

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: **2024-04-19**



Repository / Repozitorij:

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





SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FARMACEUTSKO-BIOKEMIJSKI FAKULTET

MAJA ORTNER HADŽIABDIĆ

UČINCI MEDITERANSKE PREHRANE NA OKSIDATIVNI STRES KOD PRETILIH BOLESNIKA

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2015.



UNIVERSITY OF ZAGREB
FACULTY OF PHARMACY AND BIOCHEMISTRY

MAJA ORTNER HADŽIABDIĆ

THE EFFECT OF MEDITERRANEAN DIET ON OXIDATIVE STRESS IN OBESE PATIENTS

DOCTORAL THESIS

Zagreb, 2015



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FARMACEUTSKO-BIOKEMIJSKI FAKULTET

MAJA ORTNER HADŽIABDIĆ

UČINCI 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 HADŽIABDIĆ

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 Raheliću, Ivi Mucalo, Ireni Martinis, Mirni Lasić, Evi Pavić, Martini Šarić, sestrama Mili i Marini kao i svim pacijentima koji su se uključili i trudili ostati u studiji do kraja.

Posebno se zahvaljujem Dubravki Vitali Čepo, Lovorki Đerek, Mariji Grdić Rajković i Mireli Matokanović što su mi pomogle kada je to bilo najpotrebnije i omogućile izvedbu glavnih analiza za ovaj rad.

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

Hvala prof. dr. sc. Mladenu Petrovečkom i Peri Hrabaču na svim savjetima, idejama i statističkom znanju koje su mi prenijeli.

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

Najveće 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 ističu dobrobiti mediteranske dijetе za koju danas postoji sve veći broj dokaza, ali točan mehanizam djelovanja mediteranske dijetе još nije u potpunosti razjašnjen. Svrha ovoga rada bila je istražiti djelovanje mediteranske dijetе 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 čimbenike 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: $41,59 \pm 7,32 \text{ kg/m}^2$), 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 dvanaestomjesečnog razdoblja. Rezultati ovog istraživanja pokazali su da je MD bila značajno učinkovitija u povećanju ukupnog antioksidativnog kapaciteta (TAC); TAC je nakon dvanaest mjeseci iznosio $2,47 \pm 0,45 \text{ mmolTE/L}$ u MD skupini i $2,31 \pm 0,51 \text{ mmolTE/L}$ u SHD skupini ($P < 0,001$ za učinak vremena, $P = 0,009$ za učinak interakcije vremena i dijetе). Metodom multiple regresije, vrsta dijetе pokazala se kao jedini značajan čimbenik 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 značajan učinak tijekom vremena 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 učinkovitost MD u smanjenju sistoličkog arterijskoga tlaka (pad od $8,27 \pm 18,32 \text{ mmHg}$ u MD skupini vs $1,25 \pm 18,34 \text{ mmHg}$ u SHD skupini) i u povišenju vrijednosti HDL-kolesterola (porast od $0,11 \pm 0,24 \text{ mmol/L}$ u MD skupini i $0,003 \pm 0,19 \text{ mmol/L}$ u SHD skupini) u usporedbi s SHD. Stoga ovi rezultati potvrđuju hipotezu da MD dovodi do redukcije većeg

broja čimbenika metaboličkog sindroma. Ovo istraživanje 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 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 TUĐICA

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	Međunarodna dijabetička federacija (engl. <i>International Diabetes Federation</i>)
IL-1	interleukin-1
IL-6	interleukin-6
IPAQ	Međunarodni 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- α	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 UTJECAJALI 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 posljedičnim 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 činitelja, 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 pretile, 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 očekivati 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 rizični čimbenik 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 jačim poremećajem 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].

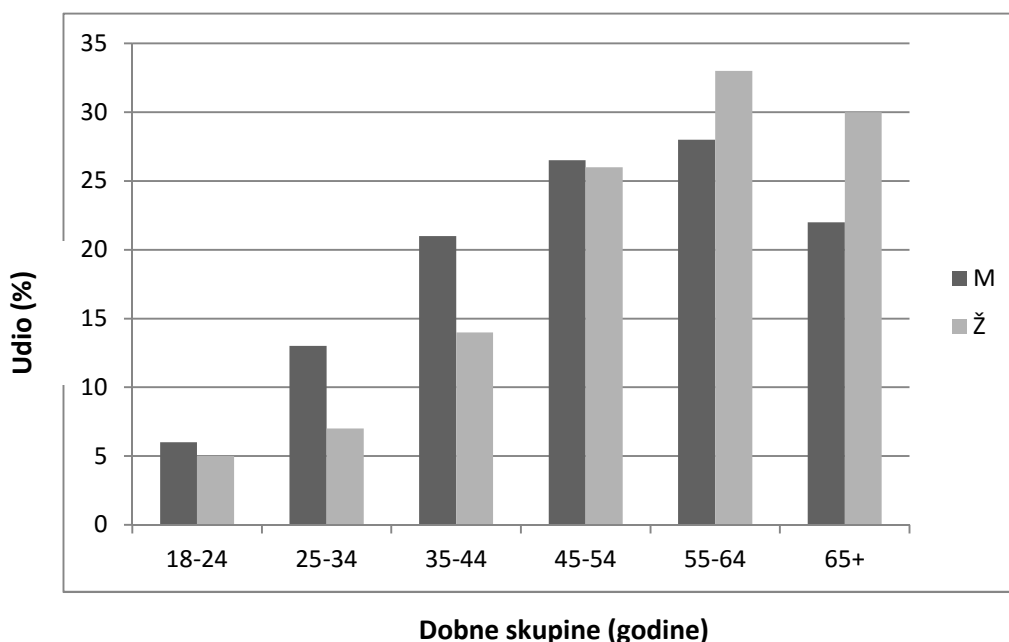
Tablica 2. Normalne vrijednosti opsega struka IDF-a za različite etničke skupine

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 među 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 uspoređivanim zemljama (21,5%) [11].

