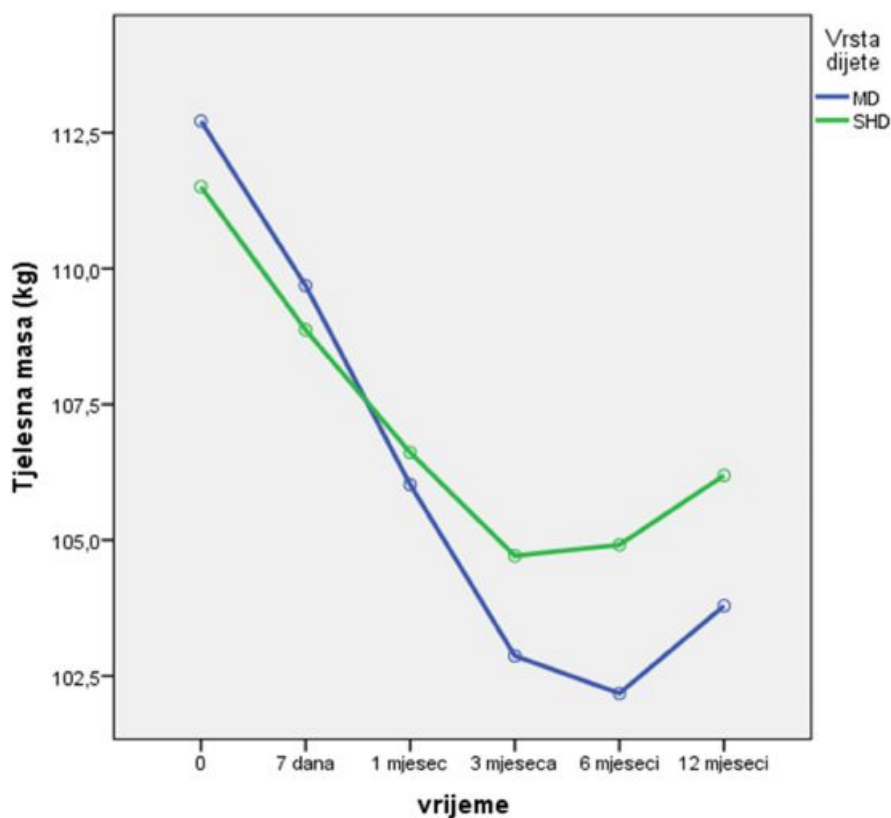
Tablica 20. Vrijednosti antropometrijskih pokazatelja u MD i SHD skupini, na početku, nakon 1 i 12 mjeseci

| Pokazatelj | | Početno | Nakon 1 mjesec | Nakon 12 mjeseci | P | | |
|--------------------------|-----|----------------|-----------------|------------------|----------------|--------------------|---------------|
| | | | | | Učinak vremena | Učinak interakcije | Učinak dijete |
| TM (kg) | MD | 112,72 ± 19,47 | 106,02 ± 17,96* | 103,79 ± 17,81* | < 0,001 | 0,051 | 0,829 |
| | SHD | 111,51 ± 21,30 | 106,61 ± 20,11* | 106,19 ± 21,93* | | | |
| ITM (kg/m ²) | MD | 40,61 ± 6,74 | 38,25 ± 6,54* | 37,51 ± 6,74* | < 0,001 | 0,067 | 0,713 |
| | SHD | 40,41 ± 6,41 | 38,66 ± 6,16* | 38,45 ± 6,18* | | | |
| OS (cm) | MD | 121,04 ± 12,63 | 114,63 ± 12,43* | 113,15 ± 13,27* | < 0,001 | 0,045 | 0,962 |
| | SHD | 118,95 ± 15,90 | 115,00 ± 14,63* | 113,36 ± 15,58* | | | |

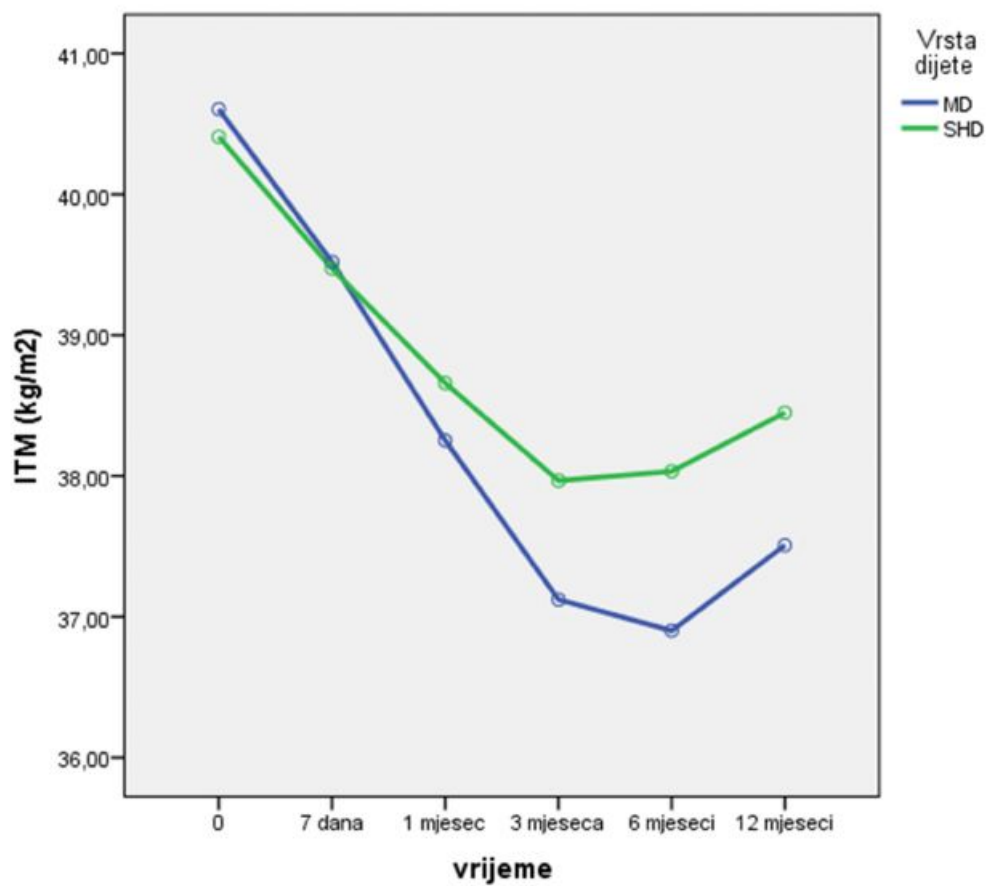
TM - tjelesna masa; ITM- indeks tjelesne mase; OS- opseg struka

Rezultati izraženi kao srednja vrijednost ± SD

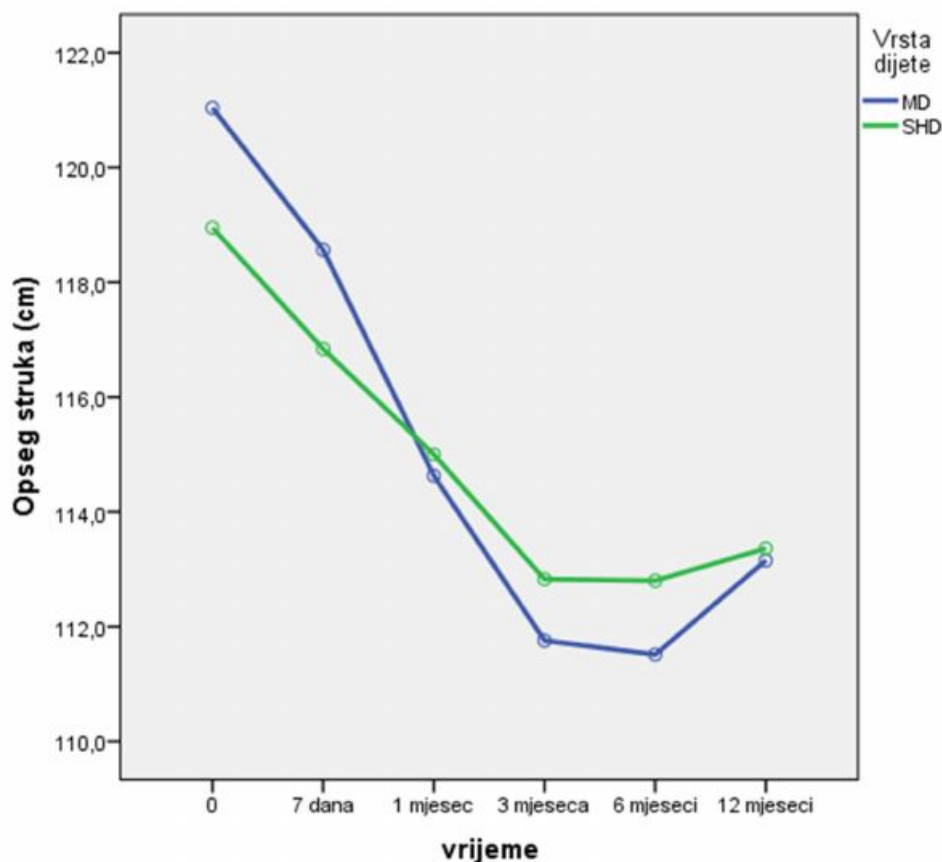
*Označava značajnu promjenu u odnosu na početnu vrijednost, određeno parnim t-testom (P < 0,05)



Slika 16. Usporedba u inaka MD i SHD na tjelesnu masu tijekom dvanaestomjese ne intervencije



Slika 17. Usporedba u inaka MD i SHD na ITM tijekom dvanaestomjese ne intervencije



Slika 18. Usporedba u inaka MD i SHD na opseg struka tijekom dvanaestomjese ne intervencije

Modelom multiple regresije pokušalo se pomo u prikupljenih sociodemografskih i kliničkih imbenika te dodijeljene dijete predvidjeti uspješnost bolesnika u mršavljenju. Uspješnost je bila definirana kao postotak smanjenja tjelesne mase nakon dvanaestomjese nog trajanja intervencije i inila je zavisnu varijablu pri izradi modela. S obzirom na broj opažanja (mjerenja) koji je nakon dvanaestomjese nog pra enja iznosio 84, bilo je mogu e razmatrati modele s najviše 6 prediktorskih varijabli [167; 168]. Kao kriterij za odabir prediktorskih varijabli uzeta je statistički zna ajna korelacija između odre ivanih varijabli i postotka smanjenja tjelesne mase. Kao što je vidljivo iz tablice 21, statistički zna ajna korelacija na ena je s vrstom dijete, bra nim stanjem i po etnim smanjenjem tjelesne mase (postotkom smanjenja nakon prvog mjeseca). Model multiple regresije pokazao se statistički zna ajnim ($F = 20,139$; $df = 3$; $P < 0,001$; $R = 0,663$; $R^2 = 0,440$). Po etna tjelesna masa je bila najbolji prediktor uspješnosti u mršavljenju ($P < 0,001$), dok je bra no stanje bilo negativan prediktor ($P = 0,003$). Vrsta dijete

nije bila statistički značajna varijabla u prikazanom modelu ($P = 0,234$) (tablica 22). Ovim modelom objašnjeno je 44% varijance.

Tablica 21. Povezanost uspješnosti u mršavljenju s vrstom djeteta, sociodemografskim i kliničkim imbenicima

| Varijabla | Uspješnost u mršavljenju r |
|--|-------------------------------|
| Spol (ženski) | 0.086 |
| Dob (godine) | -0.151 |
| Prisutnost metaboličkog sindroma | -0.020 |
| Bolesti štitnjače | -0.081 |
| Depresija | -0.171 |
| Broj propisanih lijekova | -0.110 |
| Vrsta dodijeljene djeteta (MD) | 0.225* |
| Početna tjelesna masa | 0.197 |
| ITM | 0.125 |
| Opseg struka | 0.063 |
| Pretilost u roditelja | -0.142 |
| Pušenje | 0.077 |
| Bračni status (u braku) | -0.317** |
| Radni odnos | 0.115 |
| Godine kada je započela pretilost (stariji od 20 godina) | -0.168 |
| Intenzitet tjelesne aktivnosti (MET-min/tjedan) | 0,124 |
| % smanjena tjelesne mase nakon mjesec dana | 0.603** |
| Stupanj obrazovanja (viši stupanj) | 0.114 |

Postotak smanjenja tjelesne mase određen je oduzimanjem tjelesne mase nakon 12 mjeseci od početne tjelesne mase. Stoga pozitivna vrijednost postotka tjelesne mase označava smanjenje tjelesne mase, dok negativna vrijednost označava povećanje tjelesne mase, a pozitivan koeficijent korelacije (r) znači pozitivnu korelaciju s postotkom gubitka tjelesne mase dok negativan koeficijent korelacije znači pozitivnu korelaciju s postotkom dobivenih kilograma.

* $P < 0.05$

** $P < 0.001$

Tablica 22. Model multiple regresije za zavisnu varijablu uspješnost u mršavljenju

| Prediktivne varijable | B | SE(B) | β | P |
|---|--------|-------|---------|---------|
| Dijeta (MD) | 1,506 | 1,255 | -0,105 | 0,234 |
| Postotak smanjena tjelesne mase nakon mjesec dana | 1,700 | 0,270 | 0,554 | < 0,001 |
| Bračni status | -3,984 | 1,313 | 0,260 | 0,003 |

B - regresijski koeficijent; SE(B) - standardna pogreška za konstantu B; β - standardizirani regresijski koeficijent

4.5.2 Učinak mediteranske dijete na biokemijske pokazatelje (lipide, GUP, HbA1C, CRP, urate)

Što se tiče biokemijskih pokazatelja, značajnije promjene tijekom dvanaestomjese ne intervencije primijene su u lipidnom profilu i koncentraciji glukoze u plazmi. Koncentracije lipida u krvi su se sve redom smanjivale tijekom prvog mjeseca u obje skupine bolesnika, da bi do kraja intervencije ponovno narasle blizu ili iznad početne vrijednosti. U ista vremena za sve primjene pokazatelje lipidnog profila (ukupni kolesterol, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol i trigliceride) bio je statistički značajan (tablica 23). U ista dijeta ili interakcije vremena i dijeta nije me utim pokazao statističku značajnost, osim u slučaju HDL-kolesterola. Kod koncentracije HDL-kolesterola primijena je granična statistička značajnost za ista interakcije, i statistički značajna razlika između ispitivanih skupina u promjeni koncentracije između početnog i završnog mjerenja; u MD skupini je koncentracija HDL-kolesterola u tom razdoblju narasla za $0,11 \pm 0,24$ mmol/L, dok se u SHD skupini smanjila za neznatnih $0,003 \pm 0,19$ mmol/L ($t = -2,310$; $df = 80$; $P = 0,023$). Slike 19-22 prikazuju vrijednosti prosječnih koncentracija lipidnih pokazatelja tijekom istavog razdoblja primjena.

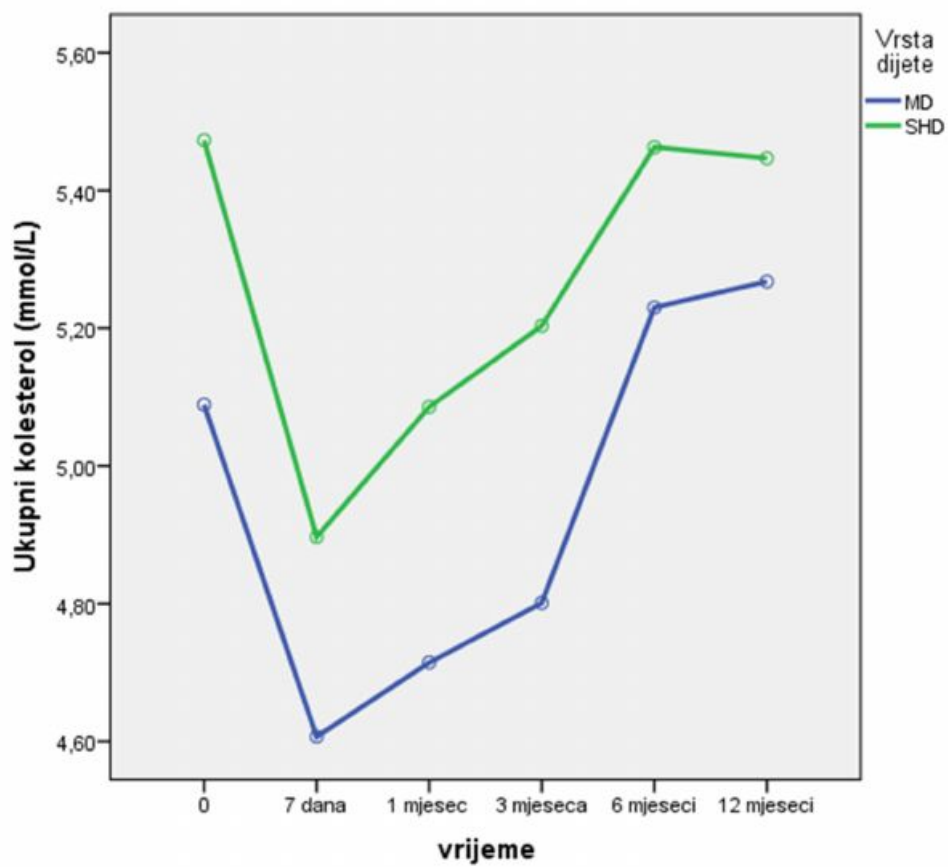
Tablica 23. Vrijednosti biokemijskih pokazatelja u MD i SHD skupini, na početku, nakon 1 i 12 mjeseci

| Pokazatelj | | Početno | Nakon 1 mjesec | Nakon 12 mjeseci | P | | |
|-----------------|-----|----------------|----------------|------------------|----------------|--------------------|---------------|
| | | | | | Učinak vremena | Učinak interakcije | Učinak dijete |
| UK (mmol/L) | MD | 5,09 ± 0,99 | 4,71 ± 0,97* | 5,27 ± 1,29 | < 0,005 | 0,771 | 0,168 |
| | SHD | 5,47 ± 1,18 | 5,09 ± 1,01* | 5,45 ± 0,89 | | | |
| HDL (mmol/L) | MD | 1,24 ± 0,23 | 1,17 ± 0,23* | 1,37 ± 0,34* | < 0,005 | 0,058 | 0,100 |
| | SHD | 1,38 ± 0,33 | 1,29 ± 0,23* | 1,39 ± 0,29 | | | |
| LDL (mmol/L) | MD | 3,17 ± 0,91 | 2,94 ± 0,84* | 3,20 ± 0,99 | < 0,005 | 0,653 | 0,529 |
| | SHD | 3,20 ± 0,82 | 3,03 ± 0,86 | 3,30 ± 0,99 | | | |
| TG (mmol/L) | MD | 1,64 ± 0,76 | 1,37 ± 0,61* | 1,63 ± 1,34 | 0,032 | 0,858 | 0,519 |
| | SHD | 1,91 ± 2,37 | 1,54 ± 0,84 | 1,82 ± 1,89 | | | |
| GUP-NT (mmol/L) | MD | 5,97 ± 1,22 | 5,25 ± 0,96* | 5,18 ± 0,87* | < 0,005 | 0,313 | 0,008 |
| | SHD | 6,15 ± 1,82 | 5,29 ± 1,07* | 5,63 ± 1,97* | | | |
| HbA1c (%) | MD | 5,58 ± 0,58 | 5,44 ± 0,43 | 5,51 ± 0,48 | 0,113 | 0,566 | 0,228 |
| | SHD | 5,80 ± 1,04 | 5,69 ± 0,84 | 5,62 ± 0,88 | | | |
| CRP (mg/L) | MD | 5,82 ± 5,64 | 5,61 ± 6,25 | 4,87 ± 5,52 | 0,136 | 0,454 | 0,786 |
| | SHD | 6,37 ± 4,37 | 5,25 ± 3,45 | 5,56 ± 4,15 | | | |
| Urati (μmol/L) | MD | 347,89 ± 79,80 | 352,36 ± 90,30 | 334,78 ± 84,91 | 0,113 | 0,781 | 0,281 |
| | SHD | 329,32 ± 80,35 | 330,37 ± 73,68 | 321,88 ± 65,38 | | | |

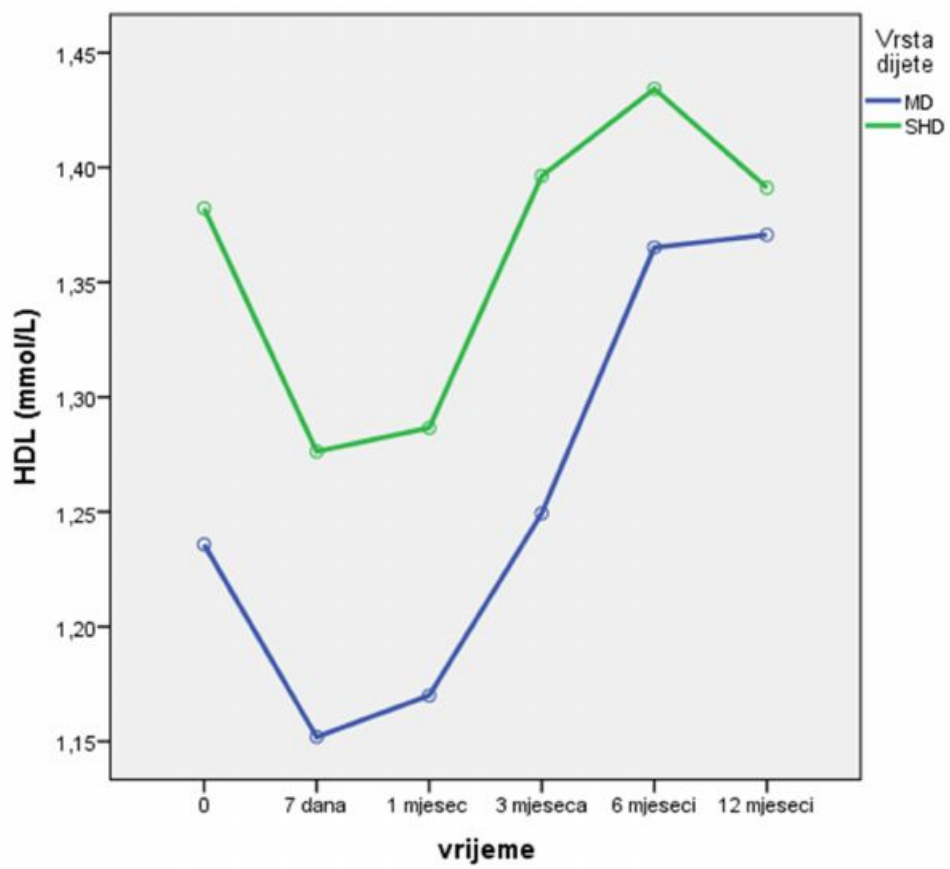
UK- ukupni kolesterol; HDL- lipoproteini velike gustoće; LDL- lipoproteini male gustoće; TG- trigliceridi; GUP-NT- glukoza u plazmi na tašte; HbA1c- hemoglobin A1c; CRP- C-reaktivni protein

Rezultati izraženi kao srednja vrijednost ± SD

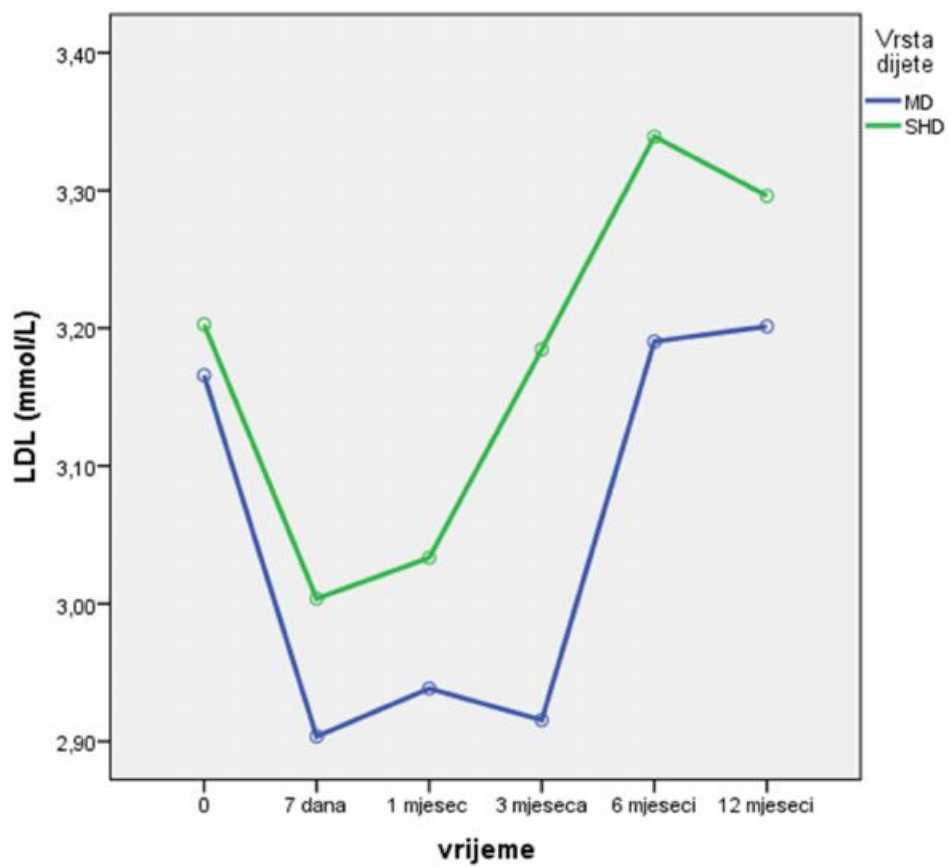
*Oznaka značajnu promjenu u odnosu na početnu vrijednost, određeno parnim t-testom (P < 0,05)



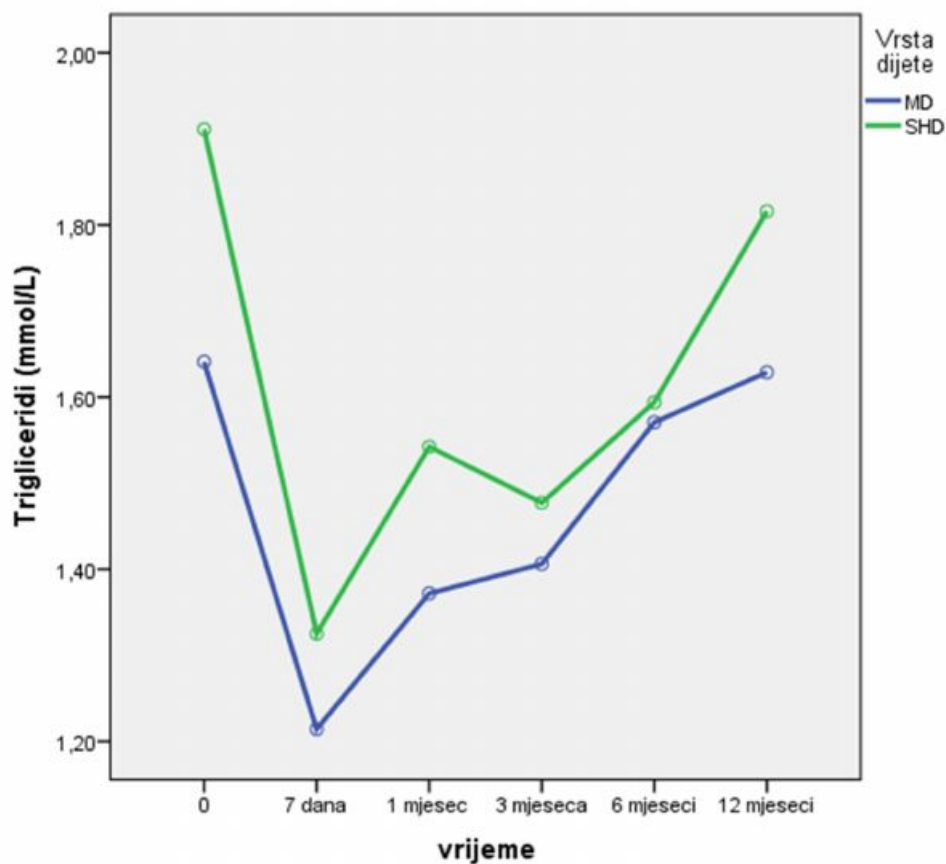
Slika 19. Usporedba u inaka MD i SHD na koncentraciju ukupnog kolesterola tijekom dvanaestomjese ne intervencije



Slika 20. Usporedba u inaka MD i SHD na koncentraciju HDL-kolesterola tijekom dvanaestomjese ne intervencije



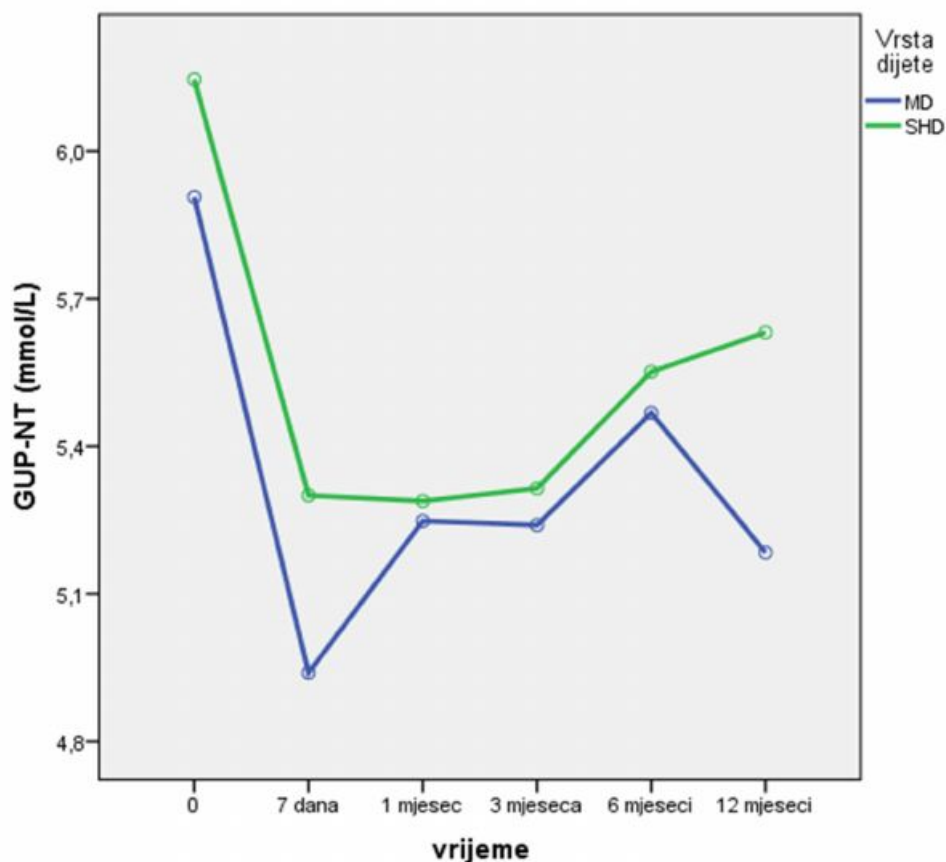
Slika 21. Usporedba u inaka MD i SHD na koncentraciju LDL-kolesterola tijekom dvanaestomjese ne intervencije



Slika 22. Usporedba u inaka MD i SHD na koncentraciju triglicerida tijekom dvanaestomjese ne intervencije

U inak vremena na promjene koncentracije glukoze u plazmi tijekom dvanaest mjeseci tako er je bio statisti ki zna ajan (tablica 23). Osim toga, statisti ki zna ajan u inak na promjenu koncentracija glukoze u plazmi imala je i vrsta dijete. Slika 23 potvr uje upravo to da je razli ito djelovanje dviju dijeta vidljivo u razdoblju izme u šestog i dvanaestog mjeseca, kada se koncentracija glukoze u plazmi naglo smanjila u skupini MD, a blago porasla u skupini SHD.

No, statisti ki zna ajne promjene u koncentraciji HbA1C nisu primije ene, kao ni promjene u koncentraciji CRP-a i urata (tablica 23).

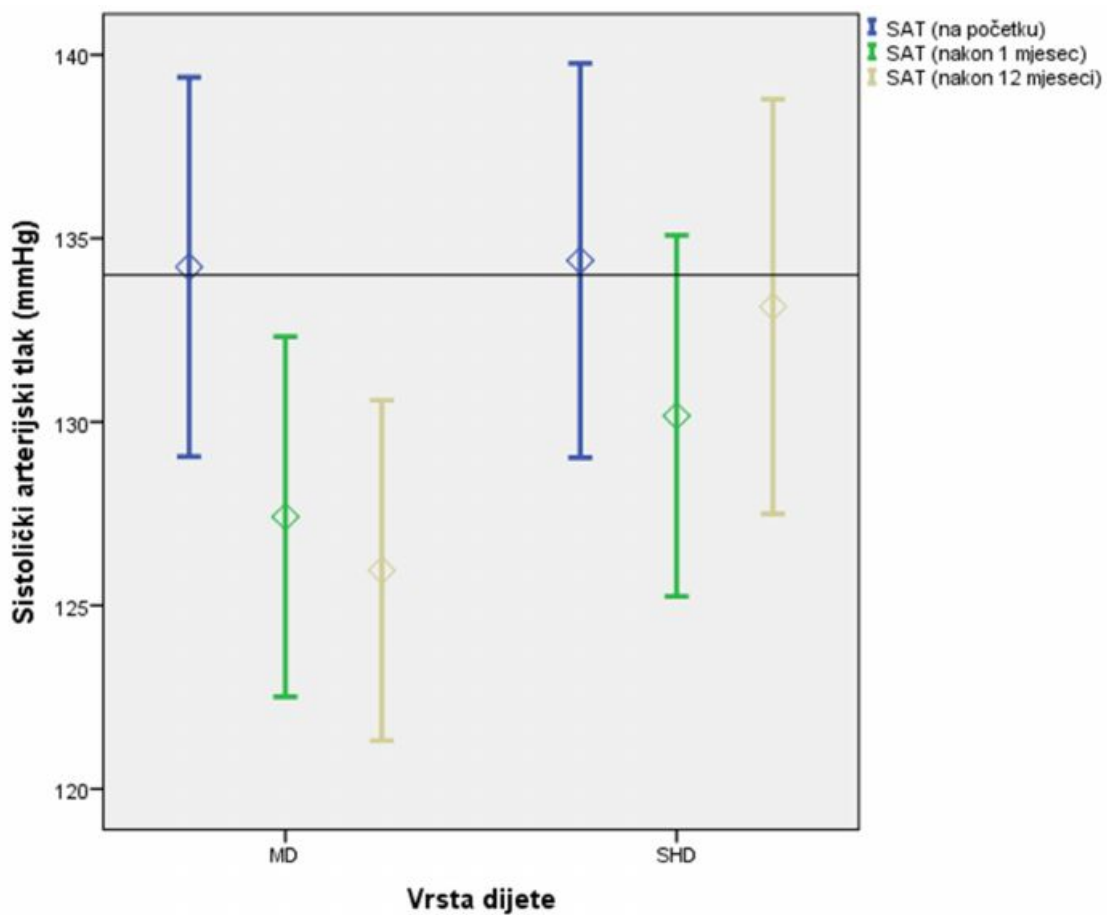


Slika 23. Usporedba u inaka MD i SHD na koncentraciju glukoze u plazmi tijekom dvanaestomjese ne intervencije

4.5.3 Učinak mediteranske dijete na arterijski tlak

Sistoli ki arterijski tlak se ve u prvih mjesec dana smanjo u obje skupine. Smanjenje u skupini na MD iznosilo je $5,82 \pm 14,66$ mmHg, a u SHD $3,13 \pm 16,93$ mmHg. U sljede em se razdoblju sistoli ki arterijski tlak u MD skupini i dalje smanjivao te je sveukupni pad na kraju intervencije iznosio $8,27 \pm 18,32$ mmHg, dok je u SHD skupini po eo rasti i pritom se približio po etnoj vrijednosti (ukupni pad iznosio je $1,25 \pm 18,34$ mmHg). Kako bi se uzeo u obzir u inak vremena te me udjelovanja vremena i intervencije, bila je provedena ANOVA s ponovljenim mjerenjima. Analiza je pokazala da nije bilo statisti ki zna ajne razlike u u inku dijete ili me udjelovanja dijete i vremena, ali je prona ena statisti ki zna ajna razlika u izmjerenom sistoli kom arterijskom tlaku tijekom vremena (tablica 23). Sistoli ki arterijski tlak je statisti ki

zna ajno pao u MD skupini nakon mjesec dana ($t = 3,073$, $df = 59$, $P = 0,003$) i nakon 12 mjeseci ($t = 2,889$, $df = 40$, $P = 0,006$), dok promjena u SHD skupini nije bila statisti ki zna ajna niti nakon prvog mjeseca ($t = 1,433$, $df = 59$, $P = 0,029$) niti nakon 12 mjeseci ($t = 0,449$, $df = 42$, $P = 0,656$).



Slika 24. Usporedba u inaka MD i SHD na sistoli ki arterijski tlak tijekom dvanaestomjese ne intervencije (okomiti rasponi na grafovima predstavljaju 95%-tne intervale pouzdanosti oko prosje ne vrijednosti)

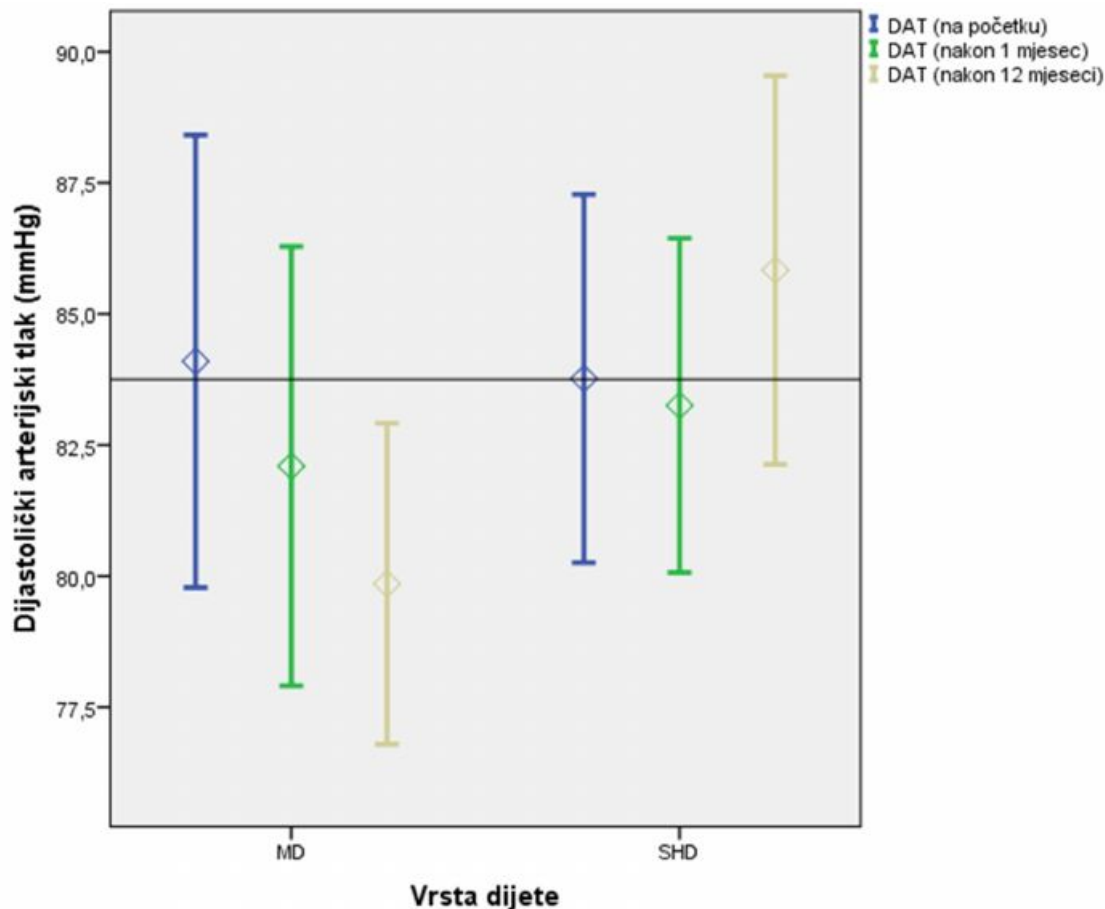
Tablica 24. Vrijednosti arterijskog tlaka u MD i SHD skupini, na početku, nakon 1 i 12 mjeseci

| Pokazatelj | | Početno | Nakon 1 mjesec | Nakon 12 mjeseci | P | | |
|------------|-----|----------------|-----------------|------------------|----------------|--------------------|---------------|
| | | | | | Učinak vremena | Učinak interakcije | Učinak dijete |
| SAT (mmHg) | MD | 134,22 ± 16,37 | 127,41 ± 15,55* | 125,95 ± 14,69* | 0,005 | 0,143 | 0,256 |
| | SHD | 134,40 ± 17,45 | 130,16 ± 15,98 | 133,14 ± 18,35 | | | |
| DAT (mmHg) | MD | 84,10 ± 13,67 | 82,10 ± 13,27 | 79,85 ± 9,70 | 0,580 | 0,052 | 0,277 |
| | SHD | 83,77 ± 11,41 | 83,26 ± 10,36 | 85,84 ± 12,05 | | | |

Rezultati izraženi kao srednja vrijednost ± SD

*Označava značajnu promjenu u odnosu na početnu vrijednost, određeno parnim t-testom ($P < 0,05$)

Dijastolički arterijski tlak pokazao je slab trend; na početku je primijećen blagi pad od $1,81 \pm 12,54$ mmHg u MD skupini i $0,08 \pm 8,05$ mmHg u SHD skupini, bez statistički značajne razlike između skupinama ($t = 0,900$; $df = 120$; $P = 0,370$), da bi nakon toga dijastolički arterijski tlak u MD skupini i dalje padao te dostigao pad od $4,24 \pm 14,03$ mmHg, a u SHD skupini narastao za $2,07 \pm 12,05$ mmHg iznad početne vrijednosti, što je dalo statistički značajnu razliku između grupa ($t = 2,079$; $df = 82$; $P = 0,041$). Promjena dijastoličkog arterijskog tlaka bila je manje utim premala da bi rezultirala statistički značajnim u inkom u ANOVI s ponovljenim mjerenjem (tablica 24). Grafički prikaz promjene sistoličkog i dijastoličkog arterijskog tlaka je dan na slikama 24 i 25.



Slika 25. Usporedba u inaka MD i SHD na dijastoli ki arterijski tlak tijekom dvanaestomjese ne intervencije (okomiti rasponi na grafovima predstavljaju 95%-tne intervale pouzdanosti oko prosje ne vrijednosti)

4.5.4 Učinak mediteranske dijete na metabolički sindrom

Zbog zna ajne zastupljenosti metaboli kog sindroma me u pretilim bolesnicima, u okviru ovog rada istražen je utjecaj dijete na metaboli ki sindrom. Na po etku studije metaboli ki sindrom bio je prisutan u 84 od 124 ispitanika (67,7%), a na kraju u 46 od 84 ispitanika (54,8%). Za sve ispitanike, prosje an broj prisutnih imbenika koji odre uju metaboli ki sindrom na po etku studije iznosio je $2,97 \pm 1,06$, a na kraju $2,62 \pm 0,99$, što je inilo statisti ki zna ajnu razliku izme u dva mjerenja ($t = 3,190$; $df = 78$; $P = 0,002$).

Prosje an broj prisutnih imbenika metaboli kog sindroma izra unat je i zasebno za svaku skupinu. Na po eku je iznosio $3,03 \pm 1,09$ u skupini MD i $2,93 \pm 1,05$ u skupini SHD, dok je na kraju intervencije bio $2,51 \pm 1,01$ u MD skupini i $2,71 \pm 0,97$ SHD skupini. Statisti ki

značajna razlika između u dva mjerenja ustanovljena je u skupini MD ($t = 3,466$; $df = 36$; $P = 0,001$), ali ne i u SHD skupini ($t = 1,325$; $df = 41$; $P = 0,139$).

4.6 PROCJENA RAZINE TJELESNE AKTIVNOSTI I NJEZIN UTJECAJ NA OKSIDATIVNI STRES

Kao značajan imbenik u liječenju pretilosti, tjelesna aktivnost bila je dio intervencije u obje randomizirane skupine. Stoga je bilo bitno pratiti promjenu njezina intenziteta tijekom vremena, kao i eventualnu razliku u razini tjelesne aktivnosti među ispitanicima na MD ili SHD. Iz tablice 25 vidljivo je da se intenzitet tjelesne aktivnosti u prvih mjesec dana povećao ($t = -2,976$; $df = 95$; $P = 0,004$), da bi se potom smanjio. Stoga, povećanje razine tjelesne aktivnosti na kraju intervencije u usporedbi s početnom tjelesnom aktivnošću više nije bilo statistički značajno ($t = -1,157$; $df = 78$; $P = 0,251$). Što se tiče vremena provedenog u sjedećim aktivnostima, ono je imalo obrnut trend; najprije se značajno smanjilo ($t = 2,640$; $df = 91$; $P = 0,010$), a potom se vratilo na početno stanje. Kada je razina tjelesne aktivnosti uspoređivana među skupinama ispitanika na različitoj dijeti, primijećeno je da je ona u MD skupini bila nešto viša na početku i na kraju intervencije nego u SHD skupini, ali bez statističke značajnosti (tablica 26).

Tablica 25. Razina tjelesne aktivnosti i vrijeme provedeno sjedeći tijekom trajanja intervencije

| Pokazatelj | N | Srednja vrijednost ± SD |
|--|-----|-------------------------|
| Tjelesna aktivnost (MET-min/tjedan) | | |
| Početno | 120 | 1659,47 ± 1878,39 |
| Nakon 1 mjesec | 100 | 2899,83 ± 4140,99 |
| Nakon 12 mjeseci | 83 | 2217,08 ± 3120,44 |
| Vrijeme provedeno sjedeći (min/dan) | | |
| Početno | 118 | 498,05 ± 232,52 |
| Nakon 1 mjesec | 97 | 476,75 ± 233,39 |
| Nakon 12 mjeseci | 83 | 500,36 ± 250,46 |

MET- metabolički ekvivalent

Rezultati izraženi kao srednja vrijednost ± SD

Tablica 26. Razina tjelesne aktivnosti u tri vremenske točke tijekom 12-mjesečne intervencije u ispitanika na MD ili SHD

| Dodijeljena dijeta | Početna razina tjelesne aktivnosti* | P** | Razina tjelesne aktivnosti nakon 1 mjesec* | P** | Razina tjelesne aktivnosti nakon 12 mjeseci* | P** |
|--------------------|-------------------------------------|--------------|--|--------------|--|--------------|
| MD | 1782,39 ± 2201,04 | 0.461 | 2780,15 ± 3984,47 | 0.765 | 2356,88 ± 3518,54 | 0.703 |
| SHD | 1528,08 ± 1465,48 | | 3029,48 ± 4342,77 | | 2093,17 ± 2755,80 | |

Rezultati izraženi kao srednja vrijednost ± SD

* Razina tjelesne aktivnosti izražena u MET-min/tjedan

** Razlike između u dviju skupina određene Studentovim-t testom za neovisne uzorke

Kako je poznato da tjelesna aktivnost utječe na razinu oksidativnog stresa, istražena je povezanost između razine tjelesne aktivnosti ispitanika i varijabli koje su mjerile oksidativni stres ili antioksidativni potencijal seruma. Nije ustanovljena statistički značajna korelacija za tjelesnu aktivnost ili vrijeme provedeno sjedeći s niti jednom varijablom oksidativnog stresa tijekom čitavog razdoblja praćenja (tablica 27).