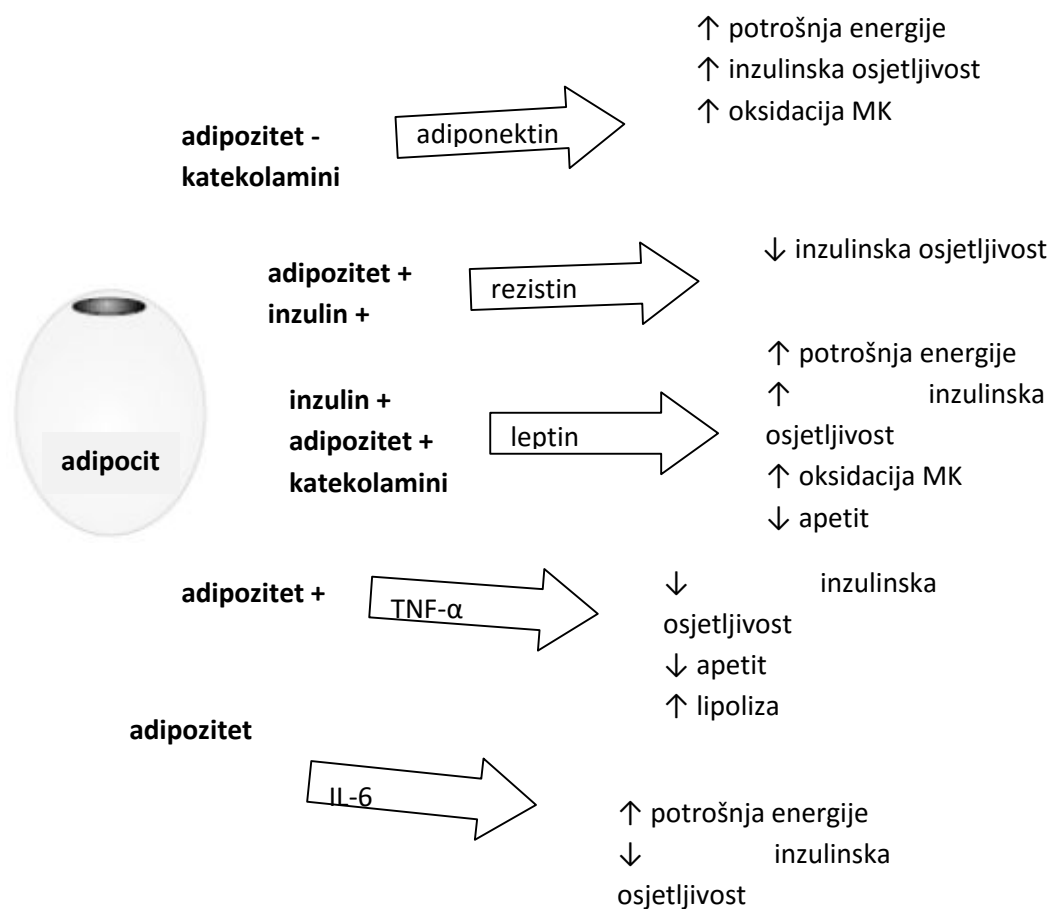
1.1.3 Patofiziologija pretilosti

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 međutim homeostaza energije mnogo složenija i, 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 očuvanja tjelesne mase. Stoga je namjerno smanjeni 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 luče 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 lučenjem primjerice proopiomelanokortina (POMC), kokainom- i amfetaminom- reguliranog transkripta (CART) i kortikoliberina (CRH) smanjuju osjet gladi i tjelesnu masu, a inhibira oreksigene neurone koji lučenjem primjerice neuropeptida Y (NPY) i melanin koncentrirajućeg 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 luči nekoliko adipokina koji su metabolički aktivni, centralno i u perifernim tkivima. Lučenje ovih adipokina regulirano je inzulinom, katekolaminima i adipozitetom. TNF- α : faktor nekroze tumora-alfa; IL-6: interleukin-6; MK: masne kiseline; GLUT-4: glukozni prijenosnik tip 4 (prilagođeno 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 utječu na razvoj pojedinih poremećaja. Adipociti pretilih osoba imaju manju gustoću inzulinskih receptora i veću gustoću beta-3-adrenergičkih receptora zbog čega dolazi do povećane lipolize iz tog područja. Pritom se oslobađaju masne kiseline, koje su pak nizom mehanizama povezane s patološkim procesima debljine. Dolazi primjerice do sljedećih procesa: povećanog stvaranja slobodnih kisikovih radikala; smanjenog klirensa inzulina koji pak dovodi do hiperinzulinemije i smanjene inzulinske osjetljivosti; sinergističkog djelovanja IL-6 i TNF- α te indukcije apoptoze u β -stanicama gušterače. Dodatno, povećan dotok slobodnih masnih kiselina u jetra uzrokuje povećanu sintezu triglicerida i hiperlipoproteinemiju. Svi nabrojeni procesi objedinjeni su pojmom lipotoksičnosti. Tako

disfunkcija adipoznog tkiva i lipotoksičnost čine 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 endotelnog sloja stanica što u tankome sloju pokrivaju sve cirkulacijske šupljine tijela. Pretilost također, navedenim mehanizmima i potičući 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 potičući 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, urične 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 činitelja 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]. Nabrojeni činitelji nisu međusobno isključivi; pretilost može uključivati samo neke ili sve spomenute činitelje koji doprinose nastanku oksidativnog stresa. Ovisno o stanju pretile osobe, određeni činitelj 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 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, adipociti luče i angotenzin 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 masnome 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 pretile osobe 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: nasljeđe, 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 sjedilački 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 jednojajčanim parovima blizanaca bila čak dva puta veća nego među dvojajčanim blizancima [22]. Praćenje istih ispitanika nakon 25 godina dodatno je potvrdilo ulogu gena u regulaciji tjelesne mase. Druga klasična studija koja je proučavala povezanost ITM-a posvojene djece i njihovih bioloških roditelja pronašla je vrlo snažnu korelaciju između njihovih ITM-ova, dok takva povezanost nije primijećena između ITM-ova posvojene djece i njihovih posvojitelja [23]. Maes i suradnici procijenili su da su genetski čimbenici odgovorni za čak 50 do 90% promjene ITM-a [23]. Što se tiče načina nasljeđivanja, debljina može biti naslijeđena 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 naslijeđena. 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 oligogenskom ili poligeniskom 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 populacijom ne javljaju u tako kratkom razdoblju, stoga moraju postojati drugi čimbenici koji uvelike utječu na nastanak pretilosti. Mnoge su nedavne studije pokazale da upravo bihevioralni i okolišni čimbenici 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 čimbenika 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 promjene u načinu ishrane tijekom posljednjih nekoliko generacija, primijećeno je da se tradicionalan način 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 prekomjerne tjelesne težine u djece i konzumacije slatkih napitaka

[31]. Većina studija, iako ne sve, dokazale su snažnu pozitivnu korelaciju između tjelesne mase i konzumacije slatkih napitaka. Isto se pokazalo i na uzorku žena [32]. Nadalje, količina obroka i veličina porcije bitno su se povećale u usporedbi s onima od prije 20-30 godina [33]. Istraživanja su pokazala da, uzmemo li u obzir povećani unos hrane kao jedini promijenjeni čimbenik, on sam uzrokuje dovoljno povećanje dnevno unesenih kalorija i posljedično debljanje [34-37]. Promjene tradicionalnoga načina prehrane očite su i u Hrvatskoj [38].

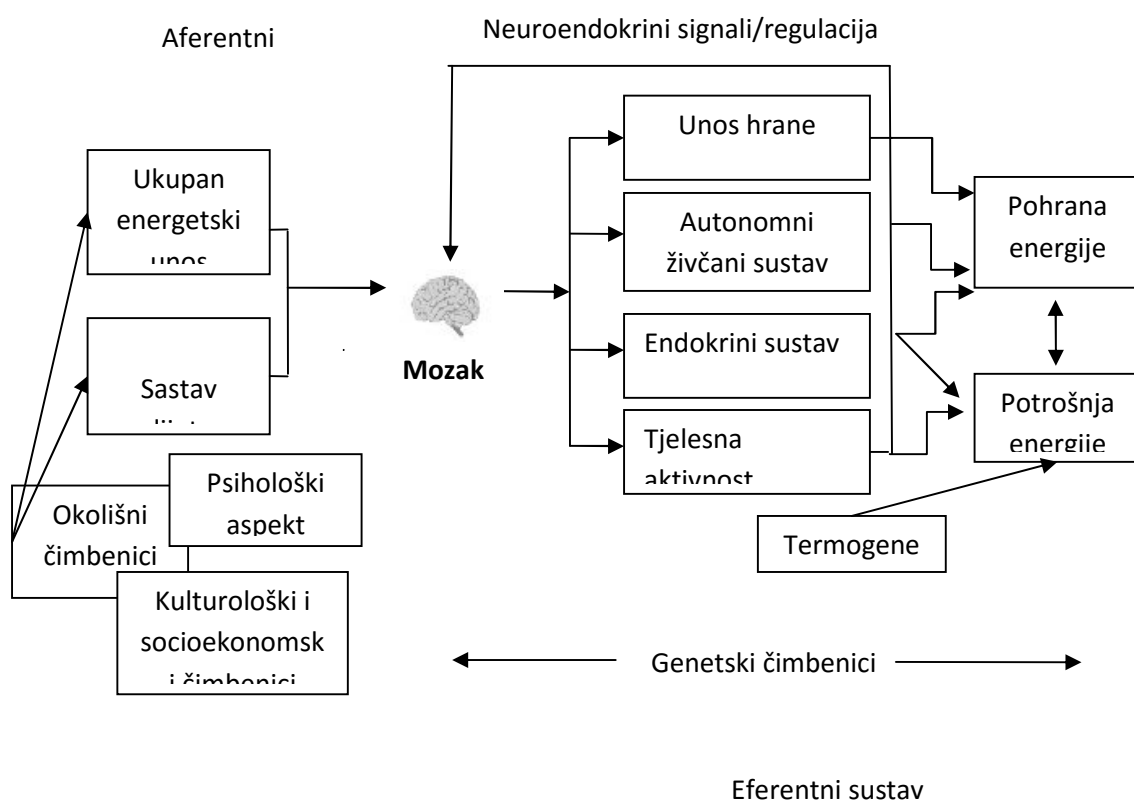
Manja tjelesna aktivnost izravno je povezana s debljinom i također se navodi kao važan uzrok epidemije debljine [39]. Mnoga istraživanja upućuju na to da danas više ljudi na radno mjesto ide i s njega se vraća automobilom, više je ljudi zaposleno na „sjedilačkim“ radim mjestima a manje na poslovima koji zahtijevaju fizički rad te da sve veći broj ljudi slobodno vrijeme provodi pred televizijskim ekranima i računalima, a ne baveći se slobodnim aktivnostima na otvorenome [40-42]. Weinsier čak 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 čimbenici također mogu utjecati na unos hrane i doprinijeti nastanku pretilosti. Konzumacija jela u pretilih je osoba više ovisna o vanjskim utjecajima nego o unutarnjem osjećaju gladi [20]. Tako izgled, oblik i miris hrane u pretilih osoba češće pobuđuju osjećaj želje za hranom nego u mršavih. S druge strane, emocionalno stanje, kao osjećaj ugone, raspoloženja, tuge, depresije i slično, može dovesti do želje za hranom, što se naziva „emocionalno jedenje“.