Tablica 27. Povezanost tjelesne aktivnosti i oksidativnog stresa

| Pokazatelj oksidativnog stresa | Promjena razine tjelesne aktivnosti nakon 12 mjeseci r | Promjena vremena provedenog sjedeći nakon 12 mjeseci r |
|-------------------------------------|---|---|
| Postotak promjene TAC-a | 0,034 | -0,210 |
| Postotak promjene oxLDL-a | -0,074 | -0,200 |
| Postotak promjene OLAB-a | 0,156 | 0,085 |
| Postotak promjene omjera OLAB/oxLDL | -0,061 | 0,193 |

TAC- ukupni antioksidativni potencijal; oxLDL- oksidirani LDL; OLAB- antitijela na oksidirani LDL; r- koeficijent korelacije

4.7 ODREĐIVANJE PREDIKTIVNIH VARIJABLI ZA OKSIDATIVNI STRES U PRETILIH BOLESNIKA

4.7.1 Multivarijatan utjecaj na antioksidativni potencijal

Model multiple regresije korišten je kako bi se odredilo koliko pojedina nezavisna varijabla doprinosi promjeni antioksidativnog potencijala. Kao nezavisne varijable odabrane su prvenstveno intervencije ovog ispitivanja (vrsta dijete i razina tjelesne aktivnosti) te dodatno

varijable za koje je u prethodnim istraživanjima ustanovljeno da utječu na parametre oksidativnog stresa; promjena tjelesne mase [158] i spol [169; 170]. Tako je model multiple regresije uključio pet nezavisnih varijabli i pokazao se statistički značajnim ($F = 2,774$; $df = 5$; $P = 0,024$; $R = 0,404$; $R^2 = 0,163$). Od ispitivanih varijabli, vrsta djeteta bila je jedini čimbenik koji je statistički značajno doprinio promjeni TAC-a tijekom dvanaest mjeseci ($P = 0,013$) (tablica 28).

S obzirom na spoznaju da urati značajno doprinose razini TAC-a, istražena je povezanost između promjene urata i promjene razine TAC-a. Niti nakon mjesec dana ($P = 0,733$) niti nakon 12 mjeseci ($P = 0,844$) nije pronađena značajna korelacija intervencije. Naprotiv, koncentracija urata imala je suprotan trend od razine TAC-a; urati su se smanjivali tijekom istavog razdoblja praćenja u obje skupine ispitanika (tablica 23).

Tablica 28. Model multiple regresije za postotak promjene TAC-a**

| Prediktivne varijable | B | SE(B) | β | P |
|--------------------------------------|------------------------|-------|---------|-------|
| Vrsta djeteta (MD) | 6,216 | 2,425 | 0,293 | 0,013 |
| Promjena razine tjelesne aktivnosti* | $3,708 \times 10^{-5}$ | 0,001 | 0,008 | 0,947 |
| Promjena trajanja vremena sjedenja* | -0,008 | 0,005 | -0,185 | 0,101 |
| Promjena tjelesne mase* | 0,045 | 0,134 | 0,038 | 0,737 |
| Spol (ženski) | -3,411 | 2,745 | -0,141 | 0,218 |

B - regresijski koeficijent; SE(B) - standardna pogreška za konstantu B; β - standardizirani regresijski koeficijent

*Promjena odgovara razlici početne vrijednosti i vrijednosti na kraju intervencije

** Promjena odgovara razlici vrijednosti na kraju intervencije i početne vrijednosti

4.7.2 Multivarijatni utjecaj na OLAB, oxLDL i njihov omjer

Model multiple regresije primijenjen je na isti način kao što je opisano u prethodnom poglavlju za određivanje multivarijatnog utjecaja oxLDL-a, OLAB-a te njihova omjera (OLAB/oxLDL). Nijedan model nije pokazao statističku značajnost. Rezultati testova su bili sljedeći: za oxLDL ($F = 0,959$; $df = 5$; $P = 0,449$; $R = 0,251$; $R^2 = 0,063$), za OLAB ($F = 0,645$; $df = 5$; $P = 0,666$; $R = 0,208$; $R^2 = 0,043$), a za omjer OLAB-a i oxLDL-a ($F = 0,905$; $df = 5$; $P = 0,483$; $R = 0,245$; $R^2 = 0,060$).

5. RASPRAVA

5.1 UČINAK INTERVENCIJE NA ANTIOKSIDATIVNI POTENCIJAL

Primarni cilj provedenog istraživanja bio je usporediti u inak MD i SHD u kombinaciji s tjelesnom aktivnosti na TAC seruma. Otprije je poznato da je pozitivan u inak dijete i tjelovježbe na oksidativni stres ve i od onoga nastalog djelovanjem same dijete [171]. Ova studija je prvenstveno pokazala da je, uz tjelesnu aktivnost, djelovanje MD ili SHD na TAC ovisilo o trajanju intervencije. Na po etku su obje intervencije bitno pove ale TAC seruma, ali bez zna ajnije razlike me u ispitivanim skupinama, dok je na kraju intervencije u skupini MD ustanovljen bolji u inak na pove anje TAC-a.

Može se pretpostaviti da je za po etni povoljni u inak obiju intervencija, izme u ostaloga, zaslužna kalorijska restrikcija, ali i unos odre enih namirnica bogatih antioksidansima koje su bile zastupljene u obje dijete. Mehanizam utjecaja kalorijske restrikcije na smanjenje tjelesne mase i na smanjeno stvaranje slobodnih radikala u pretilih osoba, te posljedi no manji oksidativni stres razjasnili su Vincent i Taylor [18], što je detaljnije opisano u uvodnom dijelu. I drugi su autori potvrdili vezu izme u restrikcije kalorija i manjeg oksidativnog stresa [158; 172]. Istraživanje Dandone i suradnika polu ilo je zanimljive rezultate koji upu uju na to da je povoljan u inak dijete na oksidativni stres prisutan tijekom prvog mjeseca te da kasnije nestaje, vjerojatno uz slabije pridržavanje dijete [172]. Rezultati našeg istraživanja sukladni su s navedenim, ime se može objasniti i razlika koja je uo ena izme u prvog i dvanaestog mjeseca studije.

Osim kalorijske restrikcije, po etni povoljan utjecaj obiju intervencija na TAC pripisujemo i koli ini antioksidansa u vo u i povr u koje su ispitanici obiju skupina unosili u podjednakim koli inama. Sli an su u inak nakon pove ane konzumacije vo a i povr a dokazala i druga istraživanja u kojima je posljedi no primije ena pove ana koncentracija antioksidansa u serumu [173-175]. Pretpostavljeni mehanizam za antioksidativni u inak dijete potje e iz temeljnih istraživanja koja su pokazala da antioksidansi uneseni prehranom inhibiraju oksidaciju LDL-kolesterola [176]. Vo e i povr e koje obiluje fitonutrijentima, antioksidativnim vitaminima i dijetalnim vlaknima, vjerojatno ima isti u inak.

Izme u prvog i dvanaestog mjeseca intervencije došlo je do pada vrijednosti TAC-a u serumu u obje skupine koji je bio je manji u MD skupini, a zna ajniji u SHD skupini. Tako je, u usporedbi s po etnom vrijednosti, promjena vrijednosti TAC-a u ispitanika na MD bila i dalje

statistički značajna. Nasuprot tome, u SHD skupini pad koncentracije TAC-a doveo je do vraćanja razine TAC-a na početnu vrijednost.

Rezultati su pokazali da je pad TAC-a koji je zabilježen u obje skupine posljedica nepridržavanja dijeta, do čega je došlo u drugom dijelu intervencije. Naime, ustanovljeno je da se tijekom vremena, podjednako u obje skupine, smanjila konzumacija preporučениh namirnica s povoljnim djelovanjem (primjerice ribe, maslinova ulja, voća i povrća u MD skupini, te voća i povrća u SHD skupini), a povećala konzumacija onih nepovoljnijih, primjerice crvenog mesa i slatkih jela.

Nadalje, primijetivši razliku između u dijetama (viši TAC u MD skupini) može se objasniti razlikama u njihovom sastavu. Naime, s obzirom na dizajn studije, intervencije su se razlikovale prema unosu ribe, maslinova ulja i orašastih plodova, pa su te namirnice bile ključne za razliku u uinku MD i SHD na TAC. Tu tvrdnju podupiru i druga istraživanja koja su također pokazala da maslinovo ulje i orašasti plodovi uvelike doprinose antioksidativnom statusu ispitanika [158; 177]. Maslinovo ulje, bogato jednostruko nezasićenim masnim kiselinama (posebice oleinskom kiselinom) i fenolnim sastavnicama, zasigurno posjeduje antioksidativna svojstva. U prilog tome idu dokazi Perez-Martinez i suradnika [178] koji su pokazali da dijeta bogata jednostruko nezasićenim masnim kiselinama povećava razinu i aktivnost antioksidativnih enzima i poboljšava postprandijalni oksidativni stres u osoba s metaboličkim sindromom. Konzumacija maslinova ulja dovodi do povećanog sadržaja jednostruko nezasićenih masnih kiselina u LDL-estercima, što je važno zbog činjenice da su jednostruko nezasićene masne kiseline manje podložne oksidaciji u usporedbi s višestruko nezasićenim masnim kiselinama. One također sprječavaju oksidaciju LDL-kolesterola, a istodobno sadrže i tvari s antioksidativnim djelovanjem koje se vežu na LDL-kolesterol. Stoga se maslinovom ulju može pripisati odgovornost za povećanu razinu TAC-a u serumu do koje je došlo u MD skupini. Iako postoje i oprečni dokazi, brojna znanstvena istraživanja upućuju na činjenicu da su za antioksidativno djelovanje maslinova ulja zaslužni i fenolni spojevi [98; 179-182]. Autori preglednog rada vezanog uz tu problematiku zaključuju da prisutni fenoli značajno doprinose antioksidativnom kapacitetu maslinova ulja i njegovim blagotvornim učincima na zdravlje [183].

Druga bitna komponenta mediteranske prehrane bili su orašasti plodovi koji su svakako mogli doprinijeti dugoročno povoljnom uinku MD na TAC seruma, a ispitanici u MD skupini konzumirali su ih u bitno većoj količini od ispitanika na SHD. U prilog tome idu dokazi

mnogobrojnih studija [184-186] te zaključiti preglednog rada Bulla i suradnika [177]. Orašasti plodovi su također bogati nezasićenim masnim kiselinama (većinom jednostrukim), a sadrže i nekoliko tvari s antioksidativnim učinkom, primjerice vitamine (posebice E vitamin), elemente u tragovima (selen), nekoliko fenolnih komponenti i fitosterole.

Nadalje, prema dizajnu ispitivanih dijeta i preporukama koje su ispitanici dobili, otkrivalo se da konzumacija ribe bude veća u MD skupini, što se i potvrdilo analizom prehrambenih upitnika. Ispitanici u MD skupini trebali su crveno meso zamijeniti ribom 3-4 puta na tjedan. Istraživanja čiji je cilj bio odrediti utjecaj ribe na TAC ima vrlo malo [187]. Nasuprot tome, postoje dokazi da je povećan unos crvenog mesa u recipročnoj vezi s TAC-om [147]. Stoga se može smatrati da je smanjeni unos crvenoga mesa, koji je bio zamijenjen ribom, utjecao na povećanje vrijednosti TAC-a. Dodatno, istraživanja su pokazala da omega-3 masne kiseline kojima obiluje plava riba imaju povoljan utjecaj na redoks ravnotežu [188]. Zbog svega navedenog može se pretpostaviti da je konzumacija ribe također doprinijela pozitivnom povećanju razine TAC-a u MD skupini.

Bez obzira na malu biodostupnost gore navedenih supstancija (flavonoidi iz maslinova ulja, orašastih plodova, voća i povrća ili omega-3 masnih kiselina iz ribe), zbog koje je upitna klinička značajnost ovih namirnica, ova je studija dokazala da preporučene količine orašastih plodova, maslinova ulja i ribe konzumirane u kombinaciji imaju dugoročno bolji učinak na antioksidativni potencijal od kontrolne dijeta.

Učinak djelovanje na oksidativni stres ne može se pripisati isključivo vrsti dijeta, već je vrlo vjerojatno zaslužno zajedničko djelovanje dijeta i tjelesne aktivnosti. Kavouras i suradnici [189] su u presječnom istraživanju također primijetili da mediteranska dijeta u kombinaciji s povećanom tjelesnom aktivnošću povećava antioksidativnu obranu organizma, dok je kombinacija sjedilačkog načina života i visokomasne dijeta bogate zasićenim mastima utjecala na povećanje oksidativnog stresa. Ovo je istraživanje, koristeći dizajn randomizirane kontrolirane studije, potvrdilo ranije utvrdenu povezanost, ali uz veću dokaznu snagu. Dobiveni rezultati se slažu s ranije predloženom hipotezom da redovita tjelesna aktivnost uz zdravu prehranu povoljno djeluje na srčano-žilni sustav, i to specifičnim mehanizmom, djelujući na oksidacijsko-redukcijske procese u organizmu.

Do danas su samo dvije studije proučavale učinak mediteranske dijeta na oksidativni stres u pretilih bolesnika [149; 156]. Navedene su studije međutim imale različite primarne ciljeve

koji su odredili druga iji dizajn studija, stoga ih je teško izravno uspore ivati. Kolmvotsou i suradnici [149] uspore ivali su u inak mediteranske dijete u skupinama sa i bez potpore dijeteti ara na TAC koji su nakon dva mjeseca mjerili metodama ORAC (engl. *Oxygen radical absorbance capacity*) i FRAP (engl. *Fluorescence recovery after photobleaching*). Ustanovili su da je samo mediteranska dijeta uz potporu dijeteti ara dovela do bitno pove anog TAC-a. Suprotno tome, Buscemi i suradnici [149] uspore ivali su utjecaj mediteranske dijete i dijete s niskim udjelom ugljikohidrata na 8-izo-PGF₂alpha kao pokazatelja oksidativnog stresa, ali nisu pronašli zna ajnu razliku izme u dviju skupina [156]. Pove anje TAC-a koje je zabilježeno u ovoj studiji sukladno je s rezultatom Kolomvotsoua i suradnika [149], ali ne i s istraživanjem Buscemija i suradnika [156]. Potpora dijeteti ara koja je bila važna u Kolomovotsouvu radu kod nas je postojala u obje skupine, ali u bitno manjoj mjeri. S druge pak strane, intervencija u ovoj studiji dodatno je uklju ivala i tjelesnu aktivnost, što je tako er moglo utjecati na TAC.

Rezultati provedenog istraživanja dobro se uklapaju u dosadašnje spoznaje dobivene iz studije PREDIMED [107; 190], Lyon Heart Study [79; 80] i istraživanja Trichopoulou i suradnika [191]. Njihov je zaklju ak da mediteranska dijeta smanjuje rizik od sr ano-žilnih poreme aja i smrtnosti od sr ano-žilnih bolesti i karcinoma, a rezultati ovoga rada predlažu mogu i mehanizam kojim bi ta dijeta mogla povoljno utjecati na kardiometaboli ki rizik.

Rezultati ovog istraživanja doprinose boljem razumijevanju u inka mediteranske dijete na oksidativni stres, iako to an mehanizam još nije u potpunosti razriješen. Naime, ustanovljeno pove anje TAC-a mnogo je više iznad o ekovanog, s obzirom na koncentraciju flavonoida u plazmi koja se postiže nakon konzumacije namirnica bogatih flavonoidima, kako zbog njihove niske biodostupnosti tako i zbog ubrzane metaboli ke pretvorbe. Pove anje TAC-a naj eš e se objašnjava pove anom fiziološkom koncentracijom urata. Poznato je da urati imaju velik utjecaj na koncentraciju TAC-a te da doprinose njegovom pove anju od 20% do 60%. Ipak, to ne može objasniti rezultate ove studije jer nije došlo do zna ajne promjene u koncentraciji urata ni u jednoj promatranoj skupini. Nadalje, predložen je još jedan mehanizam prema kojem flavonoidi iz hrane djeluju sinergisti ki, što rezultira zna ajnim pove anjem antioksidativnog kapaciteta [192], ime bi se moglo objasniti i djelovanje mediteranske dijete na TAC ustanovljeno u ovom radu budu i da se antioksidativni u inak pojedine namirnice može poja ati u prisutnosti drugih tvari s antioksidativnim svojstvom. Osim toga, poznato je da na plazmatski antioksidativni

kapacitet mogu uvelike utjecati i sastojci hrane bez antioksidativnog djelovanja koji pak djeluju na unos, mobilizaciju iz tkiva i metabolizam endogenih i egzogenih antioksidansa.

Razquin i suradnici [158] također su tražili povezanost TAC-a s različitim imbenicima u ispitanika na MD te su pronašli da je povećani TAC bio povezan sa smanjenjem tjelesne mase. Iz rezultata ovog rada vidljivo je da su ispitanici u MD skupini smanjili svoju tjelesnu masu nešto više od onih u SHD skupini. Analiza multiple regresije nije međutim potvrdila važnost tjelesne mase kao imbenika koji doprinosi promjeni TAC-a, već je istaknula dijetu kao jedini bitan imbenik koji je utjecao na TAC. Ti se rezultati ne slažu s onima iz prethodnog istraživanja koje je pokazalo da gubitak na tjelesnoj masi uvelike doprinosi TAC-u [158]. Nadalje, rezultati dobiveni u ovom radu nisu izdvojili ni tjelesnu aktivnost kao važan imbenik koji doprinosi TAC-u.

Provedeno istraživanje u skladu je s nedavno objavljenim radom u okviru studije PREDIMED u kojem se iznose snažni dokazi o postojanju homeostatskog mehanizma u održavanju koncentracije plazmatskih antioksidansa [193]. Rezultati te studije pokazali su da je u inkovitost povećanog unosa antioksidansa ovisna o početnom antioksidativnom statusu organizma. To nije, u ispitanika koji su na početku intervencije imali najnižu razinu TAC-a došlo je do njegovog najvećeg povećanja nakon primijenjene dijeta. Suprotno tome, u osoba s najvišom razinom TAC-a uočeno je njegovo blago smanjenje. U našem istraživanju utjecaj obilježja intervencija na TAC bio je najveći i tijekom prvog mjeseca, kada su u obje skupine početne koncentracije TAC-a bile najniže. Nakon što je postignuto povećanje razine TAC-a u obje skupine, antioksidativni učinak obilježja dijeta je oslabio, što pokazuju rezultati nakon 12 mjeseci intervencije. Uočeno sniženje razine TAC-a u ovoj studiji sukladno je s opažanjima Zamore-Ros i suradnika [193], a može se objasniti potrebom organizma za održavanjem precizne homeostaze, što uključuje sprečavanje previsokih razina antioksidansa i održavanje njihove razine u fiziološkom rasponu.

5.2 UČINAK INTERVENCIJE NA OKSIDIRANI LDL I ANTITIJELA NA OKSIDIRANI LDL

Prema o ekivanjima, oksidirani LDL (oxLDL) i antitijela na oksidirani LDL (OLAB) pokazali su obrnuti trend u odnosu na TAC. Izme u ispitivanih skupina nije bilo razlike budu i da je u obje došlo do smanjenja koncentracija oxLDL-a i OLAB-a nakon prvog mjeseca, iako ne zna ajno, te do povratka koncentracija prema po etnim vrijednostima nakon dvanaest mjeseci. Bitno je naglasiti da pra ene promjene oxLDL-a i OLAB-a nisu dale statisti ki zna ajne rezultate te e se ovdje raspravljati samo o trendovima njihova kretanja.

Otprije je poznato da povišene vrijednosti oxLDL upu uju na pove ani oksidativni stres i prisutnost upale u organizmu, koji vode nastanku odre enih bolesti. Na temelju svojih istraživanja Wallenfeldt i suradnici [194] predložili su da bi oxLDL mogao biti dobar pokazatelj subklini ke ateroskleroze. U njihovoj je studiji razina oxLDL-a bila u korelaciji s brojem i veli inom tromba. Druge studije su pokazale da je razina oxLDL-a dobar pokazatelj, ak bolji od klasi nih rizi nih imbenika, za akutni koronarni sindrom [195] ili infarkt miokarda [196]. Temeljem navedenih dokaza, po etni pad oxLDL-a u našoj studiji upu uje na mogu e povoljno djelovanje obiju intervencija u pretilih visokorizi nih bolesnika. Iako rezultati ovog istraživanja nisu pokazali statisti ku zna ajnost, potvr uju trend pada oxLDL-a dokazan i u drugim istraživanjima. Primjerice, istraživanje na zdravim ženama koje je ispitalo djelovanje mediteranske dijete nakon 12 tjedana dovelo je do zna ajnog smanjenja oxLDL-a, ali ne i LDL-kolesterola [151]. Studija PREDIMED je primjenom randomiziranog kontroliranog dizajna dokazala isto na uzorku bolesnika s visokim rizikom od sr ano-žilnih bolesti [157] . Djelovanje mediteranske dijete na oxLDL u spomenutim studijama pripisano je maslinovu ulju, a Europska agencija za sigurnost hrane (engl. *European Food Safety Authority*, EFSA) prihvatila je dokaze o uzro no-posljedi noj vezi izme u polifenola iz maslinova ulja (standardiziranih na sadržaj hidroksitirozola i njegovih derivata) i zaštitnog djelovanja od procesa oksidacije LDL estica [197].

Osim maslinova ulja, dokazi upu uju na povoljne uinke dijetalnih vlakana u sprje avanju procesa oksidacije LDL estica. U provedenoj duplo slijepoj, placebo kontroliranoj i randomiziranoj studiji unos 4,5 g na dan netopivih vlakana hitin-glukana doveo je do zna ajno smanjene razine oxLDL-a [198]. Ova injenica ide u prilog objema intervencijama u našem istraživanju jer su vlakna u obje primijenjene dijete bila zastupljena u podjednakim omjerima.

Dosadašnje su studije također pokazale da je smanjenje oxLDL-a, osim dijetom, moguće i vježbanjem ili uvođenjem farmakološke intervencije (primjerice primjenom hipolipemika). Tako je studija koja je uključivala mlade žene i muškarce pokazala značajno smanjenje oxLDL-a nakon 16 tjedana aerobne tjelesne aktivnosti [199].

Na, sva su navedena istraživanja pratila uink na oxLDL nakon 12-16 tjedana intervencije. Stoga se naši rezultati koji ukazuju na ponovno povećanje razine oxLDL-a nakon dvanaest mjeseci ne mogu uspoređivati s dosadašnjim studijama. Za taj neekvivalentni trend svakako je zaslužno nepridržavanje preporuene prehrane i tjelesne aktivnosti nakon duljeg razdoblja intervencije.

Što se tiče OLAB-a, promjena njegove koncentracije pratila je promjene oxLDL-a, ali interpretacija tih podataka je nešto složenija. Nekoliko je studija pokazalo da je titar OLAB-a bio povišen u osoba u uznapredovanom stadiju ateroskleroze [200-203], ali naeni su i suprotni rezultati [204-208]. Neslaganje između različitih istraživanja ukazuje na složenost ovog sustava i na mogućnost da se patofiziološka uloga OLAB-a može mijenjati u ovisnosti o stadiju ateroskleroze [209]. To i neiznenađuje jer su mnoga novija istraživanja jasno ukazala na to da je za koncentracije oksidiranih formi lipoproteina i OLAB-a, posebice u dijabetičara, izrazito bitan stadij bolesti, naročito konkomitantne bolesti [210; 211]. Zbog svega navedenog ostaje nerazjašnjeno je li uloga OLAB-a protektivna ili štetna za organizam, iako studije na animalnim modelima ukazuju na to da imunizacija životinja s oxLDL-om dovodi do porasta OLAB-a te štiti od ateroskleroze [212]. Smatra se da OLAB ima ulogu u otklanjanju oxLDL-a tako što povećava klirens oxLDL-a iz cirkulacije i stoga djeluje antiaterogeno [209]. Da bi se bolje razjasnili dobiveni rezultati, analiziran je omjer oxLDL-a i OLAB-a koji se u istraživanju Pawlake i suradnika [209] pokazao kao novi biomarker povezan s aterosklerozom i sranožilnim problemima u bolesnika na dijalizi. Omjer oxLDL-a i OLAB-a odražava ravnotežu između *in vivo* oksidacije LDL-estica i klirensa oxLDL-a iz krvi.

U provedenom istraživanju omjer OLAB/oxLDL rastao je tijekom vremena u obje ispitivane skupine, pokazujući da je klirens oxLDL-a bio veći od oksidacije novih LDL-estica. Iako porast nije bio statistički značajan, rezultati upućuju na to da se s vremenom u obje skupine, zbog manjeg broja ox-LDL-estica, može očekivati blago antiaterogeno djelovanje.

5.3 UČINAK INTERVENCIJE NA OSTALE PARAMETRE (SEKUNDARNI CILJEVI ISTRAŽIVANJA)

U svrhu ostvarivanja sekundarnih ciljeva ovog rada istražena je u inkovitost dviju intervencija u redukciji tjelesne mase praćenjem tjelesne mase, indeksa tjelesne mase i opsega struka, te određen utjecaj intervencija na kardiometaboličke rizike i metaboličke prisutne u pretilih osoba. Prema dostupnim literaturnim podacima, ovo je jedino istraživanje unutar hrvatske populacije koje je uspoređivalo utjecaj mediteranske i standardne hipolipemičke dijeta u kombinaciji s tjelesnom aktivnošću i biheviornom terapijom na kardiometaboličke rizike i metaboličke na uzorku pretilih bolesnika uključenih u program mršavljenja. Rezultati ove studije pokazali su važnost obiju dijeta u smanjenju prevalencije metaboličkog sindroma. No, pridržavanje mediteranske dijeta pokazalo je pozitivan utjecaj na broj rizika i metaboličke komplikacije. Obje intervencije bile su jednako učinkovite u smanjenju tjelesne mase i poboljšanju regulacije glikemije, dok se mediteranska dijeta pokazala boljom u djelovanju na sistolički arterijski tlak i HDL-kolesterol.

Utjecaj na smanjenje tjelesne mase nije se razlikovao među skupinama iako je preporučeni kalorijski unos u ispitanika na MD (286 kcal) bio nešto veći. No, bez obzira na mogući veći unos energije u MD skupini, utjecaj na opseg struka u tih ispitanika bio je ipak povoljniji (smanjenje od 7,7 cm u MD skupini prema 5,1 cm u SHD skupini). Dobiveni rezultat važan je zbog činjenice da je visceralna debljina definirana opsegom struka bolji prediktor obolijevanja i umiranja od srčano-žilnih i šećerne bolesti tipa 2 [4; 213-215], u usporedbi s tradicionalnim poimanjem debljine mjerene indeksom tjelesne mase. Stoga naš rezultat potvrđuje ranija istraživanja koja su pokazala povoljan utjecaj visokomasnih dijeta bogatih nezasićenim masnim kiselinama na smanjenje rizika za srčano-žilne bolesti, pretilost i šećernu bolest tipa 2 [109; 129; 216]. Kako je kod svih ispitanika uključenih u ovu studiju ustanovljena visceralna debljina, a neki su bolovali i od šećerne bolesti tipa 2, spoznaje do kojih smo došli predstavljaju važan doprinos prijašnjim dokazima da visokomasna dijeta obogaćena maslinovim uljem i orašastim plodovima ne dovodi do povećanja tjelesne mase [217].

Nadalje, u ovom je istraživanju MD dovela do značajnog smanjenja arterijskog tlaka u bolesnika s visokim rizikom od srčano-žilnih bolesti, od kojih je polovina na terapiji antihipertenzivima, a što nije bilo primijećeno u skupini na SHD. Ovi rezultati tako pridonose

znanstvenim spoznajama o smanjenju arterijskog tlaka uslijed pridržavanja mediteranske prehrane [217; 218]. MD je dosta slična dijetama za koje je već ranije bilo dokazano da povoljno djeluju na arterijski tlak, primjerice DASH dijeta [219] i visokomasna dijeta ispitivana u studiji OmniHeart [220]. Treba naglasiti da ustanovljeni u inak na arterijski tlak (sniženje od $9,5 \pm 16,8$ mmHg) može imati veliku kliničku važnost na populacijskoj razini. Naime, nekoliko je metaanaliza pokazalo da je smanjenje arterijskog tlaka, koje samo po sebi ima povoljan utjecaj na zdravlje, usporedivo s onim postignutim farmakoterapijom, a da smanjenje sistoličkog arterijskog tlaka od samo 1 mmHg smanjuje rizik od cerebralnog infarkta za 5% [221].

Naše je istraživanje polučilo zanimljive rezultate koji se odnose na lipidni profil. Suprotno očekivanom, nije ustanovljen dugoročni u inak na trigliceride, LDL-kolesterol i ukupni kolesterol niti u jednoj skupini, dok je povoljan u inak na HDL-kolesterol imala samo intervencija s MD. Prijašnja su istraživanja pokazala da zamjena ugljikohidrata mastima dovodi do smanjenja razine triglicerida i povećanja HDL-kolesterola, dok zamjena zasićenih masnih kiselina jednostruko nezasićenim masnim kiselinama smanjuje LDL-kolesterol [222; 223]. Iako je preporučeni udio ukupnih masti u MD skupini bio vrlo visok (42%), a udio ugljikohidrata relativno nizak (40%), nakon dvanaest mjeseci intervencije nije došlo do očekivanog povoljnog utjecaja na lipide, izuzev HDL-kolesterola. Značajno povećanje vrijednosti HDL-kolesterola do kojeg je došlo u skupini na MD u skladu je s dosadašnjim istraživanjima koja su pokazala da dijeta za mršavljenje s jednostruko nezasićenim masnim kiselinama kao glavnim izvorima masti ima povoljan u inak na lipidni profil u pretilih bolesnika [224]. U svezi spomenutih dokaza, u ovom istraživanju postojala je značajna razlika u sadržaju jednostruko nezasićenih masnih kiselina (MD 25% vs SHD 10%), čime se može objasniti razlika u inak na HDL-kolesterol. Kao što je već rečeno, suprotno od dosadašnjih istraživanja, koncentracije ostalih lipida nisu se značajno promijenile niti u jednoj skupini, niti je bilo razlike između skupina. Značajno smanjenje triglicerida, ukupnog kolesterola i LDL-kolesterola primijećeno je već u MD skupini nakon prvog mjeseca intervencije. U inak dijetama rizik od metaboličkih komplikacija može nastupiti dosta brzo [225; 226] i trebao bi se zadržati u razdoblju pridržavanja preporučene prehrane [227; 228]. Stoga se može pretpostaviti da je do gubitka povoljnog u inka došlo zbog slabijeg pridržavanja prehrane u drugom dijelu intervencije.

Povoljno djelovanje na koncentraciju glukoze zabilježeno je u svih ispitanika, neovisno o vrsti intervencije, čime su potvrđeni prijašnji pozitivni učinci MD na regulaciju glikemije u

bolesnika s metaboli kim sindromom [227]. Pozitivno djelovanje niskomasne dijeta s višim sadržajem ugljikohidrata poznato je od prije, stoga se takva dijeta tradicionalno preporučuje avala bolesnicima sa šećernom bolešću. Danas je me utim jasno da i visokomasne dijeta bogate jednostruko nezasićenim masnim kiselinama mogu poboljšati metaboličku kontrolu [109].

U posljednje vrijeme nekoliko velikih opservacijskih i intervencijskih studija istaknulo da dijetalni imbenici imaju najjači učinak na arterijski tlak, lipide, glikemiju i tjelesnu masu [80; 127; 218]. Noviji epidemiološki dokazi upućuju na vezu između unosa maslinova ulja i smanjene učestalosti cerebralnog infarkta [229], kao i na to da maslinovo ulje i orašasti plodovi imaju povoljan učinak na krvni tlak [230] i lipide zbog svog povoljnog sastava masnih kiselina. Stoga se razlika u učincima između MD i SHD skupina na sekundarne ishode ovog istraživanja može pripisati namirnicama poput maslinova ulja i orašastih plodova.

U usporedbi s rezultatima ovog istraživanja, studija PREDIMED dokazala je značajniji učinak MD na veću količinu rizika od kardiovaskularnih bolesti, poput smrtnosti od krvno-žilnih bolesti. Takvim je rezultatima djelomično moglo pridonijeti neujednačeno pružanje potpore (savjetovanje i praćenje) ispitanicima u intervencijskoj i kontrolnoj skupini u studiji PREDIMED. Nasuprot tome, u našem istraživanju uspoređivane su skupine imale jednaku potporu dijetetima i drugih zdravstvenih djelatnika kao dio bihevioralne terapije tijekom intervencije, a dodatno su, za razliku od istraživanja PREDIMED, obje intervencije uključivale restrikciju kalorijskog unosa i tjelesnu aktivnost. Za pretpostaviti je da su to razlozi povoljnijeg učinka kontrolne skupine u našem istraživanju (SHD), zbog čega je bilo teže dokazati razliku između dvjema intervencijama u ovoj studiji, što je njihovu usporedbu učinilo velikim izazovom. Slična razina smanjenja tjelesne mase također je postignuta upravo kombinacijom kalorijske restrikcije, tjelesne aktivnosti i bihevioralne terapije, jednako zastupljenih u obje skupine, što u prethodnim studijama nije bilo slučaj.

Učinak tjelesne aktivnosti na opće zdravlje ljudi dobro je poznat, a uključuje primarnu i sekundarnu prevenciju kroničnih oboljenja poput srčano-žilnih bolesti, karcinoma, hipertenzije i depresije. Redovito vježbanje ima povoljan učinak na održavanje poželjne tjelesne mase, homeostazu glukoze i inzulinsku osjetljivost. Također je dokazano da MD u kombinaciji s tjelesnom aktivnošću u većoj mjeri smanjuje izgled za razvoj akutnog koronarnog sindroma nego dijeta ili tjelesna aktivnost pojedinačno [231]. Ova je studija dizajnirana upravo tako da osigura maksimalnu dobit programa mršavljenja u inkom na riziku od kardiometaboličke

imbenike. Provedeno istraživanje je pokazalo da kombinacija mediteranske dijeta, tjelesne aktivnosti i dijetetičke potpore može biti dobro rješenje za programe mršavljenja u koje je uključen velik broj osoba s metaboličkim sindromom. Osim toga, ovakva bi intervencija mogla biti važna u smanjenju prevalencije i ozbiljnosti stanja povezanih s procesom ateroskleroze, koja u kombinaciji uvelike povećava rizik od metaboličkog sindroma. U današnje vrijeme kada je farmakoterapija srčano-žilnih bolesti visoko zastupljena u populaciji, a broj pretilih i fizički neaktivnih osoba stalno raste, ova studija potvrđuje važnost kontrole rizika njihovim imbenikom promjenom životnog stila, kao dodatne mjere u terapiji metaboličkog sindroma.

5.4 ČIMBENICI KOJI SU UTJECALI NA PRIDRŽAVANJE PROGRAMA MRŠAVLJENJA I USPJEH U MRŠAVLJENJU

U okviru ovog rada po prvi put određeni su prediktivni imbenici za uspješan ishod mršavljenja na uzorku pretilih bolesnika hrvatske populacije. Dobiveni rezultati u suglasnosti su s mnogim studijama provedenim na drugim populacijama te su potvrdili da je pridržavanje programa mršavljenja i dalje teško dostižan cilj za mnoge pretila bolesnika. Trećina bolesnika bila je uspješna sa smanjenom postotkom tjelesne mase za više od 5%, dok su ostali ispitanici odustali od programa mršavljenja ili završili dvanaestomjesečni program bez postignutog unaprijed određenog cilja.

Od svih ispitanika uključenih u studiju, njih 33% odustalo je tijekom dvanaestomjesečnog praćenja. Do podjednake su udjela osoba koje odustaju od programa mršavljenja došli i Mutsaerts i suradnici [232] metaanalizom koja se temeljila na deset istraživanja. Kao ključne imbenike koji su utjecali na odustajanje od programa, naše istraživanje izdvojilo je niži stupanj obrazovanja i veću postotku tjelesnu masu. Stupanj obrazovanja pokazao se važnim i u istraživanju Elfhaga i Rossnera [233] koji na temelju dobivenih rezultata smatraju da se osobe s višim stupnjem obrazovanja osjećaju ugodnije s brojnim informacijama koje dobiju tijekom edukacije i bihevioralnog programa te da ih mogu bolje upotrijebiti. Nadalje, pokazalo se da su osobe s najvišim stupnjem debljine češće odustajale od programa, što je u suprotnosti s dosadašnjim studijama [234; 235]. Iz navedenog se može zaključiti da je sam edukacijski i bihevioralni program nedovoljan za bolesnike s višim stupnjem pretilosti, stoga bi za takve osobe ubuduće trebalo uključiti i druge mjere za smanjenje suvišne tjelesne mase, primjerice farmakoterapiju. Dostupni dokazi o kombinaciji bihevioralnog i

farmakoterapijskog pristupa tako er podupiru ovu preporuku [236-239]. Uzevši u obzir sve navedeno, vrijedno je istaknuti važnost ranog otkrivanje osoba s najvišim rizikom od odustajanja od programa mršavljenja, to nije onih nižeg stupnja obrazovanja i višeg stupnja pretilosti. Iako je u našem programu bilo nemogu e zadržati 8% bolesnika koji su isklju eni zbog zdravstvenih i psiholoških problema, zasigurno se trebaju poduzeti odre ene mjere kako bi se sprije ilo odustajanje zbog pada motivacije (15%) ili nezadovoljstva programom (2,5%).

Razlozi odustajanja navedeni u ovoj studiji u podudarnosti su s razlozima koje nude druge studije [110; 240; 241], a naj eš i su bili osobni problemi i manjak motivacije za sudjelovanje u programu, dok je nezadovoljstvo samom djetom rijetko kad dovodilo do odustajanja od programa mršavljenja. Druge su studije kao klju ne mjere za ostanak što ve eg broja bolesnika u programu preporu ile eš i kontakt sa zdravstvenim djelatnicima uklju enima u program, uz intenzivno savjetovanje o dijeti i tjelesnoj aktivnosti, te pružanje pisanih informacija bolesnicima [232; 242], što se u praksi pokazalo vrlo zahtjevnim za lije nike i druge zdravstvene djelatnike [110; 241]. Nepridržavanje uputa o mršavljenju i odustajanje od programa pretilih bolesnika ozbiljan je problem uo en u mnogim studijama koje su kao intervenciju uklju ivale djetu. Wadden i suradnici [243] dokazali su da je smanjenje tjelesne mase bilo to ve e što su ispitanici imali više terapijskih tretmana. Najnovije ameri ke smjernice za upravljanje debljinom (AHA/ACC/TOS 2013) iznose dokaze o potrebi za tjednim, a kasnije mjese nim kontaktom bolesnika sa zdravstvenim djelatnicima u svrhu u inkovitijeg mršavljenja. U usporedbi s tim, intervencija naše studije temeljila se na manje intenzivnom pra enju pretilih ispitanika, a zanimljivo je da je nakon godinu dana postignut sli an uspjeh kao i kod intervencija s intenzivnijim pristupom. Stoga primijenjeni dizajn s pet poludnevnih tretmana na po etku te pet kratkih kontrolnih posjeta tijekom godine može biti zanimljiv novi model u lije enju pretilosti.

Što se ti e ispitanika koji su završili program mršavljenja, pokazalo se da su nakon prvih mjesec dana najviše smršavili mla i muškarci. Takav rezultat, naravno, nimalo ne iznena uje s obzirom na viši bazalni metabolizam u mla ih muškaraca. Ovaj se u inak me utim nije zadržao tijekom vremena te se na kraju dvanaestomjese nog programa skupina mla ih muškaraca više nije isticala po uspješnom mršavljenju. Zbog toga bi mla im muškarcima, uslijed naglog mršavljenja, trebao individualiziran pristup s ponaosob krojenim dnevnim kalorijskim unosom,

kako bi se po etni u inak održao do kraja programa. Ipak, uzorak mladih muškaraca nije bio dovoljno velik da bismo mogli donositi pouzdane zaključke.

Rezultati multiple regresije su kao najbolje prediktore za nastavak uspješnog mršavljenja do kraja programa izdvojili bračni status i po etni uspjeh u mršavljenju, što je sukladno drugim studijama koje su uočile da po etni gubitak tjelesne mase, ukoliko je popraćen nutricionističkom edukacijom, bihevioralnom terapijom i povećanom tjelesnom aktivnošću, dovodi do većeg smanjenja tjelesne mase [233; 244-248]. I druge prethodne studije pokazale su da bračni status utječe na uspješnost mršavljenja. Osobe u braku bile su manje uspješne u studiji Winga i suradnika [249], a u studiji koja je pratila bolesnike nakon laparaskopskog želudca i anog premoštenja samci su pokazali bolje rezultate od onih u braku [250]. Ova se zapažanja mogu objasniti činjenicom da osobe koje žive same imaju više vremena za pripremu hrane prema svojim potrebama, a svoje prehrambene navike ne trebaju prilagođavati ostalim članovima obitelji. Zbog toga bi uključivanje drugih članova obitelji u edukaciju o dijeti i promijeni navika pridonijelo boljem uspjehu pretilih osoba uključenih u program mršavljenja. Malo je radova koji su proučavali utjecaj uključivanja bračnog partnera na uspješnost mršavljenja. Dva su starija istraživanja dokazala njegov pozitivan utjecaj. Rosenthal i suradnici [251] pokazali su da je skupina koja nije uključila suprugu u program mršavljenja sporije od one u koju su supruzi bili uključeni. Murphy i suradnici [252] ustanovili su da je uključivanje bračnog partnera vodilo većem gubitku tjelesne mase. Novija je studija zaključila da usmjerenost na par umjesto na pojedinca dovodi do uštede novca u programu mršavljenja [253]. I sustavni pregled McLeana i suradnika [254] doveo je do zaključka da uključivanje partnera povećava učinkovitost programa mršavljenja. Zbog toga je identificiranje bračnog statusa kao bitnog prediktora u mršavljenju na uzorku pretilih bolesnika u ovoj studiji važno i upućuje na potrebu daljnjeg proučavanja utjecaja ove varijable na ishode smanjenja tjelesne mase.

5.5 OGRANIČENJA STUDIJE

Provedena studija imala je nekoliko ograničenja koja se moraju uzeti u obzir pri interpretaciji rezultata. Nepridržavanje danih preporuka općenito je velik problem u studijama koje se temelje na promjenama životnih navika, u prvom redu promjeni prehrane i tjelesne aktivnosti. Stupanj pridržavanja preporučenih dijeta i tjelesne aktivnosti u ovom je istraživanju proučavan validiranim upitnicima, čijom se analizom moglo zaključiti da je bilo odstupanja od danih

preporuka, ali da se pridržavanje ispitanika nije značajno razlikovalo među skupinama te da je bilo zadovoljavajuće. S druge strane, treba uzeti u obzir da ovakav dizajn studije koji se temelji na pripremi jela kod kuće najbolje simulira ponašanje ispitanika u stvarnom životu te, iako pridržavanje preporuka nije bilo idealno, ono pokazuje svakidašnju praksu. Ukoliko se rezultati ove studije žele primijeniti u praksi, pored preporučenih, potrebno je uzeti u obzir i stvarno unesene količine namirnica. Iako su količine konzumiranih namirnica za koje se smatra da su doprinijele primijećenim povoljnim učincima bile manje od preporučenih, ipak su pozitivno djelovale na oksidativni stres, antropometrijske pokazatelje, arterijski tlak i neke biokemijske pokazatelje.

Sljedeće ograničenje ove studije vezano je uz prilično velik broj osoba koje su odustale od programa praćenja (33,1%). Tako visok postotak isključenih ispitanika karakterističan je za studije koje uključuju promjene životnih navika, posebice ukoliko je protokolom određeno dugo razdoblje praćenja bolesnika. Zbog navedenog nije poželjno analizirati sve ispitanike koji su bili uključeni u studiju, već samo one koji su se pridržavali protokola, tj. čija su mjerenja dostupna za sve unaprijed određene vremenske točke praćenja. Naime, kod isključenih više od 20% ispitanika takozvana analiza namjere liječenja (engl. *intention to treat*) dovodi do pristranosti, što oslabljuje valjanost rezultata [255]. Stoga je analiza provedena po realiziranom protokolu (engl. *per protocol analysis*). Manji broj analiziranih ispitanika doveo je do nedovoljne snage statističkih testova nekih praćenih ishoda. To se posebice odnosi na oxLDL i OLAB kod kojih je, uz manji od očekivanog broja ispitanika, varijabilnost oxLDL-a i OLAB-a bila veća od pretpostavljene. Ipak, *post-hoc* određena snaga testa za TAC kao varijablu primarnog ishoda pokazala je zadovoljavajuću snagu.

Nadalje, intervencija ovog istraživanja sadržavala je tri komponente: dijetu, tjelesnu aktivnost i bihevioralnu terapiju. Iako se među skupinama razlikovala samo dijeta, rezultati ove studije ipak odražavaju zajednički učinak svih triju komponenti i njihova međudjelovanja. Stoga se ne može pouzdano tvrditi da bi bilo koja od komponenti ove intervencije, kada bi bila primijenjena sama za sebe, postigla iste rezultate. Potrebna su dodatna, drugačije krojena istraživanja koja bi odgovorila na pitanje o učinku pojedine komponente.

Na kraju, iako je u okviru ovog istraživanja praćen i analiziran velik broj čimbenika, neki su bitni čimbenici koji također djeluju na oksidativni stres ipak bili izostavljeni. Primjerice, nisu napravljene subanalize s obzirom na terapiju lijekovima koju su primali bolesnici pri

uključenju u studiju jer to nije dopuštala velika uzorka, niti je pronađena eventualna promjena kronične terapije uključujući bolesnika. Kako postoje nedvojbena dokazi o učinku pojedinih lijekova na oksidativni stres, primjerice statina ili ACE-inhibitora, moguće je da bi njihova analiza omogućila bolje objašnjenje rezultata ove studije.