Još jedna bitna komponenta za razvoj pretilosti je potrošnja, tj. izdavanje energije, određena metaboličkim čimbenicima. 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 slično) i održavanje tjelesne temperature. Taj je metabolizam nešto veći nego bazalni metabolizam i iznosi 60-70% dnevnog potroška energije, a ovisan je o masi tijela, posebno nemasnog tkiva koje je metabolički aktivnije. Bazalni metabolizam i metabolizam u mirovanju u pretilih je osoba nešto veći nego u osoba standardne tjelesne težine zbog povećane mase tijela. Kada se uzme u obzir ta povećana 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 čini 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 bjelancevine, 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 dob žena koje rađaju 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 potičući promjene 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 čiji 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 čimbenik 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 čine 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 čimbenik rizika nastanka srčano-žilnih oboljenja. Prospektivna longitudinalna istraživanja provedena 80-tih i 90-tih godina prošloga stoljeća, koja debljinu prepoznaju kao važan rizični čimbenik za srčana 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 povećan 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 i veća no 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 $ITM > 27,00 \text{ kg/m}^2$ 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 rizični čimbenik za pojavu šećerne bolesti tipa 2. Rizik se povećavao s porastom ITM-a, pa su i žene prosječne tjelesne mase ($ITM = 24,00 \text{ kg/m}^2$) imale povećani rizik. U usporedbi sa ženama čija 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 Amerikance 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 objavljivani 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 učinak opsega struka na smrtnost [58]. Rezultati su pokazali da se

očekivano 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 očekivano trajanje života. Pretili osobe imaju oko 20% veći rizik umiranja od osoba kojima je ITM u granicama normalnih vrijednosti [61]. Studija o očekivanom 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 očekivano trajanje života u rasponu od 0,33 to 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 čimbenika 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 preporučljiv. Naprotiv, tjelesnu je masu potrebno postupno gubiti tijekom duljeg razdoblja. Cilj je steći 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% početne 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 učincima smanjenja prekomjerne tjelesne mase, što posljedično 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 rizičnih čimbenika i općega zdravstvenog stanja bolesnika.

Sveobuhvatna strategija liječenja u svrhu smanjenja tjelesne mase i njezina održavanja obuhvaća dijetu, tjelesnu aktivnost i promjene načina 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 energetskeg 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 energetskeg 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% energetskeg deficita. Moguće su i *ad libitum* dijeta kod kojih se ne propisuje točno smanjenje unosa kalorija, već se energetskeg 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 utječu 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 dugoročnog sprečavanja ponovnog debljanja nakon više od godinu dana preporuča se tjelesna aktivnost većeg intenziteta od 200 do 399 min/tjedan. Istraživanja koja su uspoređivala učinak 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; uvođenje samo tjelesne aktivnosti u program mršavljenja rezultiralo je malenim smanjenjem tjelesne mase te, u usporedbi s programom bez ikakve intervencije, nije činilo 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 učinkovitih ponašanja u kontroli tjelesne mase te mu je cilj usvajanje vještina koje će dovesti do zdravije tjelesne mase. Bihevioralni pristup pretilosti karakteriziraju sljedeće ključne komponente: postavljanje realnog cilja, samomotrenje i vještine rješavanja problema. Samomotrenje se provodi tako da osoba bilježi svu unesenu hranu i piće, tjelesnu aktivnost i tjelesnu masu. Bilježenje unesene hrane i pića te tjelesne aktivnosti provodi se svakodnevno, dok se samomotrenje tjelesne mase preporuča najmanje jedan put na tjedan [63]. Bihevioralnim tretmanom osoba postupno prepoznaje obrazac nezdravih navika hranjenja te ih s pomoću različitih bihevioralnih tehnika postupno zamjenjuje primjerenijima. Da bi tretman bio učinkovitiji, 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 prihvaćanju i primjerenom vrednovanju postignutog gubitka mase. Cilj bihevioralno-kognitivnog liječenja debljine je svesti porast tjelesne mase, koji obično slijedi nakon njezina gubitka, na minimum, tako da se prevladaju psihološke prepreke usvajanju učinkovitih ponašanja u kontroli tjelesne mase. Bihevioralni tretmani pretilosti u kombinaciji s niskokaloričnom dijetom obično dovode do prosječnog gubitka od 8 do 10% početne tjelesne težine, u razdoblju od 6 mjeseci od početka tretmana [68].

Farmakoterapija

Farmakoterapija je indicirana u pretilih bolesnika čiji je ITM $> 30 \text{ kg/m}^2$, ali i kod bolesnika s povećanom tjelesnom masom (ITM $> 27 \text{ kg/m}^2$) koja je praćena drugim bolestima. Farmakoterapija se propisuje i bolesnicima kod kojih nefarmakološke mjere nisu pokazale zadovoljavajuće 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 započeti odmah u bolesnika čiji je ITM $> 35 \text{ kg/m}^2$, u onih sa smanjenom pokretljivošću te u bolesnika kod kojih su prethodne nefarmakološke mjere bile neuspješne. U usporedbi s dostupnom terapijom u liječenju kroničnih bolesti poput hipertenzije i hiperlipidemije, terapijske mogućnosti u liječenju 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 kliničke 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 prehrambene 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 $\geq 10\%$ 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 dodataka prehrani, akupunkture i hipnoze [1].

Ako se sa svim dosad navedenim načinima liječenja tijekom duljeg vremenskog razdoblja ne uspije postići $ITM < 35 \text{ kg/m}^2$, potrebno je razmotriti mogućnost primjene kirurškog liječenja pretilosti [1].

Kirurško liječenje

Za bolesnike koji imaju $ITM \geq 40 \text{ kg/m}^2$ ili $\geq 35 \text{ kg/m}^2$ 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 čimbenike rizika kao što su dob, druga stanja povezana s pretilošću, rizik od kratkoročnih i dugoročnih komplikacija te psihološke i psihosocijalne čimbenike.

Postoje različiti tipovi kirurških zahvata kojima se liječi debljina, od jednostavnih kao što je laparoskopsko podvezivanje želuca podesivom želučanom vrpcom do složenih koji kombiniraju djelomično odstranjenje želuca i njegovo premošćivanje (*bypass*). Tim se postupcima mijenja anatomija gastrointestinalnoga 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%. Čimbenici 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 mučnina i povraćanje, posebno nakon brzog unosa veće količine 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

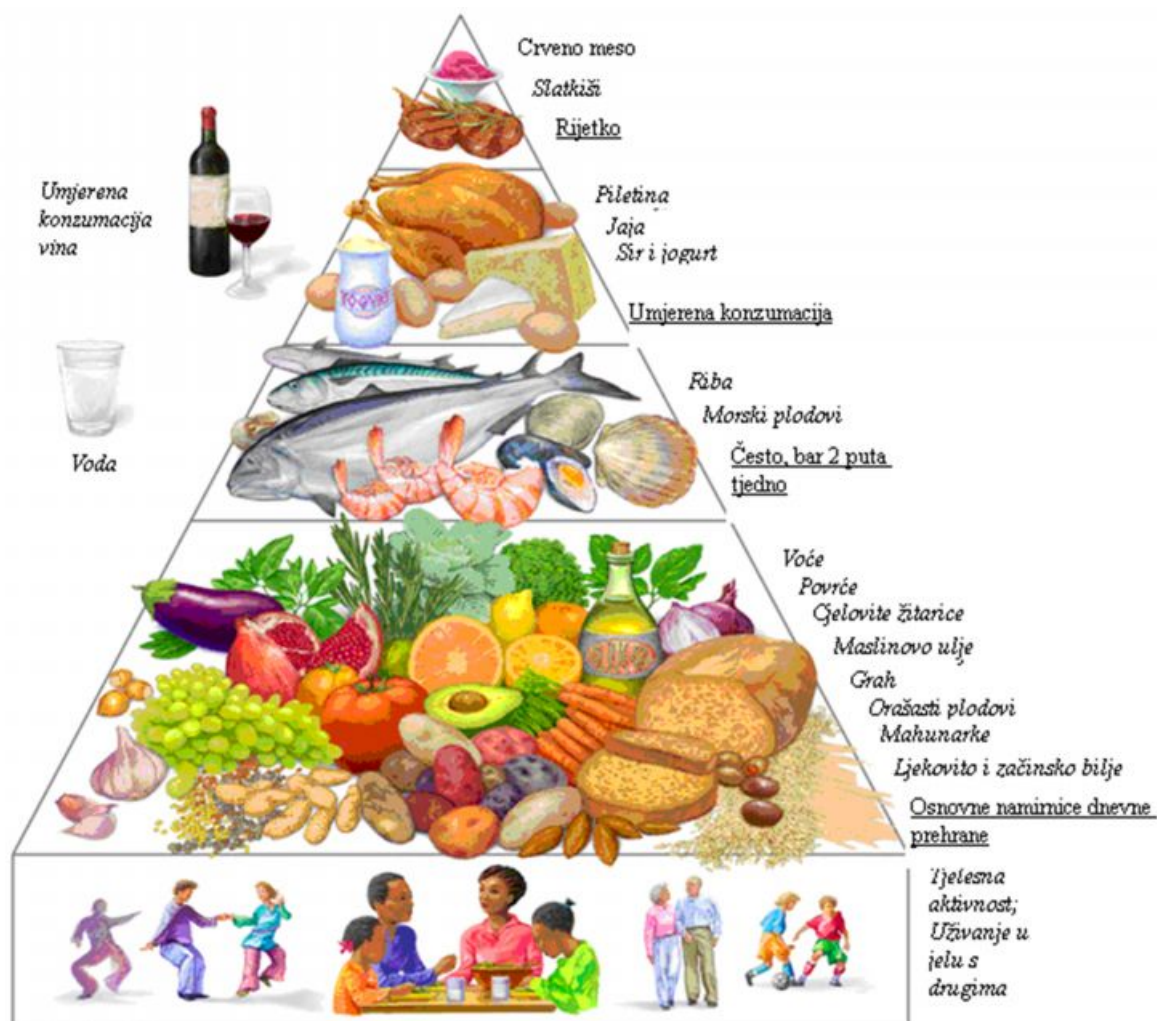
Meditersku prehranu odlikuje nutricionistički model koji se na području Sredozemlja sačuvao stoljećima. Postoje velike razlike u shvaćanju pojma mediteranske prehrane, ovisno o socijalnim, geopolitičkim i ekonomskim razlikama između zemalja koje spadaju u mediteransko područje.