6. ZAKLJU CI

U okviru ovog doktorskog rada ispitani su u inci mediteranske dijete (MD) i standardne hipolipemi ke dijete (SHD), u kombinaciji s tjelesnom aktivnoš u i bihevioralnom terapijom, primarno na pokazatelje oksidativnog stresa te sekundarno na smanjenje tjelesne mase i kardiometaboli kih rizi nih imbenika, koriste i randomizirani, paralelni dizajn studije.

Temeljem provedenog istraživanja, dobivenih rezultata i rasprave doneseni su sljede i zaklju ci:

1. Utjecaj na antioksidativni potencijal seruma (TAC) ovisio je o duljini trajanja intervencije. Inicijalno je uo en povoljan u inak obiju intervencija, a dugoro no je intervencija koja je uklju ivala MD bila zna ajno u inkovitija u pove anju TAC-a.
2. Na ispitivanom uzorku pretilih bolesnika vrsta dijete pokazala se jedinim zna ajnim imbenikom s utjecajem na TAC, dok tjelesna aktivnost, spol, promjena tjelesne mase i koncentracija urata nisu zna ajnije utjecali na koncentraciju TAC-a.
3. S obzirom na pove an unos ribe, maslinova ulja i orašastih plodova kao klju ne razlike me u intervencijama, rezultati upu uju na važnost tih namirnica u dugoro nom pozitivnom djelovanju na TAC.
4. Temeljem rezultata rada, predloženi hipotetski mehanizam djelovanja mediteranske dijete na smanjenje smrtnosti od sr ano-žilnih bolesti mogao bi uklju ivati antioksidativni u inak.
5. U ovom istraživanju nije ustanovljen statisti ki zna ajan u inak vremena niti ispitivanih intervencija na oxLDL, OLAB i njihov omjer. Trend kretanja vrijednosti oxLDL-a i OLAB-a ukazao je na po etno povoljno djelovanje u obje intervencije te na nestanak prvotnog povoljnog u inka na kraju dvanaestomjese nog razdoblja pra enja. Dobivene vrijednosti omjera OLAB-a i oxLDL-a upu uju na ve i klirens oxLDL-a u usporedbi s nastajanjem novih oksidiranih LDL estica te na mogu e blago antiaterogeno djelovanje. S obzirom na nedovoljnu snagu statisti kih testova koji su uklju ivali oxLDL, OLAB i njihov omjer te na pozitivan trend promjena ali bez statisti ke zna ajnosti, istraživanje bi imalo smisla ponoviti na ve em broju ispitanika.

6. Istraživanje je potvrdilo povoljan utjecaj ispitivanih intervencija na mršavljenje. Obje su intervencije utjecale na značajno smanjenje tjelesne mase, opsega struka i ITM-a tijekom promatranog razdoblja. Intervencija koja je uključivala MD imala je nešto bolji učinak na smanjenje opsega struka kao važnog prediktora obolijevanja i umiranja od srčano-žilnih bolesti i šećerne bolesti tipa 2.
7. Ustanovljena je povezanost pridržavanja MD ili SHD, u kombinaciji s tjelesnom aktivnošću, sa smanjenjem broja prisutnih komponenti metaboličkog sindroma u pretilih bolesnika. Rezultati su pokazali bolju učinkovitost MD u smanjenju arterijskog tlaka i u povišenju vrijednosti HDL-kolesterola te potvrdili hipotezu da mediteranska dijeta dovodi do redukcije većeg broja čimbenika metaboličkog sindroma. Budući da su obje intervencije imale povoljan učinak na smanjenje tjelesne mase, mogu se preporučiti pretilim bolesnicima.
8. Rezultati provedene studije ukazali su na potpuno smanjenje tjelesne mase i bračni status kao povoljne čimbenike uspješnosti mršavljenja pretilih bolesnika uključujući njih u program mršavljenja. Osobe koje su u potpunoj mjeri smanjile tjelesnu masu i koje su živjele same bile su uspješnije u mršavljenju, što upućuje na potrebu uključivanja drugih članova obitelji u edukaciju i savjetovanje o promjeni životnih navika kako bi se poboljšala uspješnost mršavljenja pretilih osoba koje žive u bračnoj zajednici.
9. Uspješnost mršavljenja od 30%, definirana smanjenjem tjelesne mase 5% potpuno tjelesne mase tijekom dvanaestomjesečnog trajanja programa, ukazuje na probleme pretilih bolesnika u pridržavanju preporučene mjere. Stoga bi se budućim istraživanjima trebali pronaći mehanizmi poboljšanja suradljivosti i održavanje motivacije pretilih bolesnika kroz duže razdoblje. Ipak, postignut uspjeh od 30% dokazuje da je program mršavljenja primijenjen u ovom istraživanju, a koji je uključivao intenzivni petodnevni boravak u Dnevnoj bolnici na potpunoj mjeri studije i pet dodatnih kratkih kontrolnih posjeta kroz dvanaest mjeseci, bio podjednako učinkovit na mršavljenje kao i prethodno istraživani pristupi s redovitim kontaktom bolesnika i zdravstvenog djelatnika.

10. Dobiveni rezultati pokazali su da osobe s višim stupnjem pretilosti i nižim stupnjem edukacije češće odustaju od programa mršavljenja. Stoga je potrebno poduzeti dodatne mjere kako bi se zadržale osobe s većim rizikom odustajanja od programa mršavljenja, primjerice uključivanje farmakoterapije za bolesnike s višim stupnjem pretilosti i druga je osmišljena edukacija za one s nižim stupnjem obrazovanja. Potrebna su dodatna istraživanja na identificiranim skupinama pretilih bolesnika kako bi se sa sigurnošću mogle preporučiti najbolje mjere za smanjenje tjelesne mase svih pretilih osoba koje odluče sudjelovati u programu mršavljenja.

11. Istraživanje provedeno u okviru doktorskog rada po prvi put je na uzorku pretilih bolesnika hrvatske populacije ustanovilo važne čimbenike uspješnosti mršavljenja uz primijenjene nefarmakološke mjere. Pored toga, dobiveni rezultati pridonijeli su razumijevanju pretpostavljenog antioksidativnog mehanizma djelovanja mediteranske prehrane, dajući i dobru osnovu za daljnja usmjerena istraživanja u ovom području.

7. LITERATURA

- (1) Jel i J, Bareti M, Korši M. 4. smjernice o dijagnostici i lije enju debljine. *Lije ni ki Vjesnik* 2010; 132:269-271.
- (2) James W P T. WHO recognition of the global obesity epidemic. *Int J Obesity* 2008; 32:S120-S126.
- (3) Ruži A, Perši V. Pretilost - milenijska prijetnja: tvrdokorna pandemijska bolest modernoga društva. U: Pokrajac-Bulian A, urednik. Pretilost - spremnost za promjenu na ina življenja. Jastrebarsko: Naklada Slap, 2011: 13-25.
- (4) Janssen I, Katzmarzyk P T, Ross R. Waist circumference and not body mass index explains obesity-related health risk. *Am J Clin Nutr* 2004; 79(3):379-384.
- (5) Lean M E, Han T S, Morrison C E. Waist circumference as a measure for indicating need for weight management. *BMJ* 1995; 311(6998):158-161.
- (6) Bluher M. Adipose tissue dysfunction in obesity. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2009; 117(6):241-250.
- (7) Nguyen D M, El-Serag H B. The epidemiology of obesity. *Gastroenterol Clin North Am* 2010; 39(1):1-7.
- (8) Svjetska zdravstvena organizacija. http://www.who.int/gho/ncd/risk_factors/overweight. 2008. 5-4-2014.
- (9) Haider Y M, Cosman B C. Obesity Epidemiology. *Clin Colon Rectal Surg* 2011; 24:205-210.
- (10) Ministarstvo zdravlja. Nacionalna strategija razvoja zdravstva 2010. - 2020. www.zdravlje.hr . 2014. 8-7-2014.
- (11) Gallus S, Lugo A, Murisic B, Bosetti C, Boffetta P, La V C. Overweight and obesity in 16 European countries. *Eur J Nutr* 2014.
- (12) Rosen E D, Spiegelman B M. Adipocytes as regulators of energy balance and glucose homeostasis. *Nature* 2006; 444(7121):847-853.
- (13) Friedman J M. Leptin and the regulation of body weight. *Harvey Lect* 1999; 95:107-136.
- (14) Friedman J M. The function of leptin in nutrition, weight, and physiology. *Nutr Rev* 2002; 60(10 Pt 2):S1-14.
- (15) Halaas J L, Gajiwala K S, Maffei M, Cohen S L, Chait B T, Rabinowitz D i sur. Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene. *Science* 1995; 269(5223):543-546.

- (16) Pellemounter M A, Cullen M J, Baker M B, Hecht R, Winters D, Boone T i sur. Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice. *Science* 1995; 269(5223):540-543.
- (17) Esposito K, Ciotola M, Schisano B, Misso L, Giannetti G, Ceriello A i sur. Oxidative stress in the metabolic syndrome. *J Endocrinol Invest* 2006; 29(9):791-795.
- (18) Vincent H K, Taylor A G. Biomarkers and potential mechanisms of obesity-induced oxidant stress in humans. *Int J Obes (Lond)* 2006; 30(3):400-418.
- (19) Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M, Iwaki M, Yamada Y, Nakajima Y i sur. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J Clin Investig* 2004; 114(12):1752-1761.
- (20) Su i M, Božikov V. Poreme aji uzimanja hrane. U: Vrhovac B, urednik. Interna medicina. Zagreb: Naprijed, 1997: 1335.
- (21) Racette S B, Deusinger S S, Deusinger R H. Obesity: overview of prevalence, etiology, and treatment. *Phys Ther* 2003; 83(3):276-288.
- (22) Stunkard A J, Foch T T, Hrubec Z. A twin study of human obesity. *JAMA* 1986; 256(1):51-54.
- (23) Maes H H, Neale M C, Eaves L J. Genetic and environmental factors in relative body weight and human adiposity. *Behav Genet* 1997; 27(4):325-351.
- (24) Karlin S, Williams P T, Jensen S, Farquhar J W. Genetic analysis of the Stanford LRC family study data. I. Structured exploratory data analysis of height and weight measurements. *Am J Epidemiol* 1981; 113(3):307-324.
- (25) Selassie M, Sinha A C. The epidemiology and aetiology of obesity: a global challenge. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol* 2011; 25(1):1-9.
- (26) Hill J O, Peters J C. Environmental contributions to the obesity epidemic. *Science* 1998; 280(5368):1371-1374.
- (27) Segal N L, Allison D B. Twins and virtual twins: bases of relative body weight revisited. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2002; 26(4):437-441.
- (28) Weinsier R L, Hunter G R, Heini A F, Goran M I, Sell S M. The etiology of obesity: relative contribution of metabolic factors, diet, and physical activity. *Am J Med* 1998; 105(2):145-150.
- (29) Ebbeling C B, Sinclair K B, Pereira M A, Garcia-Lago E, Feldman H A, Ludwig D S. Compensation for energy intake from fast food among overweight and lean adolescents. *JAMA* 2004; 291(23):2828-2833.

- (30) Sothorn M S. Obesity prevention in children: physical activity and nutrition. *Nutrition* 2004; 20(7-8):704-708.
- (31) Malik V S, Schulze M B, Hu F B. Intake of sugar-sweetened beverages and weight gain: a systematic review. *Am J Clin Nutr* 2006; 84(2):274-288.
- (32) Schulze M B, Manson J E, Ludwig D S, Colditz G A, Stampfer M J, Willett W C i sur. Sugar-sweetened beverages, weight gain, and incidence of type 2 diabetes in young and middle-aged women. *JAMA* 2004; 292(8):927-934.
- (33) Matthiessen J, Fagt S, Biloft-Jensen A, Beck A M, Ovesen L. Size makes a difference. *Public Health Nutr* 2003; 6(1):65-72.
- (34) Nielsen S J, Popkin B M. Patterns and trends in food portion sizes, 1977-1998. *JAMA* 2003; 289(4):450-453.
- (35) Young L R, Nestle M. Expanding portion sizes in the US marketplace: implications for nutrition counseling. *J Am Diet Assoc* 2003; 103(2):231-234.
- (36) Rolls B J, Morris E L, Roe L S. Portion size of food affects energy intake in normal-weight and overweight men and women. *Am J Clin Nutr* 2002; 76(6):1207-1213.
- (37) Diliberti N, Bordi P L, Conklin M T, Roe L S, Rolls B J. Increased portion size leads to increased energy intake in a restaurant meal. *Obes Res* 2004; 12(3):562-568.
- (38) Baret M, Bali S. Overweight and Obesity in Croatia. *Diabetol Croat* 2002; 31:105-112.
- (39) Swinburn B, Egger G. The runaway weight gain train: too many accelerators, not enough brakes. *BMJ* 2004; 329(7468):736-739.
- (40) Brownson R C, Boehmer T K, Luke D A. Declining rates of physical activity in the United States: what are the contributors? *Annu Rev Public Health* 2005; 26:421-443.
- (41) King G A, Fitzhugh E C, Bassett D R, Jr., McLaughlin J E, Strath S J, Swartz A M i sur. Relationship of leisure-time physical activity and occupational activity to the prevalence of obesity. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2001; 25(5):606-612.
- (42) Westerterp K R, Speakman J R. Physical activity energy expenditure has not declined since the 1980s and matches energy expenditures of wild mammals. *Int J Obes (Lond)* 2008; 32(8):1256-1263.
- (43) Bonnet M H, Arand D L. We are chronically sleep deprived. *Sleep* 1995; 18(10):908-911.
- (44) Fava M. Weight gain and antidepressants. *J Clin Psychiatry* 2000; 61 Suppl 11:37-41.
- (45) Wilkinson P W, Parkin J M, Pearlson J, Philips P R, Sykes P. Obesity in childhood: A community study in Newcastle upon Tyne. *Lancet* 1977; 1(8007):350-352.

- (46) Hubert H B, Feinleib M, Mcnamara P M, Castelli W P. Obesity as an independent risk factor for cardiovascular disease: a 26-year follow-up of participants in the Framingham Heart Study. *Circulation* 1983; 67(5):968-977.
- (47) Harris T, Cook E F, Garrison R, Higgins M, Kannel W, Goldman L. Body mass index and mortality among nonsmoking older persons. The Framingham Heart Study. *JAMA* 1988; 259(10):1520-1524.
- (48) Higgins M, Kannel W, Garrison R, Pinsky J, Stokes J, III. Hazards of obesity--the Framingham experience. *Acta Med Scand Suppl* 1988; 723:23-36.
- (49) Kannel W B, Cupples L A, Ramaswami R, Stokes J, III, Kreger B E, Higgins M. Regional obesity and risk of cardiovascular disease; the Framingham Study. *J Clin Epidemiol* 1991; 44(2):183-190.
- (50) Donahue R P, Abbott R D. Central obesity and coronary heart disease in men. *Lancet* 1987; 2(8569):1215.
- (51) Ducimetiere P, Richard J, Cambien F. The pattern of subcutaneous fat distribution in middle-aged men and the risk of coronary heart disease: the Paris Prospective Study. *Int J Obes* 1986; 10(3):229-240.
- (52) Larsson B, Svardsudd K, Welin L, Wilhelmsen L, Bjorntorp P, Tibblin G. Abdominal adipose tissue distribution, obesity, and risk of cardiovascular disease and death: 13 year follow up of participants in the study of men born in 1913. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1984; 288(6428):1401-1404.
- (53) Willett W C, Manson J E, Stampfer M J, Colditz G A, Rosner B, Speizer F E i sur. Weight, weight change, and coronary heart disease in women. Risk within the 'normal' weight range. *JAMA* 1995; 273(6):461-465.
- (54) Manson J E, Willett W C, Stampfer M J, Colditz G A, Hunter D J, Hankinson S E i sur. Body weight and mortality among women. *N Engl J Med* 1995; 333(11):677-685.
- (55) Stamler R, Stamler J, Riedlinger W F, Algera G, Roberts R H. Weight and blood pressure. Findings in hypertension screening of 1 million Americans. *JAMA* 1978; 240(15):1607-1610.
- (56) Van Itallie T B. Health implications of overweight and obesity in the United States. *Ann Intern Med* 1985; 103(6 (Pt 2)):983-988.
- (57) Colditz G A, Willett W C, Rotnitzky A, Manson J E. Weight gain as a risk factor for clinical diabetes mellitus in women. *Ann Intern Med* 1995; 122(7):481-486.
- (58) Cerhan J R, Moore S C, Jacobs E J, Kitahara C M, Rosenberg P S, Adami H O i sur. A pooled analysis of waist circumference and mortality in 650,000 adults. *Mayo Clin Proc* 2014; 89(3):335-345.

- (59) De Pergola G, Silvestris F. Obesity as a major risk factor for cancer. *J Obes* 2013; 2013:291546.
- (60) Berghofer A, Pischon T, Reinhold T, Apovian C M, Sharma A M, Willich S N. Obesity prevalence from a European perspective: a systematic review. *BMC Public Health* 2008; 8:200.
- (61) Olshansky S J, Passaro D J, Hershow R C, Layden J, Carnes B A, Brody J i sur. A potential decline in life expectancy in the United States in the 21st century. *N Engl J Med* 2005; 352(11):1138-1145.
- (62) Kahn H S, Cheng Y J. Longitudinal changes in BMI and in an index estimating excess lipids among white and black adults in the United States. *Int J Obes (Lond)* 2008; 32(1):136-143.
- (63) Jensen M D, Ryan D H, Apovian C M, Ard J D, Comuzzie A G, Donato K A i sur. 2013 AHA/ACC/TOS guideline for the management of overweight and obesity in adults: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines and The Obesity Society. *J Am Coll Cardiol* 2014; 63(25 Pt B):2985-3023.
- (64) Lara M, Amigo H. [What kind of intervention has the best results to reduce the weight in overweighted or obese adults?]. *Arch Latinoam Nutr* 2011; 61(1):45-54.
- (65) Curioni C C, Lourenco P M. Long-term weight loss after diet and exercise: a systematic review. *Int J Obes (Lond)* 2005; 29(10):1168-1174.
- (66) Avenell A, Brown T J, McGee M A, Campbell M K, Grant A M, Broom J i sur. What interventions should we add to weight reducing diets in adults with obesity? A systematic review of randomized controlled trials of adding drug therapy, exercise, behaviour therapy or combinations of these interventions. *J Hum Nutr Diet* 2004; 17(4):293-316.
- (67) Shaw K, Gennat H, O'Rourke P, Del M C. Exercise for overweight or obesity. *Cochrane Database Syst Rev* 2006;(4):CD003817.
- (68) Foster G D, Makris A P, Bailer B A. Behavioral treatment of obesity. *Am J Clin Nutr* 2005; 82(1 Suppl):230S-235S.
- (69) Maggioni A P. SCOUT trial reports on the safety profile of sibutramine in patients with cardiovascular diseases. *Phys Sportsmed* 2009; 37(3):95-97.
- (70) Sjostrom L. Analysis of the XENDOS study (Xenical in the Prevention of Diabetes in Obese Subjects). *Endocr Pract* 2006; 12 Suppl 1:31-33.
- (71) Keys A, Menotti A, Karvonen M J, Aravanis C, Blackburn H, Buzina R i sur. The diet and 15-year death rate in the seven countries study. *Am J Epidemiol* 1986; 124(6):903-915.

- (72) Willett W C, Sacks F, Trichopoulou A, Drescher G, Ferroluzzi A, Helsing E i sur. Mediterranean Diet Pyramid - A Cultural Model for Healthy Eating. *American Journal of Clinical Nutrition* 1995; 61(6):S1402-S1406.
- (73) Kastorini C M, Milionis H J, Esposito K, Giugliano D, Goudevenos J A, Panagiotakos D B. The Effect of Mediterranean Diet on Metabolic Syndrome and its Components A Meta-Analysis of 50 Studies and 534,906 Individuals. *J Am Coll Cardiol* 2011; 57(11):1299-1313.
- (74) Paletas K, Athanasiadou E, Sarigianni M, Paschos P, Kalogirou A, Hassapidou M i sur. The protective role of the Mediterranean diet on the prevalence of metabolic syndrome in a population of Greek obese subjects. *J Am Coll Nutr* 2010; 29(1):41-45.
- (75) Panagiotakos D B, Polychronopoulos E. The role of Mediterranean diet in the epidemiology of metabolic syndrome; converting epidemiology to clinical practice. *Lipids Health Dis* 2005; 4:7.
- (76) Trichopoulou A, Kouris-Blazos A, Wahlqvist M L, Gnardellis C, Lagiou P, Polychronopoulos E i sur. Diet and overall survival in elderly people. *BMJ* 1995; 311(7018):1457-1460.
- (77) Martinez-Gonzalez M A, Estruch R. Mediterranean diet, antioxidants and cancer: the need for randomized trials. *Eur J Cancer Prev* 2004; 13(4):327-335.
- (78) Orzano A J, Scott J G. Diagnosis and treatment of obesity in adults: an applied evidence-based review. *J Am Board Fam Pract* 2004; 17(5):359-369.
- (79) de Lorgeril M, Salen P, Martin J L, Monjaud I, Boucher P, Mamelle N. Mediterranean dietary pattern in a randomized trial: prolonged survival and possible reduced cancer rate. *Arch Intern Med* 1998; 158(11):1181-1187.
- (80) de Lorgeril M, Salen P, Martin J L, Monjaud I, Delaye J, Mamelle N. Mediterranean diet, traditional risk factors, and the rate of cardiovascular complications after myocardial infarction: final report of the Lyon Diet Heart Study. *Circulation* 1999; 99(6):779-785.
- (81) Hu F B. Dietary pattern analysis: a new direction in nutritional epidemiology. *Curr Opin Lipidol* 2002; 13(1):3-9.
- (82) Nadochiy S M, Redman E K. Mediterranean diet and cardioprotection: The role of nitrite, polyunsaturated fatty acids, and polyphenols. *Nutrition* 2011; 27(7-8):733-744.
- (83) Perez-Lopez F R, Chedraui P, Haya J, Cuadros J L. Effects of the Mediterranean diet on longevity and age-related morbid conditions. *Maturitas* 2009; 64(2):67-79.
- (84) Sanchez-Moreno C, Cano M P, De Ancos B, Plaza L, Olmedilla B, Granada F i sur. Mediterranean vegetable soup consumption increases plasma vitamin C and decreases F-2-isoprostanes, prostaglandin E-2 and monocyte chemotactic protein-1 in healthy humans. *J Nutr Biochem* 2006; 17(3):183-189.