Zanimanje za izučavanje mediteranske dijeta pojavilo se polovinom prošloga stoljeća 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 svojevrsan paradoks jer je među stanovnicama Sredozemlja, iako su obilno konzumirali masnoće te unatoč lošoj ili nepostojećoj medicinskoj skrbi, učestalost srčano-žilnih bolesti i smrtnosti bila manja nego kod recimo stanovnika Sjedinjenih Američkih Država koji su konzumirali iste količine masnoća [71].

Mediterska je prehrana postala općeprihvaćena i točnije definirana 1990-ih godina, a opisana je kao „model prehrane tipičan za Kretu i ostatak Grčke te južnu Italiju do ranih 1960-ih godina, koja uz redovitu tjelesnu aktivnost podrazumijeva obilne količine hrane biljnoga podrijetla, svježe voće kao dnevni desert, maslinovo ulje kao osnovni izvor masnoća, mliječne proizvode (uglavnom sir i jogurt) te malu do umjerenu konzumaciju ribe, peradi i vina, od nijednog do najviše četiri jajeta na tjedan te malu količinu crvenog mesa” [72].

Danas je sastav mediteranske prehrane vrlo precizno određen, a slikovito je prikazan piramidom (slika 3). Odlikuje se dnevnom konzumacijom cjelovitih žitarica i povrća (2-3 serviranja/dan), voća (4-6 serviranja/dan), maslinova ulja kao glavnog oblika masnoće, nemasnih ili niskomasnih mliječnih proizvoda; tjednom konzumacijom krumpira (4-5 serviranja/tjedan), ribe (4-5 serviranja/tjedan), maslina, mahunarki i orašastih plodova (> 4 serviranja/tjedan), rjeđe konzumacije piletine (1-3 serviranja/tjedan), jaja i slatkiša (1-3 serviranja/tjedan); mjesečnom konzumacijom crvenog mesa i mesnih proizvoda (4-5 serviranja/mjesec). Također je karakteristična umjerena konzumacija alkohola, pretežno vina (1-2 čaše na dan uz jelo) i visok omjer mononezasićenih i zasićenih 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 čini 25 do 35% ukupnih kalorija (nekada i do 40%) [76; 77], od čega na zasićene masnoće 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 ne 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 imunosni sustav, štite od negativnog učinka 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 različitom 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, povrće iz porodice krstašica (lat. *Brassicaceae*), kao što su primjerice kupus, kelj, brokula i cvjetača, 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 povrću daju karakterističnu 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].

Voće i povrće zastupljeno u mediteranskoj prehrani sadrži još mnoge bioaktivne tvari s antioksidativnim svojstvom, a među njima su: organosumporne tvari (alicin) koje se nalaze u češnjaku, luku i poriluku; flavonoidi (kvercetin, kemferol, katehin) u jabukama, zelenoj salati i bobičastom voću; te izoflavoni (genistein, daidzein) u mahnarkama [89].

Maslinovo ulje

Prema već rečenom, maslinovo ulje (*Olea europea*) ima iznimnu važnost u mediteranskoj prehrani, pa ne čudi što je njegov utjecaj na zdravlje uvelike istraživan. Dugo se smatralo da maslinovo ulje svoj blagotvoran učinak na zdravlje srca i krvnih žila duguje isključivo povoljnom profilu masnih kiselina koje sadrži. Ono je bogato jednostruko i višestruko nezasićenim masnim kiselinama, od kojih je najzastupljenija oleinska kiselina iz obitelji jednostruko nezasićenih masnih kiselina, kojoj se pripisuju antiaterogena svojstva. Danas dostupni dokazi međutim upućuju na važnost različitih mikronutrijenata kojima maslinovo ulje također obiluje, od kojih neki posjeduju antioksidativna svojstva [90]. Među zastupljene tvari s antioksidativnim svojstvima spadaju fenoli (najznačajniji 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 čini primjerena preporuka maslinova ulja bolesnicima u svim stadijima ateroskleroze [91]. Prisutnost fenola u maslinovu ulju vezana je za proces ekstrakcije ulja. Ekstra djevičansko maslinovo ulje dobiva se jednostavnim prešanjem i filtriranjem zdravih maslina pri čemu sadržaj blagotvornih sastojaka ostaje maksimalno

očuvan, 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 djevičanskom maslinovu ulju [92; 93]. U *in vitro* [94; 95] i životinjskim modelima [96; 97] fenoli iz maslinova ulja su, ovisno o dozi, sprečavali oksidaciju lipida. I sama oleinska kiselina ima sposobnost sprečavanja *in vitro* LDL oksidacije [98]. Antioksidativno djelovanje maslinova ulja povoljno utječe i na arterijski krvni tlak, vrijednosti lipida u krvi, poboljšava tijek šećerne bolesti tipa 2 i smanjuje rizik od tromboze [83]. Istraživanja su pokazala da je konzumacija maslinova ulja povezana sa smanjenim rizikom od srčano-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]. Najveća opservacijska studija koja je proučavala utjecaj maslinova ulja na pojavnost bolesti srca i krvnih žila, EPICOR, rađena je u Italiji na uzorku od 29.686 žena koje su praćene 7,85 godina [102]. Nađeno je bitno smanjenje rizika od srčano-žilnih bolesti među 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 između redovite konzumacije orašastih plodova i smanjenog rizika za pojavu srčano-žilnih bolesti, iako svi rezultati nisu bili statistički značajni. Nekoliko manjih randomiziranih kliničkih studija (< 50 ispitanika) koje su ispitivale dijete obogaćene orašastim plodovima, većinom bademima i orasima, dokazalo je smanjenje ukupnog kolesterola i LDL-a [106], dok učinci na HDL nisu pokazali dosljedne rezultate. Najvažniji dokazi u prilog konzumaciji orašastih plodova i njihova povoljnog učinaka na smanjenje rizika od srčano-žilnih oboljenja potječu iz studije PREDIMED [107]. Na uzorku od 7216 ispitanika s visokim rizikom za nastanak srčano-žilnih bolesti randomiziranih u jednu od tri skupine (mediteransku dijetu uz dodatak maslinova ulja, mediteransku dijetu uz dodatak orašastih plodova i kontrolnu niskomasnu dijetu), praćenih 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 moguće i antioksidativno djelovanje. Lopez-Uriarte i suradnici pokazali su da je svakodnevna konzumacija 30 g orašastih plodova tijekom 12 tjedana dovela da smanjenog oksidativnog oštećenja DNA, ali nije utjecala na oksidaciju LDL čestica, antioksidativni kapacitet plazme, konjugaciju diena i koncentraciju 8-izoprostana u urinu [108].

Orasi, bademi, lješnjaci i drugi orašasti plodovi, primjerice pinjoli, uobičajeni su dio mediteranske dijeta zbog njihove prisutnosti na tom području. Uz visok udio jednostruko nezasićenih masnih kiselina, pretežno oleinske kiseline, te višestruko nezasićenih 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 učinke u opservacijskim i kliničkim studijama. Nasuprot tome, visok udio masti u orašastim plodovima dugo je izazivao sumnju u moguće preporuke orašastih plodova pretilim bolesnicima. Ipak, istraživanja su pokazala da dijeta bogate jednostruko nezasićenim 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 nezasićene, a uključuju 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 nezasićene masne kiseline iz ribe su eikozapentaenska i dokozaheksaenska. Studije koje su ispitivale učinak 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 značajno 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 učinak na smanjenje mortaliteta od srčano žilnih bolesti [115].

U većini se mediteranskih zemlja vino konzumira umjereno, pretežito uz obrok. Istraživanja su pokazala da umjerena konzumacija vina povećava antioksidativni učinak mediteranske dijeta i smanjuje oksidativno oštećenje [116]. Istraživanje parova, provedeno u dijelu južne Hrvatske gdje je konzumacija alkohola visoko zastupljena, pokazalo je da je umjerena konzumacija alkohola bila zaštitni čimbenik za infarkt miokarda s omjerom izgleda 0.63 [117]. Vino, posebice crveno, sadrži različite fitonutrijente, među 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, naročito resveratrol kojeg, osim u crnom vinu, ima mnogo i u kožici boba grožđa (ne i u mesu), smanjuje oksidaciju LDL-čestica, a time i njihovu aterogenost, djeluje protuupalno i smanjuje agregaciju trombocita, što sve pridonosi mogućim protuaterosklerotičkim učincima. Mehanizam djelovanja resveratrola očituje se na više razina: djeluje na staničnu signalizaciju, apoptozu, ekspresiju gena i enzimske putove [83]. Velik dio zaštitnih učinaka vina pripisuje se i povišenju zaštitnog HDL-kolesterola [118; 119]. Istraživanja su također pokazala da konzumacija vina povećava udio višestruko nezasićenih masnih kiselina, omega-3 masnih kiselina te omjer omega-3/omega-6 masnih kiselina [120].

1.2.2 Dokazi o učincima mediteranske dijeta

Do danas je objavljeno mnogo dokaza velikih epidemioloških studija, randomiziranih kliničkih studija te metaanaliza o djelovanju mediteranske dijeta. Prvotno je nekoliko manjih opažajnih (opservacijskih) studija ukazalo na negativnu povezanost mediteranske dijeta s ukupnom smrtnošću u starijoj populaciji [76; 121]. Potom je veliko opservacijsko istraživanje u Grčkoj (EPIC kohortna studija), koje je uključivalo 22.000 ispitanika, pokazalo da je veći stupanj pridržavanja mediteranske dijeta povezan sa smanjenom ukupnom smrtnošću, i to posebno sa smrtnošću od srčano-žilnih bolesti. Slični su rezultati proizašli iz HALE kohortne studije koja je uključivala zdrave osobe u dobi od 70-90 godina [122] te iz dvaju velikih kohortnih istraživanja provedenih u Sjedinjenim Američkim Državama; NIH-AARP studija [123] i Nurses Health Study [124]. Dva su istraživanja parova (engl. *case-control study*) također dokazala negativnu povezanost između pridržavanja mediteranske dijeta i pojavnosti ne-fatalnih koronarnih događaja [125; 126]. Metaanaliza koja je uključila 12 kohortnih studija

s ukupno 1.574.299 ispitanika praćenih u vremenskom razdoblju od 3 do 18 godina potvrdila je rezultate pojedinačnih studija i pokazala da je veće 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 najvećih 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-tih godina prošloga stoljeća, a uspoređivala je učinak modificirane mediteranske dijeta (obogaćene α -linolenskom kiselinom, a ne maslinovim uljem) s učinkom 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 uključenih 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 obogaćen α -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 neprimijećene promjene većine klasičnih rizičnih čimbenika (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

šećerne bolesti tipa 2 ili triju od sljedećih čimbenika rizika: hipertenziju, hiperlipidemiju, pretilost, pušenje ili pozitivnu obiteljsku anamnezu za srčano-žilne bolesti. Studija PREDIMED uspoređivala je učinak mediteranske dijeta obogaćene maslinovim uljem ili orašastim plodovima s niskomasnom dijetom na rizik od značajnih srčano-žilnih događaja. Rezultati studije pokazali su da se primjenom prehrane bogate orašastim plodovima (> 3 serviranja/tjedan, 30 g) tijekom 5 godina smanjuje rizik od smrtnosti uslijed srčano-žilnih bolesti za 55% te smrtnosti od karcinoma za 45%. Također, opća smrtnost bila je smanjena za 39% u osoba na mediteranskoj dijeti obogaćenoj maslinovim uljem ili orašastim plodovima, dok je u skupini na mediteranskoj dijeti uz dodatak isključivo orašastih plodova taj rizik bio manji za čak 45% [131].

Zanimljivo je da su dokazani učinci iz studija PREDIMED i Lyon Heart usporedivi s učinkom statina. Još uvijek međutim ne možemo biti sigurni je li mediteranska prehrana dostatna alternativa za farmakoterapiju. Dostupni dokazi o djelovanju statina temelje se na četvrt milijuna ispitanika koji su sudjelovali u velikim randomiziranim studijama. Tako najnovije smjernice preporučaju ranije uvođenje statina nego dosad, pri 7,5-postotnom riziku od srčano-žilnih bolesti, za razliku od prijašnjih preporuka o njegovu uvođenju pri 10-postotnom riziku [132; 133]. Iako dosadašnja istraživanja upućuju na velike dobrobiti mediteranske prehrane, potrebno je još velikih, multicentralnih, randomiziranih studija na kojima će se moći temeljiti jasne preporuke o pridržavanju mediteranske dijeta.

Danas dostupne metaanalize opservacijskih i randomiziranih studija upućuju također na dobrobiti mediteranske prehrane u pretilih bolesnika i bolesnika s metaboličkim sindromom [134; 135]. Metaanaliza 50 epidemioloških i kliničkih studija koje su sveukupno uključile 534.906 ispitanika pokazala je bitno smanjenje rizika od metaboličkog sindroma u onih ispitanika koji su se pridržavali mediteranske dijeta [135]. Metaanaliza isključivo randomiziranih studija koje su proučavale učinak dijeta na tjelesnu masu na uzorku od 3436 ispitanika (1848 ispitanika randomiziranih u skupinu mediteranske dijeta i 1588 u kontrolnu skupinu) pokazala je da je mediteranska dijeta bila učinkovita u mršavljenju, osobito uz kalorijsku restrikciju i povećanu tjelesnu aktivnost [134].

Različiti pristupi u prilagodbi mediteranskog načina prehrane nemediteranskim populacijama istaknuti su kao moguće rješenje rastućeg problema nezaraznih kroničnih bolesti [136]. Razlog tome su rezultati studija u nemediteranskim zemljama koje potvrđuju zaštitnu ulogu mediteranske prehrane od prijevremene smrti [137-141] te smanjenu smrtnost uslijed cerebrovaskularnih bolesti [142] u različitim populacijama. Iako u Hrvatskoj, koja se dijelom smatra mediteranskom a dijelom nemediteranskom zemljom, dosada nije bilo

istraživanja čiji bi cilj bio dokazivanje djelovanja mediteranske dijeta, dostupni su podaci koji proizlaze iz subanalize drugih studija, a koji ukazuju na činjenicu da je među hrvatskim stanovništvom koje se pridržava načela mediteranske prehrane prisutna manja prevalencija pretilosti [143; 144]. Dokazi randomiziranih kliničkih studija o učinku mediteranske dijeta na hrvatsku populaciju međutim do sada nisu postojali.

Pored najbolje dokazanog utjecaja mediteranske dijeta na srčano-žilne bolesti, a potom i na zloćudne bolesti/novotvorine, njezino se povoljno djelovanje očitovalo 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 dijeta na oksidativni stres

Kao što je već rečeno, dostupni dokazi velikih randomiziranih studija te dokazi epidemioloških studija i njihovih sustavnih pregleda ukazali su na povoljno djelovanje mediteranske dijeta u srčano-žilnih bolesnika, bolesnika sa zloćudnim tumorima, Alzheimerovom i Parkinsonovom bolešću, kao i u pretilih te bolesnika s metaboličkim sindromom. Patofiziologija nabrojanih bolesti i stanja povezuje se između ostaloga s oksidativnim stresom, pa se i protektivno djelovanje mediteranske dijeta pri navedenim bolestima može povezati s njezinim antioksidativnim učinkom. U prilog tome idu i namirnice zastupljene u mediteranskoj dijeti za koje je dokazano da imaju antioksidativno djelovanje. Ipak, mehanizam djelovanja mediteranske dijeta nije tako jednostavno razlučiv pa, bez obzira na važna istraživanja, još uvijek postoje dvojbe. Naime, za djelovanje mediteranske dijeta odgovorno je nekoliko različitih mehanizama, od protuupalnog i antitrombotskog do antioksidativnog, te se do danas nije ustanovilo koliki je doprinos pojedinog djelovanja. Pri dokazivanju antioksidativnog djelovanja dijeta, koje je od posebne važnosti za ovaj rad, postoji nekoliko problema. Kao prvo, za određivanje oksidativnog stresa u organizmu ne postoje standardizirani parametri ili rutinske metode kojima bi se odredio oksidativni stres i antioksidativni potencijal [146]. Rezultate različitih istraživanja koja su koristila različite parametre stoga je teško interpretirati i izravno uspoređivati. Nadalje, mjerenje antioksidativnog učinka same dijeta i razlučivanje čimbenika koji doprinose izmjerenom antioksidativnom učinku vrlo je složeno zbog postojanja više varijabli, primjerice različitih nutrijenata i njihova međudjelovanja, učinka tjelesne aktivnosti, stila života i mnogih vanjskih čimbenika 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, kraćih studija (trajanja < 6 mjeseci) upućuju na pozitivan učinak 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 artritismom, 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]. Učinak mediteranske dijeta na GSH-Px nije se razlikovao od učinka niskomasne kontrolne dijeta [157].

Tablica 4. Epidemiološke i kliničke studije koje su istraživale učinak 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-hidroksideoksiganozin, OS - oksidativni stres, 8-izo-PGF_{2 α} - prostaglandin F_{2 α} , GSH-Px- glutation peroksidaza, TM - tjelesna masa, TAC - ukupni antioksidativni kapacitet, MDA - malondialdehid, 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 ističu 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 prehrambenih 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 poveća 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 proizišli su specifični ciljevi istraživanja:

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

(engl. *total antioxidative capacity*, TAC) u tri vremenske točke tijekom razdoblja praćenja od godinu dana (na početku, nakon jednog i dvanaest mjeseci).