- (85) Mithen R F, Dekker M, Verkerk R, Rabot S, Johnson I T. The nutritional significance, biosynthesis and bioavailability of glucosinolates in human foods. *J Sci Food Agric* 2000; 80(7):967-984.
- (86) Verkerk R, Schreiner M, Krumbein A, Ciska E, Holst B, Rowland I i sur. Glucosinolates in Brassica vegetables: The influence of the food supply chain on intake, bioavailability and human health. *Mol Nutr Food Res* 2009; 53:S219-S265.
- (87) Kopjar M, Šubari D, Piližota V. Glukozinolati: biodostupnost i utjecaj na zdravlje ljudi. *Hrana u zdravlju i bolesti* 2012; 1:22-35.
- (88) Smith T K, Mithen R, Johnson I T. Effects of Brassica vegetable juice on the induction of apoptosis and aberrant crypt foci in rat colonic mucosal crypts in vivo. *Carcinogenesis* 2003; 24(3):491-495.
- (89) Cordova A C, Sumpio B J, Sumpio B E. Perfecting the Plate: Adding Cardioprotective Compounds to the Diet. *Journal of the American College of Surgeons* 2012; 214(1):97-114.
- (90) Trichopoulou A, Dilis V. Olive oil and longevity. *Mol NutrFood Res* 2007; 51(10):1275-1278.
- (91) Urpi-Sarda M, Casas R, Chiva-Blanch G, Romero-Mamani E S, Valderas-Martinez P, Arranz S i sur. Virgin olive oil and nuts as key foods of the Mediterranean diet effects on inflammatory biomarkers related to atherosclerosis. *Pharmacol Res* 2012; 65(6):577-583.
- (92) Ramirez-Tortosa M C, Urbano G, Lopez-Jurado M, Nestares T, Gomez M C, Mir A i sur. Extra-virgin olive oil increases the resistance of LDL to oxidation more than refined olive oil in free-living men with peripheral vascular disease. *J Nutr* 1999; 129(12):2177-2183.
- (93) Lercker G, Rodriguez-Estrada M T. Chromatographic analysis of unsaponifiable compounds of olive oils and fat-containing foods. *J Chromatogr A* 2000; 881(1-2):105-129.
- (94) Fito M, Covas M I, Lamuela-Raventos R M, Vila J, Torrents J, de la Torre C i sur. Protective effect of olive oil and its phenolic compounds against low density lipoprotein oxidation. *Lipids* 2000; 35(6):633-638.
- (95) Visioli F, Bellomo G, Montedoro G, Galli C. Low-Density-Lipoprotein Oxidation Is Inhibited In-Vitro by Olive Oil Constituents. *Atherosclerosis* 1995; 117(1):25-32.
- (96) Visioli F, Galli C, Plasmati E, Viappiani S, Hernandez A, Colombo C i sur. Olive phenol hydroxytyrosol prevents passive smoking-induced oxidative stress. *Circulation* 2000; 102(18):2169-2171.
- (97) Wiseman S A, Tijburg L B M, van de Put F H M M. Olive oil phenolics protect LDL and spare vitamin E in the hamster. *Lipids* 2002; 37(11):1053-1057.

- (98) Weinbrenner T, Fito M, de la Torre R, Saez G T, Rijken P, Tormos C i sur. Olive oils high in phenolic compounds modulate oxidative/antioxidative status in men. *Journal of Nutrition* 2004; 134(9):2314-2321.
- (99) Trevisan M, Krogh V, Freudenheim J, Blake A, Muti P, Panico S i sur. Consumption of Olive Oil, Butter, and Vegetable-Oils and Coronary Heart-Disease Risk-Factors. *JAMA* 1990; 263(5):688-692.
- (100) Trichopoulou A, Katsouyanni K, Stuver S, Tzala L, Gnardellis C, Rimm E i sur. Consumption of Olive Oil and Specific Food Groups in Relation to Breast-Cancer Risk in Greece. *J Nat Cancer Inst* 1995; 87(2):110-116.
- (101) Psaltopoulou T, Kosti R I, Haidopoulos D, Dimopoulos M, Panagiotakos D B. Olive oil intake is inversely related to cancer prevalence: a systematic review and a meta-analysis of 13,800 patients and 23,340 controls in 19 observational studies. *Lipids Health Dis* 2011; 10:127.
- (102) Bendinelli B, Masala G, Saieva C, Salvini S, Calonico C, Sacerdote C i sur. Fruit, vegetables, and olive oil and risk of coronary heart disease in Italian women: the EPICOR Study. *Am J Clin Nutr* 2011; 93(2):275-283.
- (103) Ellsworth J L, Kushi L H, Folsom A R. Frequent nut intake and risk of death from coronary heart disease and all causes in postmenopausal women: the Iowa Women's Health Study. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2001; 11(6):372-377.
- (104) Hu F B, Stampfer M J, Manson J E, Rimm E B, Colditz G A, Rosner B A i sur. Frequent nut consumption and risk of coronary heart disease in women: prospective cohort study. *BMJ* 1998; 317(7169):1341-1345.
- (105) Albert C M, Gaziano J M, Willett W C, Manson J E. Nut consumption and decreased risk of sudden cardiac death in the Physicians' Health Study. *Arch Intern Med* 2002; 162(12):1382-1387.
- (106) Kris-Etherton P M, Zhao G, Binkoski A E, Coval S M, Etherton T D. The effects of nuts on coronary heart disease risk. *Nutr Rev* 2001; 59(4):103-111.
- (107) Guasch-Ferre M, Bullo M, Martinez-Gonzalez M A, Ros E, Corella D, Estruch R i sur. Frequency of nut consumption and mortality risk in the PREDIMED nutrition intervention trial. *BMC Med* 2013; 11:164.
- (108) Lopez-Uriarte P, Nogues R, Saez G, Bullo M, Romeu M, Masana L i sur. Effect of nut consumption on oxidative stress and the endothelial function in metabolic syndrome. *Clinical Nutrition* 2010; 29(3):373-380.
- (109) Ros E. Dietary cis-monounsaturated fatty acids and metabolic control in type 2 diabetes. *Am J Clin Nutr* 2003; 78(3 Suppl):617S-625S.

- (110) McManus K, Antinoro L, Sacks F. A randomized controlled trial of a moderate-fat, low-energy diet compared with a low fat, low-energy diet for weight loss in overweight adults. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2001; 25(10):1503-1511.
- (111) Shai I, Schwarzfuchs D, Henkin Y, Shahar D R, Witkow S, Greenberg I i sur. Weight loss with a low-carbohydrate, Mediterranean, or low-fat diet. *N Engl J Med* 2008; 359(3):229-241.
- (112) Vrca Botica M, Pavli Renar I. Še erna bolest u odraslih. Zagreb: Školska knjiga, 2012.
- (113) Aros F, Estruch R. Mediterranean diet and cardiovascular prevention. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)* 2013; 66(10):771-774.
- (114) Gado-Lista J, Perez-Martinez P, Garcia-Rios A, Perez-Caballero A I, Perez-Jimenez F, Lopez-Miranda J. Mediterranean diet and cardiovascular risk: beyond traditional risk factors. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2014.
- (115) Zheng J, Huang T, Yu Y, Hu X, Yang B, Li D. Fish consumption and CHD mortality: an updated meta-analysis of seventeen cohort studies. *Public Health Nutr* 2012; 15(4):725-737.
- (116) Urquiaga I, Strobel P, Perez D, Martinez C, Cuevas A, Castillo O i sur. Mediterranean diet and red wine protect against oxidative damage in young volunteers. *Atherosclerosis* 2010; 211(2):694-699.
- (117) Carevic V, Kuzmanic M, Rumboldt M, Rumboldt Z. Predictive impact of coronary risk factors in southern Croatia: a case control study. *Coll Antropol* 2010; 34(4):1363-1368.
- (118) Klatsky A L. Alcohol and cardiovascular mortality: common sense and scientific truth. *J Am Coll Cardiol* 2010; 55(13):1336-1338.
- (119) Quinones M, Miguel M, Aleixandre A. Beneficial effects of polyphenols on cardiovascular disease. *Pharmacol Res* 2013; 68(1):125-131.
- (120) Di Giuseppe R, de Lorgeril M, Salen P, Laporte F, Di Castelnuovo A, Krogh V i sur. Alcohol consumption and n-3 polyunsaturated fatty acids in healthy men and women from 3 European populations. *Am J Clin Nutr* 2009; 89(1):354-362.
- (121) Lasheras C, Fernandez S, Patterson A M. Mediterranean diet and age with respect to overall survival in institutionalized, nonsmoking elderly people. *Am J Clin Nutr* 2000; 71(4):987-992.
- (122) Knoops K T, de Groot L C, Kromhout D, Perrin A E, Moreiras-Varela O, Menotti A i sur. Mediterranean diet, lifestyle factors, and 10-year mortality in elderly European men and women: the HALE project. *JAMA* 2004; 292(12):1433-1439.

- (123) Mitrou P N, Kipnis V, Thiebaut A C, Reedy J, Subar A F, Wirfalt E i sur. Mediterranean dietary pattern and prediction of all-cause mortality in a US population: results from the NIH-AARP Diet and Health Study. *Arch Intern Med* 2007; 167(22):2461-2468.
- (124) Fung T T, Rexrode K M, Mantzoros C S, Manson J E, Willett W C, Hu F B. Mediterranean diet and incidence of and mortality from coronary heart disease and stroke in women. *Circulation* 2009; 119(8):1093-1100.
- (125) Martinez-Gonzalez M A, Fernandez-Jarne E, Serrano-Martinez M, Marti A, Martinez J A, Martin-Moreno J M. Mediterranean diet and reduction in the risk of a first acute myocardial infarction: an operational healthy dietary score. *Eur J Nutr* 2002; 41(4):153-160.
- (126) Panagiotakos D B, Pitsavos C, Chrysohoou C, Stefanadis C, Toutouzas P. Risk stratification of coronary heart disease in Greece: final results from the CARDIO2000 Epidemiological Study. *Prev Med* 2002; 35(6):548-556.
- (127) Sofi F, Cesari F, Abbate R, Gensini G F, Casini A. Adherence to Mediterranean diet and health status: meta-analysis. *Brit Med J* 2008; 337(7671).
- (128) Sofi F. The Mediterranean diet revisited: evidence of its effectiveness grows. *Curr Opin Cardiol* 2009; 24(5):442-446.
- (129) Kris-Etherton P, Eckel R H, Howard B V, St J S, Bazzarre T L. AHA Science Advisory: Lyon Diet Heart Study. Benefits of a Mediterranean-style, National Cholesterol Education Program/American Heart Association Step I Dietary Pattern on Cardiovascular Disease. *Circulation* 2001; 103(13):1823-1825.
- (130) Perez-Jimenez F, Lopez-Miranda J, Mata P. Protective effect of dietary monounsaturated fat on arteriosclerosis: beyond cholesterol. *Atherosclerosis* 2002; 163(2):385-398.
- (131) Estruch R, Ros E, Salas-Salvado J, Covas M I, Corella D, Aros F i sur. Primary prevention of cardiovascular disease with a Mediterranean diet. *N Engl J Med* 2013; 368(14):1279-1290.
- (132) Stone N J, Robinson J G, Lichtenstein A H, Bairey Merz C N, Blum C B, Eckel R H i sur. 2013 ACC/AHA guideline on the treatment of blood cholesterol to reduce atherosclerotic cardiovascular risk in adults: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation* 2014; 129(25 Suppl 2):S1-45.
- (133) National Institute for Clinical Excellence. Lipid modification: cardiovascular risk assessment and the modification of blood lipids for the primary and secondary prevention of cardiovascular disease. *NICE guidelines* 2014; CG181.
- (134) Esposito K, Kastorini C M, Panagiotakos D B, Giugliano D. Mediterranean diet and weight loss: meta-analysis of randomized controlled trials. *Metab Syndr Relat Disord* 2011; 9(1):1-12.

- (135) Esposito K, Kastorini C M, Panagiotakos D B, Giugliano D. Mediterranean diet and metabolic syndrome: an updated systematic review. *Rev Endocr Metab Disord* 2013; 14(3):255-263.
- (136) Hoffman R, Gerber M. Evaluating and adapting the Mediterranean diet for non-Mediterranean populations: a critical appraisal. *Nutr Rev* 2013; 71(9):573-584.
- (137) Hoevenaer-Blom M P, Nooyens A C, Kromhout D, Spijkerman A M, Beulens J W, van der Schouw Y T i sur. Mediterranean style diet and 12-year incidence of cardiovascular diseases: the EPIC-NL cohort study. *PLoS One* 2012; 7(9):e45458.
- (138) Martinez-Gonzalez M A, Guillen-Grima F, De I J, Ruiz-Canela M, Bes-Rastrollo M, Beunza J J i sur. The Mediterranean diet is associated with a reduction in premature mortality among middle-aged adults. *J Nutr* 2012; 142(9):1672-1678.
- (139) Gardener H, Wright C B, Gu Y, Demmer R T, Boden-Albala B, Elkind M S i sur. Mediterranean-style diet and risk of ischemic stroke, myocardial infarction, and vascular death: the Northern Manhattan Study. *Am J Clin Nutr* 2011; 94(6):1458-1464.
- (140) Tognon G, Lissner L, Saebye D, Walker K Z, Heitmann B L. The Mediterranean diet in relation to mortality and CVD: a Danish cohort study. *Br J Nutr* 2014; 111(1):151-159.
- (141) Hodge A M, English D R, Itsiopoulos C, O'Dea K, Giles G G. Does a Mediterranean diet reduce the mortality risk associated with diabetes: evidence from the Melbourne Collaborative Cohort Study. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2011; 21(9):733-739.
- (142) Misirli G, Benetou V, Lagiou P, Bamia C, Trichopoulos D, Trichopoulou A. Relation of the traditional Mediterranean diet to cerebrovascular disease in a Mediterranean population. *Am J Epidemiol* 2012; 176(12):1185-1192.
- (143) Missoni S. Nutritional habits of Croatian Island populations--recent insights. *Coll Antropol* 2012; 36(4):1139-1142.
- (144) Sahay R D, Couch S C, Missoni S, Sujoldzic A, Novokmet N, Durakovic Z i sur. Dietary patterns in adults from an Adriatic Island of Croatia and their associations with metabolic syndrome and its components. *Coll Antropol* 2013; 37(2):335-342.
- (145) Skarupski K A, Tangney C C, Li H, Evans D A, Morris M C. Mediterranean diet and depressive symptoms among older adults over time. *J Nutr Health Aging* 2013; 17(5):441-445.
- (146) Hadziabdic M O, Bozikov V, Pavic E, Romc Z. The antioxidative protecting role of the Mediterranean diet. *Coll Antropol* 2012; 36(4):1427-1434.
- (147) Pitsavos C, Panagiotakos D B, Tzima N, Chrysohoou C, Economou M, Zampelas A i sur. Adherence to the Mediterranean diet is associated with total antioxidant capacity in healthy adults: the ATTICA study. *Am J Clin Nutr* 2005; 82(3):694-699.

- (148) Dai J, Jones D P, Goldberg J, Ziegler T R, Bostick R M, Wilson P W i sur. Association between adherence to the Mediterranean diet and oxidative stress. *Am J Clin Nutr* 2008; 88(5):1364-1370.
- (149) Kolomvotsou A I, Rallidis L S, Mountzouris K C, Lekakis J, Koutelidakis A, Efstathiou S i sur. Adherence to Mediterranean diet and close dietetic supervision increase total dietary antioxidant intake and plasma antioxidant capacity in subjects with abdominal obesity. *Eur J Nutr* 2013; 52(1):37-48.
- (150) Aronis P, Antonopoulou S, Karantonis H C, Phenekos C, Tsoukatos D C. Effect of fast-food Mediterranean-type diet on human plasma oxidation. *J Med Food* 2007; 10(3):511-520.
- (151) Lapointe A, Goulet J, Couillard C, Lamarche B, Lemieux S. A nutritional intervention promoting the Mediterranean food pattern is associated with a decrease in circulating oxidized LDL particles in healthy women from the Quebec City metropolitan area. *J Nutr* 2005; 135(3):410-415.
- (152) Leighton F, Cuevas A, Guasch V, Perez D D, Strobel P, San M A i sur. Plasma polyphenols and antioxidants, oxidative DNA damage and endothelial function in a diet and wine intervention study in humans. *Drugs Exp Clin Res* 1999; 25(2-3):133-141.
- (153) Stachowska E, Wesolowska T, Olszewska M, Safranow K, Millo B, Domanski L i sur. Elements of Mediterranean diet improve oxidative status in blood of kidney graft recipients. *Brit J Nutr* 2005; 93(3):345-52.
- (154) Hagfors L. Antioxidant intake, plasma antioxidants and oxidative stress in a randomized, controlled, parallel, Mediterranean dietary intervention study on patients with rheumatoid arthritis. *Nutrition journal* 2003; 2:5.
- (155) Ambring A, Friberg P, Axelsen M, Laffrezen M, Taskinen M R, Basu S i sur. Effects of a Mediterranean-inspired diet on blood lipids, vascular function and oxidative stress in healthy subjects. *Clin Sci* 2004; 106(5):519-525.
- (156) Buscemi S, Verga S, Tranchina M R, Cottone S, Cerasola G. Effects of hypocaloric very-low-carbohydrate diet vs. Mediterranean diet on endothelial function in obese women. *Eur J Clin Invest* 2009; 39(5):339-347.
- (157) Fito M. Effect of a traditional Mediterranean diet on lipoprotein oxidation: a randomized controlled trial. *Arch Intern Med* 167(11):1195-203, 2007.
- (158) Razquin C, Martinez J A, Martinez-Gonzalez M A, Mitjavila M T, Estruch R, Marti A. A 3 years follow-up of a Mediterranean diet rich in virgin olive oil is associated with high plasma antioxidant capacity and reduced body weight gain. *Eur J Clin Nutr* 2009; 63(12):1387-1393.
- (159) Walpole S C, Prieto-Merino D, Edwards P, Cleland J, Stevens G, Roberts I. The weight of nations: an estimation of adult human biomass. *BMC Public Health* 2012; 12:439.

- (160) Ministry of health and welfare of Croatia. Nutrition standards for patients in hospitals. Croatian Official Gazette Notification no 121. 2007.
Ref Type: Bill/Resolution
- (161) Vitali D. Utjecaj funkcionalnih komponenti keksa na bioraspoloživost minerala. 2008.
- (162) Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med* 1999; 26(9-10):1231-1237.
- (163) Craig C L, Marshall A L, Sjöström M, Bauman A E, Booth M L, Ainsworth B E i sur. International physical activity questionnaire: 12-country reliability and validity. *Med Sci Sports Exerc* 2003; 35(8):1381-1395.
- (164) Turcinov D, Stanley C, Canchola J A, Rutherford G W, Novotny T E, Begovac J. Dyslipidemia and adherence to the Mediterranean diet in Croatian HIV-infected patients during the first year of highly active antiretroviral therapy. *Coll Antropol* 2009; 33(2):423-430.
- (165) Ainsworth B E, Haskell W L, Herrmann S D, Meckes N, Bassett D R, Jr., Tudor-Locke C i sur. 2011 Compendium of Physical Activities: a second update of codes and MET values. *Med Sci Sports Exerc* 2011; 43(8):1575-1581.
- (166) Alberti K G, Eckel R H, Grundy S M, Zimmet P Z, Cleeman J I, Donato K A i sur. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation* 2009; 120(16):1640-1645.
- (167) Cohen J, Cohen P, West S G, Aiken L S. Applied multiple regression/ correlation analysis for the behavioral sciences. 3rd ed. Mhwah, NJ: Lawrence Erlbaum Associates, Inc., 2002.
- (168) Pedhazur E J. Multiple regression in behavioral research. 3rd ed. Orlando, FL: Harcourt Brace, 1997.
- (169) Block G, Dietrich M, Norkus E P, Morrow J D, Hudes M, Caan B i sur. Factors associated with oxidative stress in human populations. *Am J Epidemiol* 2002; 156(3):274-285.
- (170) Ide T, Tsutsui H, Ohashi N, Hayashidani S, Suematsu N, Tsuchihashi M i sur. Greater oxidative stress in healthy young men compared with premenopausal women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002; 22(3):438-442.

- (171) Kahleova H, Matoulek M, Malinska H, Oliyarnik O, Kazdova L, Neskudla T i sur. Vegetarian diet improves insulin resistance and oxidative stress markers more than conventional diet in subjects with Type 2 diabetes. *Diabet Med* 2011; 28(5):549-559.
- (172) Dandona P, Mohanty P, Hamouda W, Ghanim H, Aljada A, Garg R i sur. Inhibitory effect of a two day fast on reactive oxygen species (ROS) generation by leucocytes and plasma ortho-tyrosine and meta-tyrosine concentrations. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86(6):2899-2902.
- (173) Serafini M, Del R D, Crozier A, Benzie I F. Effect of changes in fruit and vegetable intake on plasma antioxidant defenses in humans. *Am J Clin Nutr* 2005; 81(2):531-532.
- (174) Zino S, Skeaff M, Williams S, Mann J. Randomised controlled trial of effect of fruit and vegetable consumption on plasma concentrations of lipids and antioxidants. *BMJ* 1997; 314(7097):1787-1791.
- (175) Crujeiras A B, Parra M D, Rodriguez M C, Martinez de Morentin B E, Martinez J A. A role for fruit content in energy-restricted diets in improving antioxidant status in obese women during weight loss. *Nutrition* 2006; 22(6):593-599.
- (176) Manson J E, Gaziano J M, Jonas M A, Hennekens C H. Antioxidants and cardiovascular disease: a review. *J Am Coll Nutr* 1993; 12(4):426-432.
- (177) Bullo M, Lamuela-Raventos R, Salas-Salvado J. Mediterranean diet and oxidation: nuts and olive oil as important sources of fat and antioxidants. *Curr Top Med Chem* 2011; 11(14):1797-1810.
- (178) Perez-Martinez P, Garcia-Quintana J M, Yubero-Serrano E M, Tasset-Cuevas I, Tunez I, Garcia-Rios A i sur. Postprandial oxidative stress is modified by dietary fat: evidence from a human intervention study. *Clin Sci (Lond)* 2010; 119(6):251-261.
- (179) Marrugat J, Covas M I, Fito M, Schroder H, Miro-Casas E, Gimeno E i sur. Effects of differing phenolic content in dietary olive oils on lipids and LDL oxidation--a randomized controlled trial. *Eur J Nutr* 2004; 43(3):140-147.
- (180) Vissers M N, Zock P L, Katan M B. Bioavailability and antioxidant effects of olive oil phenols in humans: a review. *Eur J Clin Nutr* 2004; 58(6):955-965.
- (181) Moschandreas J, Vissers M N, Wiseman S, van Putte K P, Kafatos A. Extra virgin olive oil phenols and markers of oxidation in Greek smokers: a randomized cross-over study. *Eur J Clin Nutr* 2002; 56(10):1024-1029.
- (182) Fito M, De la T R, Farre-Albaladejo M, Khymenetz O, Marrugat J, Covas M I. Bioavailability and antioxidant effects of olive oil phenolic compounds in humans: a review. *Ann Ist Super Sanita* 2007; 43(4):375-381.

- (183) Martin-Pelaez S, Covas M I, Fito M, Kusar A, Pravst I. Health effects of olive oil polyphenols: recent advances and possibilities for the use of health claims. *Mol Nutr Food Res* 2013; 57(5):760-771.
- (184) Li L, Tsao R, Yang R, Kramer J K, Hernandez M. Fatty acid profiles, tocopherol contents, and antioxidant activities of heartnut (*Juglans ailanthifolia* Var. *cordiformis*) and Persian walnut (*Juglans regia* L.). *J Agric Food Chem* 2007; 55(4):1164-1169.
- (185) Haddad E H, Gaban-Chong N, Oda K, Sabate J. Effect of a walnut meal on postprandial oxidative stress and antioxidants in healthy individuals. *Nutr J* 2014; 13:4.
- (186) Hyson D A, Schneeman B O, Davis P A. Almonds and almond oil have similar effects on plasma lipids and LDL oxidation in healthy men and women. *J Nutr* 2002; 132(4):703-707.
- (187) Lindqvist H, Langkilde A M, Undeland I, Radendal T, Sandberg A S. Herring (*Clupea harengus*) supplemented diet influences risk factors for CVD in overweight subjects. *Eur J Clin Nutr* 2007; 61(9):1106-1113.
- (188) McDonald D M, O'Kane F, McConville M, Devine A B, McVeigh G E. Platelet redox balance in diabetic patients with hypertension improved by n-3 fatty acids. *Diabetes Care* 2013; 36(4):998-1005.
- (189) Kavouras S A, Panagiotakos D B, Pitsavos C, Chrysohoou C, Arnaoutis G, Skoumas Y i sur. Physical Activity and Adherence to Mediterranean Diet Increase Total Antioxidant Capacity: The ATTICA Study. *Cardiol Res Pract* 2010; 2011:248626.
- (190) Guasch-Ferre M, Hu F B, Martinez-Gonzalez M A, Fito M, Bullo M, Estruch R i sur. Olive oil intake and risk of cardiovascular disease and mortality in the PREDIMED Study. *BMC Med* 2014; 12:78.
- (191) Trichopoulou A, Costacou T, Bamia C, Trichopoulos D. Adherence to a Mediterranean diet and survival in a Greek population. *N Engl J Med* 2003; 348(26):2599-2608.
- (192) Lotito S B, Frei B. Consumption of flavonoid-rich foods and increased plasma antioxidant capacity in humans: cause, consequence, or epiphenomenon? *Free Radic Biol Med* 2006; 41(12):1727-1746.
- (193) Zamora-Ros R, Serafini M, Estruch R, Lamuela-Raventos R M, Martinez-Gonzalez M A, Salas-Salvado J i sur. Mediterranean diet and non enzymatic antioxidant capacity in the PREDIMED study: evidence for a mechanism of antioxidant tuning. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2013; 23(12):1167-1174.
- (194) Wallenfeldt K, Fagerberg B, Wikstrand J, Hulthe J. Oxidized low-density lipoprotein in plasma is a prognostic marker of subclinical atherosclerosis development in clinically healthy men. *J Intern Med* 2004; 256(5):413-420.

- (195) Meisinger C, Baumert J, Khuseyinova N, Loewel H, Koenig W. Plasma oxidized low-density lipoprotein, a strong predictor for acute coronary heart disease events in apparently healthy, middle-aged men from the general population. *Circulation* 2005; 112(5):651-657.
- (196) Johnston N, Jernberg T, Lagerqvist B, Siegbahn A, Wallentin L. Oxidized low-density lipoprotein as a predictor of outcome in patients with unstable coronary artery disease. *Int J Cardiol* 2006; 113(2):167-173.
- (197) EFSA Panel on Dietetic N a A. Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to polyphenols in olive and protection of LDL particles from oxidative damage . EFSA Journal 9, 1-25. 2011.
- (198) Bays H E, Evans J L, Maki K C, Evans M, Maquet V, Cooper R i sur. Chitin-glucan fiber effects on oxidized low-density lipoprotein: a randomized controlled trial. *Eur J Clin Nutr* 2013; 67(1):2-7.
- (199) Elosua R, Molina L, Fito M, Arquer A, Sanchez-Quesada J L, Covas M I i sur. Response of oxidative stress biomarkers to a 16-week aerobic physical activity program, and to acute physical activity, in healthy young men and women. *Atherosclerosis* 2003; 167(2):327-334.
- (200) Maggi E, Chiesa R, Melissano G, Castellano R, Astore D, Grossi A i sur. LDL oxidation in patients with severe carotid atherosclerosis. A study of in vitro and in vivo oxidation markers. *Arterioscler Thromb* 1994; 14(12):1892-1899.
- (201) Puurunen M, Manttari M, Manninen V, Tenkanen L, Alfthan G, Ehnholm C i sur. Antibody against oxidized low-density lipoprotein predicting myocardial infarction. *Arch Intern Med* 1994; 154(22):2605-2609.
- (202) Maggi E, Finardi G, Poli M, Bollati P, Filipponi M, Stefano P L i sur. Specificity of autoantibodies against oxidized LDL as an additional marker for atherosclerotic risk. *Coron Artery Dis* 1993; 4(12):1119-1122.
- (203) Salonen J T, Yla-Herttuala S, Yamamoto R, Butler S, Korpela H, Salonen R i sur. Autoantibody against oxidised LDL and progression of carotid atherosclerosis. *Lancet* 1992; 339(8798):883-887.
- (204) Fukumoto M, Shoji T, Emoto M, Kawagishi T, Okuno Y, Nishizawa Y. Antibodies against oxidized LDL and carotid artery intima-media thickness in a healthy population. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20(3):703-707.
- (205) Karvonen J, Paivansalo M, Kesaniemi Y A, Horkko S. Immunoglobulin M type of autoantibodies to oxidized low-density lipoprotein has an inverse relation to carotid artery atherosclerosis. *Circulation* 2003; 108(17):2107-2112.

- (206) Shoji T, Nishizawa Y, Fukumoto M, Shimamura K, Kimura J, Kanda H i sur. Inverse relationship between circulating oxidized low density lipoprotein (oxLDL) and anti-oxLDL antibody levels in healthy subjects. *Atherosclerosis* 2000; 148(1):171-177.
- (207) Shoji T, Fukumoto M, Kimoto E, Shinohara K, Emoto M, Tahara H i sur. Antibody to oxidized low-density lipoprotein and cardiovascular mortality in end-stage renal disease. *Kidney Int* 2002; 62(6):2230-2237.
- (208) Shoji T, Kimoto E, Shinohara K, Emoto M, Ishimura E, Miki T i sur. The association of antibodies against oxidized low-density lipoprotein with atherosclerosis in hemodialysis patients. *Kidney Int Suppl* 2003;(84):S128-S130.
- (209) Pawlak K, Mysliwiec M, Pawlak D. Oxidized LDL to autoantibodies against oxLDL ratio - the new biomarker associated with carotid atherosclerosis and cardiovascular complications in dialyzed patients. *Atherosclerosis* 2012; 224(1):252-257.
- (210) Schwenke D C, D'Agostino R B, Jr., Goff D C, Jr., Karter A J, Rewers M J, Wagenknecht L E. Differences in LDL oxidizability by glycemic status: the insulin resistance atherosclerosis study. *Diab Care* 2003; 26(5):1449-1455.
- (211) Piarulli F, Lapolla A, Sartore G, Rossetti C, Bax G, Noale M i sur. Autoantibodies against oxidized LDLs and atherosclerosis in type 2 diabetes. *Diabs Care* 2005; 28(3):653-657.
- (212) Freigang S, Horkko S, Miller E, Witztum J L, Palinski W. Immunization of LDL receptor-deficient mice with homologous malondialdehyde-modified and native LDL reduces progression of atherosclerosis by mechanisms other than induction of high titers of antibodies to oxidative neopeptides. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998; 18(12):1972-1982.
- (213) Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, Dans T, Avezum A, Lanas F i sur. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet* 2004; 364(9438):937-952.
- (214) Koster A, Leitzmann M F, Schatzkin A, Mouw T, Adams K F, van Eijk J T i sur. Waist circumference and mortality. *Am J Epidemiol* 2008; 167(12):1465-1475.
- (215) Olinto M T, Nacul L C, Gigante D P, Costa J S, Menezes A M, Macedo S. Waist circumference as a determinant of hypertension and diabetes in Brazilian women: a population-based study. *Public Health Nutr* 2004; 7(5):629-635.
- (216) Martinez-Gonzalez M A, Sanchez-Villegas A. The emerging role of Mediterranean diets in cardiovascular epidemiology: monounsaturated fats, olive oil, red wine or the whole pattern? *Eur J Epidemiol* 2004; 19(1):9-13.
- (217) Estruch R, Martinez-Gonzalez M A, Corella D, Salas-Salvado J, Ruiz-Gutierrez V, Covas M I i sur. Effects of a Mediterranean-style diet on cardiovascular risk factors: a randomized trial. *Ann Intern Med* 2006; 145(1):1-11.

- (218) Domenech M, Roman P, Lapetra J, Garcia de la Corte FJ, Sala-Vila A, de la Torre R i sur. Mediterranean diet reduces 24-hour ambulatory blood pressure, blood glucose, and lipids: one-year randomized, clinical trial. *Hypertension* 2014; 64(1):69-76.
- (219) Appel L J, Moore T J, Obarzanek E, Vollmer W M, Svetkey L P, Sacks F M i sur. A clinical trial of the effects of dietary patterns on blood pressure. DASH Collaborative Research Group. *N Engl J Med* 1997; 336(16):1117-1124.
- (220) Appel L J, Sacks F M, Carey V J, Obarzanek E, Swain J F, Miller E R, III i sur. Effects of protein, monounsaturated fat, and carbohydrate intake on blood pressure and serum lipids: results of the OmniHeart randomized trial. *JAMA* 2005; 294(19):2455-2464.
- (221) Grossman E. Blood pressure: the lower, the better: the con side. *Diab Care* 2011; 34 Suppl 2:S308-S312.
- (222) Mensink R P, Zock P L, Kester A D, Katan M B. Effects of dietary fatty acids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on serum lipids and apolipoproteins: a meta-analysis of 60 controlled trials. *Am J Clin Nutr* 2003; 77(5):1146-1155.
- (223) Clarke R, Frost C, Collins R, Appleby P, Peto R. Dietary lipids and blood cholesterol: quantitative meta-analysis of metabolic ward studies. *BMJ* 1997; 314(7074):112-117.
- (224) Pelkman C L, Fishell V K, Maddox D H, Pearson T A, Mauger D T, Kris-Etherton P M. Effects of moderate-fat (from monounsaturated fat) and low-fat weight-loss diets on the serum lipid profile in overweight and obese men and women. *Am J Clin Nutr* 2004; 79(2):204-212.
- (225) Sacks F M, Svetkey L P, Vollmer W M, Appel L J, Bray G A, Harsha D i sur. Effects on blood pressure of reduced dietary sodium and the Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH) diet. DASH-Sodium Collaborative Research Group. *N Engl J Med* 2001; 344(1):3-10.
- (226) Obarzanek E, Sacks F M, Vollmer W M, Bray G A, Miller E R, III, Lin P H i sur. Effects on blood lipids of a blood pressure-lowering diet: the Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH) Trial. *Am J Clin Nutr* 2001; 74(1):80-89.
- (227) Esposito K, Marfella R, Ciotola M, Di P C, Giugliano F, Giugliano G i sur. Effect of a mediterranean-style diet on endothelial dysfunction and markers of vascular inflammation in the metabolic syndrome: a randomized trial. *JAMA* 2004; 292(12):1440-1446.
- (228) Tuomilehto J, Lindstrom J, Eriksson J G, Valle T T, Hamalainen H, Ilanne-Parikka P i sur. Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance. *N Engl J Med* 2001; 344(18):1343-1350.

- (229) Samieri C, Feart C, Proust-Lima C, Peuchant E, Tzourio C, Stapf C i sur. Olive oil consumption, plasma oleic acid, and stroke incidence: the Three-City Study. *Neurology* 2011; 77(5):418-425.
- (230) Casas-Agustench P, Lopez-Uriarte P, Ros E, Bullo M, Salas-Salvado J. Nuts, hypertension and endothelial function. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2011; 21 Suppl 1:S21-S33.
- (231) Pitsavos C, Panagiotakos D B, Chrysohoou C, Kokkinos P F, Skoumas J, Papaioannou I i sur. The effect of the combination of Mediterranean diet and leisure time physical activity on the risk of developing acute coronary syndromes, in hypertensive subjects. *J Hum Hypertens* 2002; 16(7):517-524.
- (232) Mutsaerts M A, Kuchenbecker W K, Mol B W, Land J A, Hoek A. Dropout is a problem in lifestyle intervention programs for overweight and obese infertile women: a systematic review. *Hum Reprod* 2013; 28(4):979-986.
- (233) Elfhag K, Rossner S. Initial weight loss is the best predictor for success in obesity treatment and sociodemographic liabilities increase risk for drop-out. *Patient Educ Couns* 2010; 79(3):361-366.
- (234) Honas J J, Early J L, Frederickson D D, O'Brien M S. Predictors of attrition in a large clinic-based weight-loss program. *Obes Res* 2003; 11(7):888-894.
- (235) Unick J L, Beavers D, Jakicic J M, Kitabchi A E, Knowler W C, Wadden T A i sur. Effectiveness of lifestyle interventions for individuals with severe obesity and type 2 diabetes: results from the Look AHEAD trial. *Diab Care* 2011; 34(10):2152-2157.
- (236) Frost G, Lyons F, Bovill-Taylor C, Carter L, Stuttard J, Dornhorst A. Intensive lifestyle intervention combined with the choice of pharmacotherapy improves weight loss and cardiac risk factors in the obese. *J Hum Nutr Diet* 2002; 15(4):287-295.
- (237) Barratt R, Frost G, O'Boyle A, Millward J, Truby H. Use of sibutramine to assist obese women with weight loss can be successful in dietitian-led clinics: another tool in the dietitian's toolbox. *J Hum Nutr Diet* 2008; 21(3):248-255.
- (238) Koutroumanidou E, Pagonopoulou O. Combination of very low energy diets and pharmacotherapy in the treatment of obesity: meta-analysis of published data. *Diabetes Metab Res Rev* 2014; 30(3):165-174.
- (239) Yanovski S Z, Yanovski J A. Long-term drug treatment for obesity: a systematic and clinical review. *JAMA* 2014; 311(1):74-86.
- (240) Andersen J K. Oxidative stress in neurodegeneration: cause or consequence? *Nature Medicine* 2004; 10(7):S18-S25.

- (241) Andersson I, Rossner S. Weight development, drop-out pattern and changes in obesity-related risk factors after two years treatment of obese men. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1997; 21(3):211-216.
- (242) Dansinger M L, Gleason J A, Griffith J L, Selker H P, Schaefer E J. Comparison of the Atkins, Ornish, Weight Watchers, and Zone diets for weight loss and heart disease risk reduction: a randomized trial. *JAMA* 2005; 293(1):43-53.
- (243) Wadden T A, Berkowitz R I, Womble L G, Sarwer D B, Phelan S, Cato R K i sur. Randomized trial of lifestyle modification and pharmacotherapy for obesity. *New Engl J Med* 2005; 353(20):2111-2120.
- (244) Astrup A, Rossner S. Lessons from obesity management programmes: greater initial weight loss improves long-term maintenance. *Obes Rev* 2000; 1(1):17-19.
- (245) Fabricatore A N, Wadden T A, Moore R H, Butryn M L, Heymsfield S B, Nguyen A M. Predictors of attrition and weight loss success: Results from a randomized controlled trial. *Behav Res Ther* 2009; 47(8):685-691.
- (246) Handjieva-Darlenska T, Handjiev Sv, Larsen T M, van Baak M A, Lindroos A, Papadaki A i sur. Predictors of weight loss maintenance and attrition during a 6-month dietary intervention period: results from the DiOGenes study. *Cin Obes* 2011; 1:62-68.
- (247) Handjieva-Darlenska T, Holst C, Grau K, Blaak E, Martinez J A, Oppert J M i sur. Clinical correlates of weight loss and attrition during a 10-week dietary intervention study: results from the NUGENOB project. *Obes Facts* 2012; 5(6):928-936.
- (248) Karlsen T I, Sohagen M, Hjelmesaeth J. Predictors of weight loss after an intensive lifestyle intervention program in obese patients: a 1-year prospective cohort study. *Health Qual Life Out* 2013; 11(1):165.
- (249) Wing R R, Marcus M D, Epstein L H, Jawad A. A "family-based" approach to the treatment of obese type II diabetic patients. *J Consult Clin Psychol* 1991; 59(1):156-162.
- (250) Lutfi, R., Torquati, A., Sekhar, N. & Richards, W.O. Predictors of success after laparoscopic gastric bypass: amultivariate analysis of socioeconomic factors. *Surg. Endosc* 2006; 20: 864–867.
- (251) Rosenthal B, Allen G J, Winter C. Husband involvement in the behavioral treatment of overweight women: initial effects and long-term follow-up. *Int J Obes* 1980; 4(2):165-173.
- (252) Murphy J K, Williamson D A, Buxton A E, Moody S C, Absher N, Warner M. The long-term effects of spouse involvement upon weight loss and maintenance. *Behav Ther* 1982; 13:681-693.
- (253) Golan R, Schwarzfuchs D, Stampfer M J, Shai I. Halo effect of a weight-loss trial on spouses: the DIRECT-Spouse study. *Public Health Nutr* 2010; 13(4):544-549.


- (254) McLean N, Griffin S, Toney K, Hardeman W. Family involvement in weight control, weight maintenance and weight-loss interventions: a systematic review of randomised trials. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2003; 27(9):987-1005.
- (255) Armijo-Olivo S., Warren S., Magee D. Intention to treat analysis, compliance, drop-outs and how to deal with missing data in clinical research: a review. *Physl Ther Rev* 2009; 14:36-49.

8. PRILOZI

Prilog 1 sadrži primjere dijeta za ispitanike:

- 1) Edukacijski materijal za ispitanike: dijabetička dijeta temeljena na pet dnevnih obroka i 1300 kcal/dan, a zasniva se na potrebnom unosu jedinica hrane iz određene skupine namirnica
- 2) Primjer dnevnog menija za standardnu hipolipemičku dijetu
- 3) Primjer tjednog menija za mediteransku dijetu

Dijabetička dijeta 1300 kcal / 5460 kJ


KBD
 Klinička bolnica Dubrava

Prema preporukama Zavoda za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma i Dijetetike Kliničke bolnice Dubrava
 Predstojnik Interne klinike i pročelnik Zavoda prof. dr. sc. **Velimir Božikov**

Dijabetičku dijetu osmislili: dipl. ing. **Eva Pavić** (prehrambeni tehnolog),
 dipl. ing. **Suzana Tomašević** (nutricionist), dipl. ing. **Irena Martinis** (nutricionist),
 dipl. ing. **Irena Oreč** (prehrambeni tehnolog) i medicinska sestra **Mila Studen**



< **zajutak** - 8 sati

Količine i raspored jedinica

1 jed. **MLIJEKA** i ZAMJENE
 1 jed. **MESA** i ZAMJENE
 1 jed. **KRUHA** i ZAMJENE
 1 jed. **VOĆA**

Prijedlog i količina namirnice

Jogurt light 1.8 dl = 1 komad
 Toast pureća šunka 60g
 Dijabetičko pecivo 60g
 Grožđe 80g

doručak - 10 sati >

Količine i raspored jedinica

1 jed. **VOĆA**

Prijedlog i količina namirnice

Pire od jabuka 160g



< **ručak** - 13 sati

Količine i raspored jedinica

2 jed. **MESA** i ZAMJENE
 2 jed. **POVRĆA**
 2 jed. **KRUHA** i ZAMJENE
 2 jed. **MASNOĆE** i ZAMJENE

Prijedlog i količina namirnice

Juha od rajčice
 Kuhani oslić u povrću 60g
 Kuhane prokulice 200g
 Kuhani krumpir 200g
 Maslinovo ulje 10g

užina - 16 sati >

Količine i raspored jedinica

1 jed. **VOĆA**

Prijedlog i količina namirnice

Jabuka 100g



< **večera** - 19 sati

Količine i raspored jedinica

2 jed. **MESA** i ZAMJENE
 1 jed. **POVRĆA**
 2 jed. **KRUHA** i ZAMJENE
 2 jed. **MASNOĆE** i ZAMJENE

Prijedlog i količina namirnice

Pileće bijelo meso na žaru 60g
 Kupus salata 100g
 Crni kruh 60g
 Ulje 10g



* količina namirnica, odnosi se na pripremljenu namirnicu (ako nije drugačije naznačeno)

(dodatne informacije

Fotografije izradili: Berislav Zemunik i Predrag Knežević, Aranžiranje hrane: Josipa Stojanović

SKUPINE NAMIRNICA PO JEDINICAMA

Skupina KRUH i zamjene

1 jedinica sadrži: 303 kJ (72 kcal)

| 1 jedinica | Odgovara količini u gramima | 1 jedinica | *Odgovara količini u gramima sirove namirnice | |
|------------------------|-----------------------------|------------|---|---|
| Kruh | Bijeli, polubijeli | 25g | Brašno (bijelo, kukuruzno, raženo) | |
| | Crni, raženi kruh i pecivo | 30g | Kukuruzna krupica, pšenična krupica, kokice | |
| | Graham kruh, pecivo | 35g | Zobene pahuljice, heljda, leća, soja zrno | |
| | Kukuruzni kruh | 35g | Ječmena kaša, mekinje | |
| Keksi i krekeri | Dvopek | 20g | Tjestenina | |
| | Dijabetički keksi | 25g | | Makaroni, špageti, mlinci i sl. |
| | Integralni krekeri | 30g | | |
| Škrobno Voće | Kesten bez kore | 45g | Riža | |
| | | | | Integralna ili bijela |
| | | | Škrobno povrće | |
| | | | | Bob, grah, grašak suhi, slanutak, kukuruz zrno, |
| | | | | Soja ljuskice |
| | | | Krumpir oguljeni, grašak smrznuti | |

Skupina MLJEKO i zamjene

1 jedinica sadrži: 462 kJ (110 kcal), 1,5% m.m.

| 1 jedinica | Odgovara količini u gramima |
|-------------------------------------|--|
| Mlijeko i mlijječ. proizvodi | Mlijeko, fermentirana mlijeka (jogurt, kiselo mlijeko, kefir i sl. do 1,5% m.m.) |

Skupina MESO i zamjene

1 jedinica sadrži: 307 kJ (73 kcal)

| 1 jedinica | Odgovara količini u gramima toplinski obrađenog mesa i ribe |
|-------------------------------|---|
| Meso nemasno, bez kože | Piletina i puretina (bez kože), kunjić, teletina, junetina, svinjetina (but), divljač |
| Ribe | Morska i riječna riba, hobotnica, lignje, sipa, dagnje i sl. |
| Ostali proizvodi | Light polutvrdi sir, šunka prešana, riblja konzerva (tuna, sardina i sl., bez ulja) |
| | Toast pureća šunka, pureća ili pileća prsa u ovitku |
| | Posni svježi sir |
| | Topljeni sir light |
| | Jaje - 1 kom. (najviše do 3 komada tjedno) |

Skupina POVRĆE

1 jedinica sadrži: 105 kJ (25 kcal)

| 1 jedinica | Odgovara količini u gramima svježe ili toplinski obrađene namirnice |
|-----------------------------------|--|
| Svježe i ukiseljeno povrće | Mahune, brokula, cvjetača, blitva, špinat, kelj, kupus, tikvice, buča, grah mladi, mrkva, luk crveni, poriluk, zelena salata, cikla, paprika, krastavci, rajčica, gljive |
| | Rajčica pire, pirjana |

Skupina VOĆE

1 jedinica sadrži: 252 kJ (60 kcal)

| 1 jedinica | Odgovara količini u gramima očišćenog ili prerađenog voća | |
|--------------------|---|---|
| Svježe voće | Banana 1/2, smokva | |
| | Grožđe, šipak (nar), mango, trešnje | |
| | Kruška, kivi, ribiz, ogrozđ, borovnica | |
| | Nektarina, ananas, mandarina, maline | |
| | Jabuka, naranča, šljive, višnje | |
| | Breskva, marelica, dinje, kupine, papaja | |
| | Jagode, lubenica, grejp | |
| | Prerađevine od voća | Džem od raznog voća bez šećera (2 male žličice) |
| | Sok od voća bez šećera | |