2. Sekundarni ciljevi ovog rada su bili sljedeći:

- a. potvrditi učinkovitost mediteranske dijeta u redukciji tjelesne mase praćenjem 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 dijeta na kliničke (arterijski tlak) i biokemijske (glukoza u plazmi (GUP), LDL-kolesterol, trigliceridi, HDL-kolesterol, ukupni kolesterol, C reaktivni protein (CRP), urati) rizične čimbenike u pretilih osoba;
- d. procijeniti razinu tjelesne aktivnosti tijekom razdoblja praćenja 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 specifični ciljevi ovoga doktorskog rada, provedena je randomizirana studija u trajanju od 12 mjeseci tijekom kojih su bolesnici praćeni u više unaprijed određenih vremenskih točki. Osim učinka dijeta, iznimno je važno bilo sagledati učinak svih dostupnih čimbenika koji su mogli utjecati na razinu oksidativnog stresa. S obzirom na proučavanje 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 liječenju pretilosti.

3. MATERIJALI I METODE

3.1 MATERIJALI

3.1.1 Instrumenti

Priprema uzoraka za analize ili pohranu:

- o R Rotina Hettich centrifuga, Tuttlingen, Njemačka

Određivanje TEAC-a:

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

Određivanje oxLDL-a:

- o čitač mikrotitrarskih pločica Multiscan Ascent, Thermo Electron Corporation, Vantaa, Finska

Određivanje OLAB-a:

- o čitač mikrotitrarskih pločica Victor³ 1420 (Perkin Elmer, Waltham, SAD)

Određivanje biokemijskih parametara:

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

Određivanje arterijskog tlaka:

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

3.1.2 Reagensi

Određivanje 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) $\geq 0,2$ kU/L (3,3 μ kat/L)

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

Određivanje HDL-kolesterola

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

Određivanje LDL-kolesterola

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

Određivanje triglicerida

- o reagensi proizvođača Beckman-Coulter, Tokio, Japan
 - o PIPES pufer (pH 6,3) 50 mmol/L
 - o lipaza (Pseudomonas) $\geq 1,5$ kU/L (25 μ kat/L)

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

Određivanje hemoglobina A1C (HbA1c)

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

Određivanje glukoze:

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

Određivanje CRP-a

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

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

Određivanje urata

- o reagensi proizvođača Beckman-Coulter, Tokio, Japan
 - o fosfatni pufer (pH 7,5) 42 mmol/L
 - o peroksidaza $\geq 5,9$ kU/L
 - o MADB 0,15 mmol/L
 - o 4-aminofenazon 0,30 mmol/L
 - o EDTA 0,44 mmol/L
 - o 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 učinka mediteranske prehrane s učinkom standardne hipolipemičke dijeta 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 ≥ 30 kg/m² koji su bili upućeni 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 petodnevnog dolaska u dnevnu bolnicu i odlučili slijediti naputke o promjeni životnih navika.

Podobnost za sudjelovanje u studiji bila je određena sljedećim kriterijima:

Uključujući kriteriji

- o dob između 20 i 69 godina
- o $ITM \geq 30 \text{ kg/m}^2$
- 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 zadovoljavajući arterijski tlak ($< 160/100 \text{ mmHg}$)
- o pristanak na provođenje protokola istraživanja i potpisan Informirani pristanak.

Isključujući 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 upućeni u detalje protokola studije te su na uvid dobili Informirani pristanak (u prilogu).

Protokol studije odobrilo je Etičko povjerenstvo KB Dubrava i Etičko povjerenstvo Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

3.2.3 Opis i tijek istraživanja

Bolesnicima koji su odlučili sudjelovati u istraživanju te su potpisali informirani pristanak nasumično je dodijeljena mediteranska ili standardna hipolipemička dijeta. Jednostavna randomizacija provedena je bacanjem novčića (pismo/glava).

Svi uključeni bolesnici prisustvovali su petodnevnom programu Dnevne bolnice za liječenje pretilosti, a potom su praćeni tijekom 12-mjesečnog razdoblja na pet unaprijed određenih kontrolnih pregleda; nakon 7 dana, te nakon 1, 3, 6 i 12 mjeseci.

Cilj Dnevne bolnice za liječenje 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 stručnjaka uključen u rad Dnevne bolnice činili su: medicinska sestra, klinički dijetetičar, liječnik specijalist endokrinologije, klinički farmaceut i fizioterapeut. Edukacija je bila zajednička za obje skupine ispitanika, bez obzira na dodijeljenu dijetu. Tijekom edukacije bolesnici su bili upoznati sa spoznajama iz područja nutricionizma važnim za uspješno mršavljenje te su podučeni 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 spriječiti emocionalno jedenje. Sastavljanje jelovnika se temeljilo na konceptu jedinica preuzetom iz dijabetičke dijete (prilog 3). Ispitanici su vježbali sastavljanje jelovnika prema spomenutom konceptu jedinica kako bi bili spremni za nadolazeće razdoblje izvan Dnevne bolnice. Edukacija je bila popraćena vizualnim pomagalicama da bi bolesnici shvatili koju količinu hrane trebaju konzumirati. Svaki su dan bolesnicima u Dnevnoj bolnici posluženi doručak, voćni međuobrok i ručak, što je predstavljalo i edukacijsku mjeru jer su bolesnici mogli vidjeti količinu i vrstu hrane predviđene za konzumaciju toga dana. Klinički su dijetetičari sastavili precizan jelovnik koji je uključivao

količinu sastojaka izraženih u gramima i detaljne upute za pripremu večere te potpuni jelovnik za iduća dva tjedna.

Preporučeni energetske unos za ispitanike na mediteranskoj dijeti (MD) bio je prosječno 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 količini 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 početku istraživanja dobili litru maslinova ulja te su upućeni da konzumiraju 3-4 serviranja ribe i šaku orašastih plodova na tjedan te dvije jušne žlice maslinovog ulja na dan.

Standardna hipolipemička dijeta (SHD) temeljila se na redukcijskoj dijeti uz preporuke za liječenje hiperlipidemije [160]. Energetski unos bio je ograničen na prosječno 1287 kcal na dan, s ciljem da 25-30% kalorija dolazi od masti, od toga < 7% od zasićenih 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 uobičajene prehrane prije uključivanja u studiju. Crveno meso su trebali zamijeniti bijelim mesom. Proteini su činili 20% dnevne energije u obje dijetete. Obje dijetete su bile bogate cjelovitim žitaricama, voćem i povrćem. U tablici 5 prikazan je dnevni prosjek energetske vrijednosti unesene hrane i količine dnevnog unosa pojedinih hranjivih sastojaka za obje dijetete, analiziran pomoću dijetetskog računalnog 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
Bjelančevine, g/dan	69,17	66,3
Masti, g/dan	75,64	42,96
Zasićene masne kiseline, g/dan	14,22	8,66
Jednostruko nezasićene masne kiseline, g/dan	43,17	15,16
Višestruko nezasićene masne kiseline, g/dan	15,86	12,97
Kolesterol, mg/dan	133,29	129,04

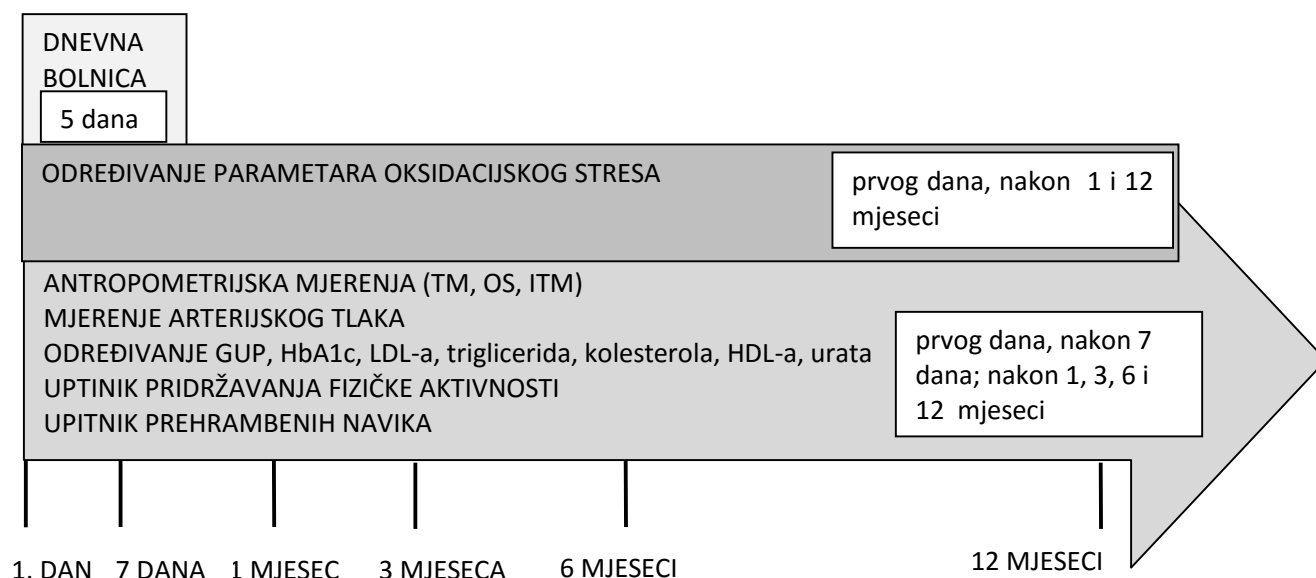
MD - mediteranska dijeta; SHD - standardna hipolipemička dijeta

Osim prehrane, tijekom boravka u Dnevnoj bolnici obrađene su i teme tjelesne aktivnosti i pretilosti kao bolesti. Svim je bolesnicima preporučeno da povećaju tjelesnu aktivnost uvođenjem dnevne šetnje u trajanju od najmanje 30 minuta, što je bilo predviđeno i tijekom boravka u Dnevnoj bolnici. Budući da je većina bolesnika imala poteškoće s koštano-mišićnim 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 će postići maksimalnu pokretljivost. Bolesnici su savjetovani da s pokazanim vježbama nastave i kod kuće. Bolesnici su prošli i edukaciju o pretilosti kao bolesti radi boljeg razumijevanja pretilosti s naglaskom na moguće posljedice neliječenog stanja.