Skupina MASNOĆE i zamjene

1 jedinica sadrži: 189 kJ (45 kcal)

| 1 jedinica | Odgovara količini u gramima ili komadima |
|---------------------------|---|
| Nezasićene masnoće | Maslinovo ulje, ulje suncokreta, kukuruznih klica, soje (1 mala žličica), margarin |
| | Sjemenke suncokreta, lana, sezama (1 velika žlica) |
| | Orah - 4 polovice, Lješnjak - 5 kom, Badem - 6 kom, Kikiriki - 10 kom, Pistacije - 16 kom |
| | |
| Zasićene masnoće | Maslac, biljna mast |
| | Sušena slanina |
| | Mliječni namaz |
| | Mliječni namaz-light |
| | Kiselo vrhnje 12% m.m. |

Standardna hipolipemička dijeta

| OBROK | NAZIV JELA | ENERGIJA | |
|----------------|-----------------------------------|----------------|----------------|
| | | kcal | kJ |
| Doručak | | | |
| 1. | 0895 LIGHT JOGURT | 82,80 | 343,80 |
| 2. | 0999 PECIVO SA SJEMENKAMA (ZRNIN) | 216,00 | 904,00 |
| | | 298,80 | 1247,80 |
| Užina 1 | | | |
| 1. | 0450 JABUKA-komad | 61,20 | 255,51 |
| Ručak | | | |
| 1. | 0828 JUHA OD CVJETAČE | 100,08 | 418,58 |
| 2. | 0466 PII FĆA PRSA NA ŽARU | 219,00 | 915,80 |
| 3. | 0472 BLITVA LEŠO S KRUMPIROM | 214,09 | 895,41 |
| | | 533,17 | 2229,78 |
| Užina 2 | | | |
| 1. | 0450 JABUKA-komad | 61,20 | 255,51 |
| Večera | | | |
| 1. | 0879 MIJEŠANO POVRĆE S KUKURUZOM | 276,82 | 1158,71 |
| 2. | 0599 ZELENA SALATA | 34,07 | 140,82 |
| | | 310,89 | 1299,54 |
| | UKUPNO | 1265,26 | 5288,14 |
| | PROSJEČNO | 1265,26 | 5288,14 |



Klinička bolnica "Dubrava"
ODJEL PREHRANE
Avenija Gojka Šuška 6
Zagreb

DIJETA: 51 - Hipolipemičko redukcijska dijeta - mediteranska

| DAN | Doručak | Užina 1 | Ručak | Užina 2 | Večera | Kcal |
|-------------|---|------------------|---|------------------|--|---------|
| Ponedjeljak | CORN - FLAKES TEKUĆI JOGURT | KOMPOT OD JABUKA | BISTRA GOVEĐA JUHA PILEĆA PRSA NA ŽARU ZELENA SALATA POLUBIJELI KRUH-1 MASLINOVO ULJE 5g | JABUKA-komad | RIZI -BIZI KUPUS SALATA MASLINOVO ULJE 5g | 1268,78 |
| Utorak | MUESLI JOGURT S PROBIOTIKOM | BANANA | BISTRA GOVEĐA JUHA PUREĆA PRSA "NA NAGLO" KELJ LEŠO MASLINOVO ULJE 10g GRAHAM KRUH | JABUKA-komad | ŽGANCI SA SIROM LIGHT JOGURT | 1297,72 |
| Srijeda | ČAJ OD ŠIPKA SVJEŽI SIR S LANENIM SJEMENKAMA GRAHAM KRUH | VOĆNA SALATA | BISTRA GOVEĐA JUHA MJEŠANO POVRČE "LJETNO" MASLINOVO ULJE 5g | KRUŠKA -komad | TJESTENINA S TUNJEVINOM ZELENA SALATA | 1296,33 |
| Četvrtak | LIGHT JOGURT ZOBENA ŠTANGICA MASLINOVO ULJE 10g | JABUKA | BISTRA GOVEĐA JUHA PASTRVA NA ŽARU MAHUNE LEŠO | MANDARINA | MEDITERANSKA SALATA ZELENA SALATA S CELEROM | 1280,59 |
| Petak | ZOBENE PAHULJICE NA MLJEKU | JABUKA | JUHA OD RAJČICE S TARANOM SKUŠA NA ŽARU BLITVA LEŠO MASLINOVO ULJE 5g | KIVI | KRUMPIR SALATA ZELENA SALATA | 1314,06 |
| Subota | RIŽA NA MLJEKU S CIMETOM | JAGODE | JUHA OD POVRČA PIRJANI PUREĆI FILE BROKULA LEŠO CVJETAČA LEŠO KUHANI KRUMPIR MASLINOVO ULJE 5g | JABUKA | KUHANO JAJE ZELENA SALATA MASLINOVO ULJE 5g | 1172,80 |
| Nedjelja | KUKURUZNI ŽGANCI S MLJEKOM | NARANČA | BISTRA GOVEĐA JUHA SLOŽENAC OD GRAŠKA I PURETINE KUPUS SALATA | KOMPOT OD JABUKA | SALATA OD PILETINE ZELENA SALATA S KUKURUZOM | 1248,03 |

Prilog 2: Meunarodni upitnik fizičke aktivnosti

ME UNARODNI UPITNIK FIZI KE AKTIVNOSTI

(Engl. IPAQ- International Physical Activity Questionnaire)

Cilj ovog upitnika je ispitati koliko ste aktivni i kojim vrstama fizi ke aktivnosti se bavite u svom svakodnevnom životu. Svako pitanje odnosi se na Vašu aktivnost u **posljednjih 7 dana**. Molimo Vas da odgovorite na svako pitanje, ak i ako se ne smatrate aktivnom osobom. Razmislite o svim aktivnostima koje obavljate na poslu, u svome domu, rade i u dvorištu ili vrtu, prilikom dolaska s jednog mjesta na drugo ili u slobodno vrijeme u cilju rekreacije, vježbanja ili bavljenja sportom.

Prvo, razmislite o svim **žestokim** aktivnostima koje ste obavljali tijekom **posljednjih 7 dana**. **Žestoke** aktivnosti podrazumijevaju one aktivnosti koje iziskuju naporan fizi ki trud i ine disanje znatno napornijim nego normalno. Uzmite u obzir samo *one* fizi ke aktivnosti koje ste obavljali u trajanju od najmanje 10 minuta.

1. U **posljednjih 7 dana**, koliko dana ste se bavili **žestokim** fizi kim aktivnostima kao što su podizanje teških predmeta, kopanje, aerobik ili brza vožnja biciklom?

____ dana u tjednu

ne bavim se žestokim fizi kim aktivnostima **Prije i na pitanje 3**

2. Koliko vremena obi no provedete bave i se **žestokim** fizi kim aktivnostima u jednom od tih dana?

____ sati u danu

____ minuta u danu

nisam siguran/ ne znam

Razmislite o svim **umjerenim** aktivnostima koje ste obavljali tijekom **posljednjih 7 dana**. Umjerene aktivnosti su one koje zahtijevaju umjereni fizi ki napor i ine disanje nešto napornijim nego normalno. Uzmite u obzir samo *one* fizi ke aktivnosti koje ste obavljali u trajanju od najmanje 10 minuta.

3. U **posljednjih 7 dana**, koliko dana ste se bavili **umjerenim** fizi kim aktivnostima kao što su nošenje lakšeg tereta, vožnja biciklom umjerenim tempom, tenis... Ovo ne uklju uje šetnju.

____ dana u tjednu

ne bavim se umjerenim fizi kim aktivnostima **Prije i na pitanje 5**

4. Koliko vremena obi no provedete bave i se **umjerenim** fizi kim aktivnostima u jednom od tih dana?

____ sati u danu

____ minuta u danu

nisam siguran/ ne znam

Razmislite o vremenu koje ste proveli u **šetnji** tijekom **posljednjih 7 dana**. Ovo uklju uje šetnju na posao i s posla, šetnju dok putujete od mjesta do mjesta i bilo koju drugu šetnju zbog rekreacije, sporta, vježbanja ili iz dokolice.

5. U **posljednjih 7 dana**, koliko dana ste **hodali** u trajanju od najmanje 10 minuta?

____ dana u tjednu

ne hodam **Prije i na pitanje 7**

6. Koliko vremena obi no provedete dok **hodate** u jednom od tih dana?

____ sati u danu

____ minuta u danu

nisam siguran/ ne znam

Posljednje pitanje odnosi se na vrijeme koje ste proveli **sjede i** tijekom dana u **posljednjih 7 dana**. To uklju uje vrijeme provedeno na poslu, kod ku e, za vrijeme bilo kakvog poslovnog procesa ili iz dokolice. Tako er možete uklju iti vrijeme provedeno za pisa im stolom, vrijeme u posjetu prijateljima te sjedenje ili ležanje za vrijeme itanja ili gledanja televizije.

7. U **posljednjih 7 dana**, koliko ste vremena u danu proveli **sjede i**?

____ sati u danu

____ minuta u danu

nisam siguran/ ne znam

Prilog 3 sadrži tri znanstvena rada objavljena u časopisima zastupljenima u bazi Current Contents koji obrađuju problematiku iznesenu u ovom radu:

- 1) Maja Ortner Hadžiabdi , Iva Mucalo, Pero Hraba , Tomas Mati , Dario Raheli , Velimir Božikov. Factors predictive of drop-out and weight loss success in weight management of obese patients. *Journal of Human Nutrition & Dietetics*. 2014. doi: 10.1111/jhn.12270
- 2) Maja Ortner Hadžiabdi , Dubravka Vitali Čepo, Dario Raheli , Velimir Božikov. The effect of the Mediterranean diet on serum total antioxidant capacity in obese patients: a randomized controlled trial. *Journal of the American College of Nutrition*. 2014. (U tisku).
- 3) Maja Ortner Hadžiabdi , Velimir Božikov, Eva Pavi , Željko Romić . The antioxidative protecting role of the Mediterranean diet. *Collegium Antropologicum*. 2012; 36: 1427-1434.

9. ŽIVOTOPIS

Maja Ortner Hadžiabdi ro ena je 20. travnja 1977. godine u Zagrebu gdje je završila osnovnu školu i II gimnaziju. Diplomirala je 2002. godine na Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu Sveu ilišta u Zagrebu i time stekla zvanje magistra farmacije. Tijekom diplomskog studija u dva je navrata boravila na Farmaceutskom fakultetu Sveu ilišta u Londonu gdje je sura ivala na dva istraživa ka rada i izradila svoj diplomski rad (*Drug Information Preferences in Diabetic Patients*). Nakon završenog diplomskog studija upisuje poslijediplomski magistarski studij na Sveu ilištu države Maine u Sjedinjenim Ameri kim Državama gdje 2005. godine stje e magisterij znanosti iz podru ja kemije obranivši svoj rad pod nazivom *Mechanism of Alzheimer's Disease: Computational Study*. Nakon toga postaje suradnik na TEMPUS JEP 18028-2003 me unarodnom projektu Razvoj i implementacija novog nastavnog programa studija farmacije u razdoblju od 2004.-2007. godine. U okviru istog projekta boravi na institucijama u Velikoj Britaniji i Španjolskoj te 2006. završava poslijediplomski specijalisti ki studij iz klini ke farmacije i farmaceutske prakse na Farmaceutskom fakultetu Sveu ilišta u Londonu. Od 2006. godine zaposlena je u Centru za primijenjenu farmaciju Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveu ilišta u Zagrebu kao znanstveni novak-asistent, a 2009. godine upisuje doktorski studij Farmaceutske znanosti. Uz znanstveni rad sudjeluje u izvo enju nastave na kolegijima Farmakoterapija, Klini ka farmacija i Komunikacijske vještine. lanica je Hrvatskog farmaceutskog društva i Hrvatske ljekarni ke komore gdje je aktivna kao lanica Radne skupine za izradu nacionalnog kompetencijskog okvira te Povjerenstva za unapre enje ljekarni ke prakse u Hrvatskoj. Koautor je pet znanstvenih radova u asopisima citiranima u bazi Current Contents te pet znanstvenih i stru nih radova objavljenih u ostalim asopisima. Aktivno je sudjelovala na doma im i me unarodnim skupovima s 33 posterska i usmena priop enja. Aktivno sudjeluje u edukaciji magistara farmacije u sklopu njihova poslijediplomskog stru nog usavršavanja. Udana je i majka dvaju dje aka.

Objavljeni znanstveni radovi citirani u bazi Current Contents:

1. Maja Ortner Hadžiabdi , Iva Mucalo, Pero Hraba , Tomas Mati , Dario Raheli , Velimir Božikov. Factors predictive of drop-out and weight loss success in weight management of obese patients. *Journal of Human Nutrition & Dietetics*. 2014. doi: 10.1111/jhn.12270
2. Maja Ortner Hadžiabdi , Dubravka Vitali epo, Dario Raheli , Velimir Božikov. The effect of the Mediterranean diet on serum total antioxidant capacity in obese patients: a randomized controlled trial. *Journal of the American College of Nutrition*. 2014. (U tisku).

3. Maja Ortner Hadžiabdi , Velimir Božikov, Eva Pavi , Željko Romi .
The antioxidative protecting role of the Mediterranean diet. *Collegium Antropologicum*.
2012; 36: 1427-1434.
4. Arijana Meštovi , Živka Stanić , **Maja Ortner Hadžiabdi** , Iva Mucalo, Ian Bates,
Catherine Duggan, Sarah Carter, Andrea Bruno, Miljenko Košić. Individualized
Education and Competency Development of Croatian Community Pharmacists Using the
General Level Framework. *American Journal of Pharmacy Education* 2012; 76 (2): 1-8.
5. Arijana Meštovi , Živka Stanić , **Maja Ortner Hadžiabdi** , Iva Mucalo, Ian Bates,
Catherine Duggan, Sarah Carter, Andrea Bruno. Evaluation of Croatian Community
Pharmacists' Patient Care Competencies Using the General Level Framework. *American
Journal of Pharmacy Education* 2011; 75 (2): 1-8.

Ostali znanstveni i stručni radovi:

1. Martina Šari , Monika Škunca, **Maja Ortner Hadžiabdi** , Velimir Božikov.
Metabolički sindrom - novi pristup u definiranju i liječenju. *Farmaceutski Glasnik*. 2013;
69: 333-345.
2. **Maja Ortner Hadžiabdi** . Ljekarnička skrb temeljena na dokazima. *Farmaceutski
Glasnik*. 2012; 68: 483-492.
3. **Maja Ortner Hadžiabdi** . The development of clinical pharmacy courses in Croatia.
European Journal of Hospital Pharmacy. 2009; 15(5): 50-50.
4. Duncan McRobbie, Gail Fleming, **Maja Ortner**, Ian Bates, Graham Davies.
Evaluating skills and competencies of pre-registration pharmacists using objective
structured clinical examination (OSCEs). *Pharmacy Education*. 2006; 6 (2): 133-138.
5. Duncan McRobbie, Gail Fleming, **Maja Ortner**, Ian Bates, Graham Davies.
Measuring clinical competences in preregistration trainees by OSCEs. *The International
Journal of Pharmacy Practice*. 2002; 10(suppl): R7-R7.

10. TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveu ilište u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijski fakultet
Centrar za primijenjenu farmaciju
A. Kova i a 1, 10000 Zagreb, Hrvatska

Doktorski rad

U INCI MEDITERANSKE PREHRANE NA OKSIDATIVNI STRES KOD PRETILIH BOLESNIKA

Maja Ortner Hadžiabdi

SAŽETAK

Kontinuirana progresija prevalencije pretilosti tijekom proteklih desetljeća i njezina terapijska tvrdokornost uvrstile su pretilost u red globalno najvažnijih javnozdravstvenih, socioekonomskih i kliničkih tema. Prema recentnim smjernicama, najvažnije mjesto u liječenju pretilosti zauzima promjena životnih navika s naglaskom na dijetu i tjelesnu aktivnost. U posljednje se vrijeme ista u dobrobiti mediteranske dijeta za koju danas postoji sve više i broj dokaza, ali to an mehanizam djelovanja mediteranske dijeta još nije u potpunosti razjašnjen. Svrha ovoga rada bila je istražiti djelovanje mediteranske dijeta na oksidativni stres kao primarnu mjeru ishoda te time pridonijeti boljem razumijevanju mehanizma njezina djelovanja u pretilih bolesnika. Sekundarne mjere ishoda obuhvaćale su antropometrijske mjere te kliničke i biokemijske imbenike rizika u pretilih osoba. U istraživanje su bila uključena 124 pretila bolesnika (spol: 32 M i 92 Ž; dob: $47,5 \pm 12,42$ godina; ITM: $41,59 \pm 7,32$ kg/m²), randomiziranih u skupine na mediteranskoj (MD) (n = 63) ili standardnoj hipolipemičkoj dijeti (SHD) (n = 61), od čega je njih 84 završilo studiju (40 ispitanika u MD skupini i 44 ispitanika u SHD skupini). Ispitanici su bili uključeni u program mršavljenja koji se temeljio na promjenama životnih navika, a u sklopu kojega je bila petodnevna edukacija te pet kontrolnih pregleda unutar dvanaestomjese nog razdoblja. Rezultati ovog istraživanja pokazali su da je MD bila značajno uinkovitiija u povećanju ukupnog antioksidativnog kapaciteta (TAC); TAC je nakon dvanaest mjeseci iznosio $2,47 \pm 0,45$ mmolTE/L u MD skupini i $2,31 \pm 0,51$ mmolTE/L u SHD skupini (P < 0,001 za uinak vremena, P = 0,009 za uinak interakcije vremena i dijeta). Metodom multiple regresije, vrsta dijeta pokazala se kao jedini značajan imbenik za promjenu TAC-a (P = 0,013), dok tjelesna aktivnost, spol, promjena tjelesne mase i koncentracija urata nisu značajnije doprinijeli promjeni koncentracije TAC-a. U ovom istraživanju nije primijećen statistički značaj uinak vremena niti ispitivanih intervencija na oxLDL, OLAB ili njihov omjer. Istraživanje je također potvrdilo povoljan utjecaj ispitivanih intervencija na mršavljenje; obje su intervencije utjecale na značajno smanjenje tjelesne mase (P < 0,001), opsega struka (P < 0,001) i ITM-a (P < 0,001) tijekom vremena. Osim toga, ovaj je rad potvrdio bolju uinkovitost MD u smanjenju sistoli kog arterijskoga tlaka (pad od $8,27 \pm 18,32$ mmHg u MD skupini vs $1,25 \pm 18,34$ mmHg u SHD skupini) i u povišenju vrijednosti HDL-kolesterola (porast od $0,11 \pm 0,24$ mmol/L u MD skupini i $0,003 \pm 0,19$ mmol/L u SHD skupini) u usporedbi s SHD. Stoga ovi rezultati potvrđuju hipotezu da MD dovodi do redukcije većeg broja imbenika metaboli kog sindroma. Ovo istraživanje po prvi put je na uzorku pretilih bolesnika hrvatske populacije ustanovilo važne imbenike uspješnosti mršavljenja uz primijenjene nefarmakološke mjere. Pored toga, dobiveni rezultati pridonijeli su razumijevanju pretpostavljenog antioksidativnog mehanizma djelovanja mediteranske prehrane, daju i dobru osnovu za daljnja usmjerena istraživanja u ovom području.

Rad je pohranjen u Centralnoj knjižnici Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveu ilišta u Zagrebu.

Rad sadrži: 196 stranica, 25 slika, 28 tablica i 255 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku

Ključne riječi: mediteranska dijeta, oksidacijski stres, ukupni antioksidativni kapacitet (TAC), oksidirani LDL, antitijela na oksidirani LDL, pretilost

Mentor: Dr. sc. Velimir Božikov, *redoviti profesor, Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveu ilišta u Zagrebu*

Povjerenstvo:

Dr. sc. Sanda Vladimir-Knežević, *redovita profesorica, Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveu ilišta u Zagrebu*

Dr. sc. Donatella Verbanac, *docentica, Medicinski fakultet Sveu ilišta u Zagrebu*

Dr. sc. Srećko Marušić, *znanstveni suradnik, Klinička bolnica Dubrava*

Rad prihvaćen: 21.01.2015.

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb
Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Centre for Applied Pharmacy
A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Croatia

Ph.D.Thesis

THE EFFECT OF MEDITERRANEAN DIET ON OXIDATIVE STRESS IN OBESE PATIENTS

Maja Ortner Hadžiabdi

SUMMARY

The rise in global obesity rates over the last decades and its non-responsiveness to the therapeutic measures have been substantial, presenting obesity as a major public health, socioeconomic and clinical issue. The recent guidelines for the management of obesity recommend lifestyle changes with diet and physical activity as the most important therapeutic measure. Numerous evidence point to the benefits of Mediterranean diet (MD); however, its exact mechanism of action is still ambiguous. Therefore, the aim of this work was to explore the effect of MD on oxidative stress as the primary endpoint what could lead to the better understanding of the mechanism of action of MD in obese patients. 124 obese patients participated in study (sex: 32 M and 92 F, age: 47.5 ± 12.42 , BMI: $41.59 \pm 7.32 \text{ kg/m}^2$), and were randomized to either MD (n = 63) or standard hypolipemic diet (SHD) (n = 61) group. 84 subjects (40 in MD and 44 in SHD group) completed the study. All subjects participated in a weight reduction programme, involving intensive 5-day educational intervention on diet, physical activity and behavioural therapy, followed by five follow-up visits during the twelve months. The results imply MD beneficial effect on total antioxidant capacity (TAC); twelve months mean (\pm SD) TAC values were $2.47 \pm 0.45 \text{ mmolTE/L}$ and $2.31 \pm 0.51 \text{ mmolTE/L}$ in MD and SHD, respectively ($P < 0.001$ for time effect; $P = 0.005$ for time-diet interaction effect). Multiple regression model identified type of diet as the only significantly contributing factor to TAC change ($P = 0.013$), while physical activity, gender, body weight change and urate concentration did not contribute significantly. We did not observe the statistically significant time or diet effect on oxLDL, OLAB or their ratio. This study confirmed the beneficial effect of both interventions in weight management, measured as reduction in body weight ($P < 0.001$), waist circumference ($P < 0.001$) and BMI ($P < 0.001$). Compared with the SHD, systolic blood pressure (SBP) decreased ($8.27 \pm 18.32 \text{ mmHg}$ and $1.25 \pm 18.34 \text{ mmHg}$ in MD and SHD group, respectively) and HDL cholesterol increased ($0.11 \pm 0.24 \text{ mmol/L}$ and $0.003 \pm 0.19 \text{ mmol/L}$ in MD and SHD group, respectively) significantly in the MD group. Therefore, these results confirm the hypothesis that adherence to the MD is associated with more prominent reduction of the metabolic syndrome components. This is the first study identifying variables predictive of successful weight loss among obese Croatian patients. Additionally, the obtained results contribute to the understanding of proposed antioxidative mechanism of MD and could be used as the basis for further research in this area.

Thesis is deposited in the Central library of the Faculty of Pharmacy and Biochemistry, University of Zagreb.

Thesis includes: 196 pages, 25 figures, 28 tables and 255 references. Original is in Croatian language.

Keywords: Mediterranean diet, oxidative stress, total antioxidative capacity (TAC), Oxidized low-density lipoprotein (oxLDL), anti-oxLDL antibodies, obesity

Menthor: Velimir Božikov, Ph.D., *Full Professor, Faculty of Pharmacy and Biochemistry, University of Zagreb*

Reviewers:

Sanda Vladimir-Knežević, Ph.D., *Full Professor, Faculty of Pharmacy and biochemistry, University of Zagreb*

Donatella Verbanac, Ph.D., *Assistant Professor, Faculty of Medicine, University of Zagreb*

Srećko Marušić, Ph.D., *Senior Research Associate, Clinical Hospital Dubrava*

The thesis accepted: 21. January 2015.