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

Detaljna obrada prehrambenog upitnika nije dio ove doktorske disertacije, stoga nije prikazana, osim podataka o ključnim preporučenim namirnicama (maslinovo ulje, orašasti plodovi, riba, voće, povrće, 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 bosi, uz točnost od 100 g. Visina je prilikom prvog dolaska mjerena Harpenderovim stadiometrom, uz točnost od 0,5 cm. Bolesnici su bili bosi, u uspravnom položaju, leđa priljubljenih uza zid, pogleda uperena pred sebe. Opseg struka mjerio se standardnom trakom za mjerenje, uz točnost 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

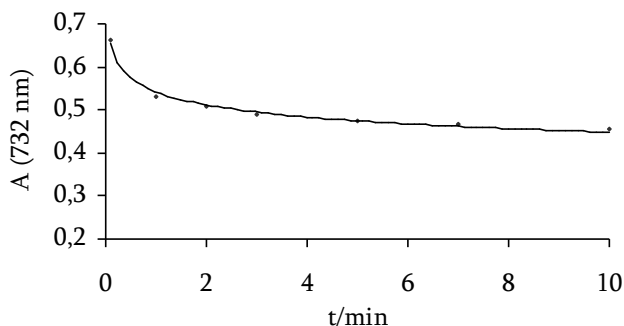
Venska se krv ispitanicima vadila natašte, u sjedećem položaju, venepunkcijom iz desne kubitalne vene uz primjenu epruveta s podtlakom za vađenje krvi. Uzorci krvi iz kojih je odijeljen serum za biokemijske pretrage uzimali su se u standardizirane epruvete s podtlakom: serum (bez antikoagulansa; crveni čep) sa (žuti čep) ili bez (crveni čep) 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 čep) bez polistirenske smole za odjeljivanje seruma od stanica. Sukladno Standardima dobre stručne prakse centrifugiranje uzoraka venske krvi provodilo se najmanje 30 minuta nakon uzimanja, 15 minuta na $1789 \times g$ u 35 R Rotina Hettich centrifugi (Tuttlingen, Njemačka). Nakon centrifugiranja serumu su odijeljeni u Eppendorf spremnike (1,5 ml) i pohranjeni u ledenicu na -80°C za naknadnu analizu parametara oksidativnog stresa. Rutinske biokemijske pretrage učinjene 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 mjeren 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. Apsorpcijski spektar $\text{ABTS}^{\cdot+}$ karakterizira glavni apsorpcijski maksimum na 415 nm te sekundarni apsorpcijski maksimumi na 660, 734 i 820 nm. Prema originalnoj metodi, $\text{ABTS}^{\cdot+}$ 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 istraživnog uzorka. Originalna metoda prilagođena je istraživanom tipu uzoraka 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 uvijete inkubacije reakcijske smjese. Naime, zbog jednostavnosti postupka originalna jednominutna inkubacija na 30°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:

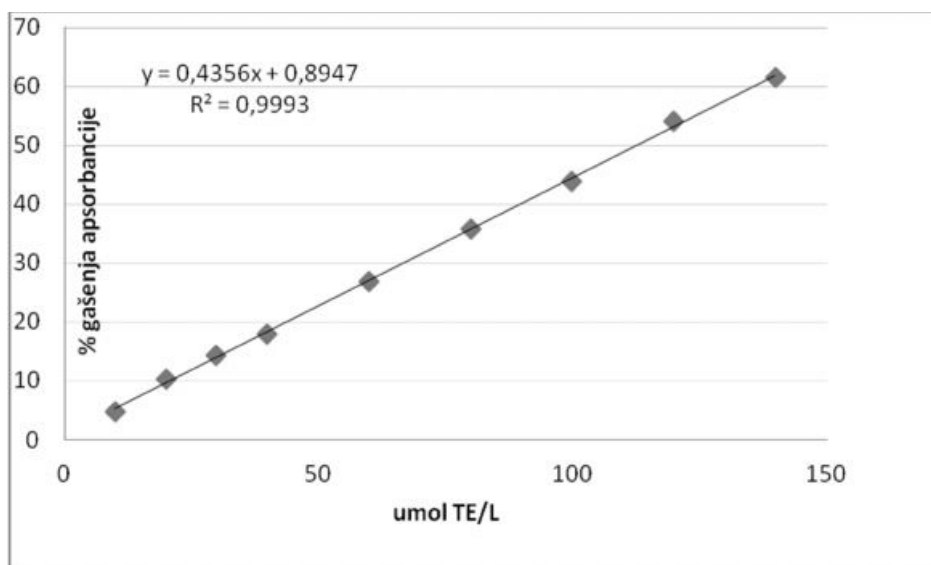
Otopine ABTS-a i kalijevog persulfata pomiješane su u jednakim omjerima. Pri tome se momentalno počeo stvarati ABTS radikal, što se očitivalo nastankom zeleno-plavog obojenja. Otopina je držana 12 sati u mraku do nastanka konačnog intenziteta boje. Nakon 12 sati otopinu smo razrijedili tako da njena 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 razrjeđivanjem 10 puta dobivena je otopina stock 2 (2,5 mL stock 1 razrijeđeno 96% etanolom na 25 mL). Zatim su izrađene radne otopine ponovnim razrjeđivanjem 96% etanolom sljedećih 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 različitih koncentracija radne otopine Troloxa) te je izračunom postotka gašenja apsorbancije za određenu koncentraciju radne otopine izrađen baždarni dijagram. Postupak mjerenja

apsorbancije i izračunavanja postotka gašenja apsorbancije 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 razrijeđenog seruma i 2,5 mL otopine ABTS radikala.

Potom je izmjerena apsorbancija reakcijske smjese na 734 nm s pomoću UV/VIS spektrofotometra (UV 4-100, ATI UNicam, Cambridge, Velika Britanija). Svako mjerenje je rađeno u triplicatu, te je u daljnjim izračunima korištena srednja vrijednost triju mjerenja. Postotak smanjenja apsorbancije odgovara postotku obezbojenja otopine te je izračunat pomoću sljedeće formule:

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

gdje je A_0 apsorbancija reakcijske smjese u vremenu $T = 0$ sekundi, a A_3 je apsorbancija reakcijske smjese u vremenu $t = 3$ minute. S obzirom da je apsorbanciju reakcijske smjese nakon nula sekundi praktički nemoguće 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:

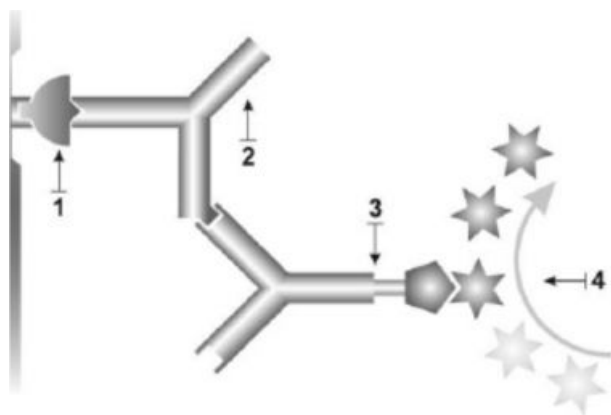
$$\mu\text{mol TE/L} = (\% \text{ smanjenja apsorbancije} - 0,8947) \times \text{razrjeđenje} / 0,4356$$

3.2.8 Određivanje oksidiranog LDL-a

OxLDL je određivan iz seruma ispitanika s pomoću „sendvič“ enzimskog imunotest (ELISA) komercijalnog kita 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 očitovalo 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 mikrotitarskih pločica Multiscan Ascent (Thermo Electron Corporation, Vantaa, Finska). S pomoću izmjerenih apsorbancija standardnih otopina razrjeđenja 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 „sendvič“ 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 antigen na protutijelo, a intenzitet boje nastalog produkta enzimske reakcije izravno je proporcionalan koncentraciji protutijela u uzorku. Koncentracija prisutnih protutijela na oxLDL kvantitativno je određena mjerenjem apsorbancije na 450 nm na čitaču 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 koristeći reagense 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 kolester-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 određen je na Olympus AU2700 plus analizatoru koristeći reagense 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 određen je na Olympus AU2700 plus analizatoru koristeći 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-metilanilinom (TOOS) te se stvara kinonska boja koja se mjeri spektrofotometrijski.

Trigliceridi su određeni kolorenzimskom metodom na Olympus AU2700 plus analizatoru koristeći reagense 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 koristeći reagense istog proizvođača (Beckman-Coulter, Tokyo, Japan). Metoda se temelji na fosforilaciji glukoze uz pomoć heksokinaze u prisustvu adenzin trifosfata (ATP) i iona magnezija pri čemu nastaju glukoza-6-fosfat i adenzin difosfat (ADP). Glukoza-6-fosfat dehidrogenaza specifično oksidira glukozu-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 česticama. Kako je prisutno samo jedno specifično vezno mjesto na HbA1c molekuli, nakon vezanja antitijela za njega ne dolazi do aglutinacije. Naknadno se dodaje aglutinirajući reagens tj. sintetski polimer koji u sebi sadrži višestruke kopije imunoreaktivnog HbA1c koji se veže za slobodna mjesta na lateks česticama. U uzorku bez HbA1c aglutinirajući reagens se veže za sva slobodna mjesta na lateks česticama, a nastala aglutinacija se mjeri na turbidimetru. Ako je u uzorku prisutan HbA1c on će se vezati za antitijela na lateks česticama (nema aglutinacije), što dovodi do smanjenja broja slobodnih mjesta na lateks česticama za vezanje aglutinirajućeg reagensa. To će se odraziti smanjenjem apsorbancije koja je proporcionalna koncentraciji HbA1c. Udio HbA1c predstavlja odnos glikoziliranog i ukupnog hemoglobina: $\text{HbA1c (\%)} = \text{HbA1c (g/L)} / \text{ukupni Hb (g/L)} \times 100$.

Ispitivanje koncentracije **CRP**-a provedeno je s pomoću imuniturbidimetrije na Olympus AU 2700 plus analizatoru koristeći 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 čestice suspendirane u otopini koje su nastale stvaranjem kompleksa antigen-antitijelo.

Urati su određivani iz seruma UV spektrofotometrijski na Olympus AU 2700 plus analizatoru koristeći 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-

dimetilanilina, 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 Međunarodnog 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 Turčinova 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 učestalost 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 $3,5 \text{ ml/kg} \times \text{min}$. 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. Izračunavanje 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 čimbenika, 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 činio je ponovljeno mjerenje (početna

vrijednost, nakon 7 dana, 1, 3, 6 i 12 mjeseci), a dodijeljena dijeta (MD vs SHD) činila je među-subjektni čimbenik (engl. *between-subject factor*). Učinak interakcije vremena i intervencije testiran je uz pretpostavku da je ispunjen uvjet sferičnosti. Ukoliko pretpostavka sferičnosti nije bila potvrđena Mauchly-evim testom, rađena je korekcija za broj stupnjeva slobode za F-raspodjelu, za što je primijenjena Greenhouse-Geisserova (u slučaju $\epsilon < 0,75$) ili Huynh-Feldtova (u slučaju $\epsilon > 0,75$) prilagodba.

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

Korišten je model multiple regresije u svrhu određivanja prediktivnih varijabli za pokazatelje oksidativnog stresa i uspješnosti u mršavljenju, te model binarne logističke regresije za određivanje varijabli koje doprinose ostanku ispitanika u programu mršavljenja.

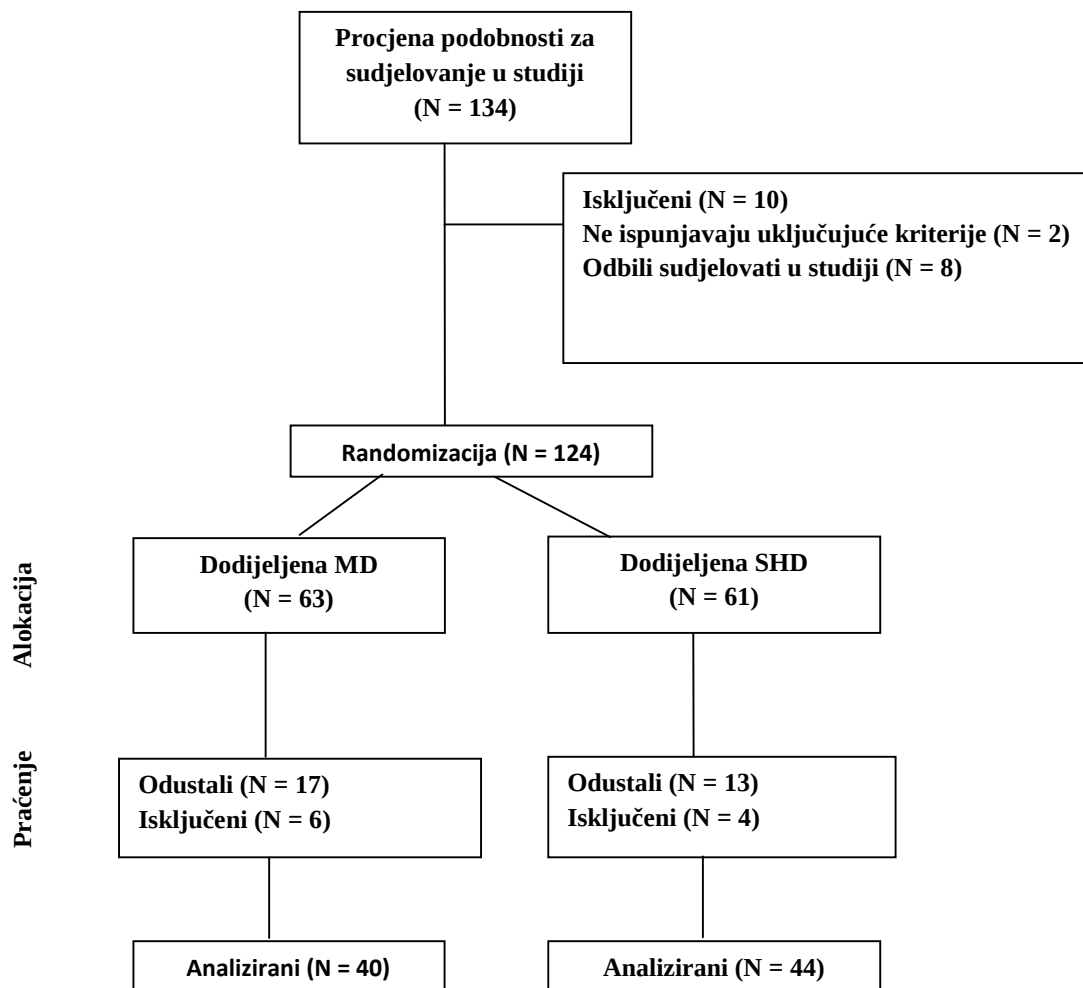
Provedena je analiza po realiziranom protokolu (engl. *per protocol analysis*) gdje su u obradu bili uključeni svi bolesnici koji su ispunili istraživački protokol te čiji su rezultati bili dostupni. Kako bi se izbjegle predrasude, aproksimacija konačnih rezultata koji nedostaju nije rađena te su podaci koji nedostaju automatski isključeni statističkom obradom. Rezultati dobiveni statističkom obradom prikazani su grafički i numerički (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 statistički značajnim 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 nedostatna dob (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 tijeka 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 tijeka studije

Na početku studije bolesnicima su određena sociodemografska, antropometrijska i klinička obilježja, učinjene 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 uključenih 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 određenih P vrijednosti, vidljivo je da niti 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
Bračni 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 ispitivanom 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 nađena statistički značajna razlika u početnim vrijednostima između ispitivanih skupina.

Tablica 7. Antropometrijski pokazatelji ispitanika na početku studije

POKAZATELJ	MD N = 63	SHD N = 61	P*
ITM (kg/m ²)	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 između dviju skupina određene su Studentovim-t testom

Pri uključivanju ispitanika u studiju određeni su i biokemijski pokazatelji koji su činili sekundarne ishode studije. Prema referentnim vrijednostima Kliničkog zavoda za laboratorijsku dijagnostiku KB Dubrava, prosječne vrijednosti biokemijskih pokazatelja su većinom bile u preporučenom intervalu (GUP-NT, HbA1c, HDL-kolesterol, urati) ili blago povišene (LDL-kolesterol, trigliceridi, ukupni kolesterol i CRP). Tablica 8 prikazuje biokemijske pokazatelje na početku studije za skupine bolesnika na MD i SHD. Između uspoređivanih skupina nije bilo statistički značajne razlike.

Tablica 8. Biokemijski pokazatelji ispitanika na početku 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- sistolički arterijski tlak; DAT- dijastolički arterijski tlak

Rezultati izraženi kao srednja vrijednost ± SD

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

Tijekom uzimanja anamneze od uključenih 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 niti jednu skupinu lijekova nije ustanovljena statistički značajna razlika između ispitivanih skupina, što je vidljivo u tablici 9.

Tablica 9. Terapija lijekovima uključenih 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 (aksiolitici, 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 mjeran za sve randomizirane bolesnike ($N = 124$), dok su početni 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 antioksidacijaski 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

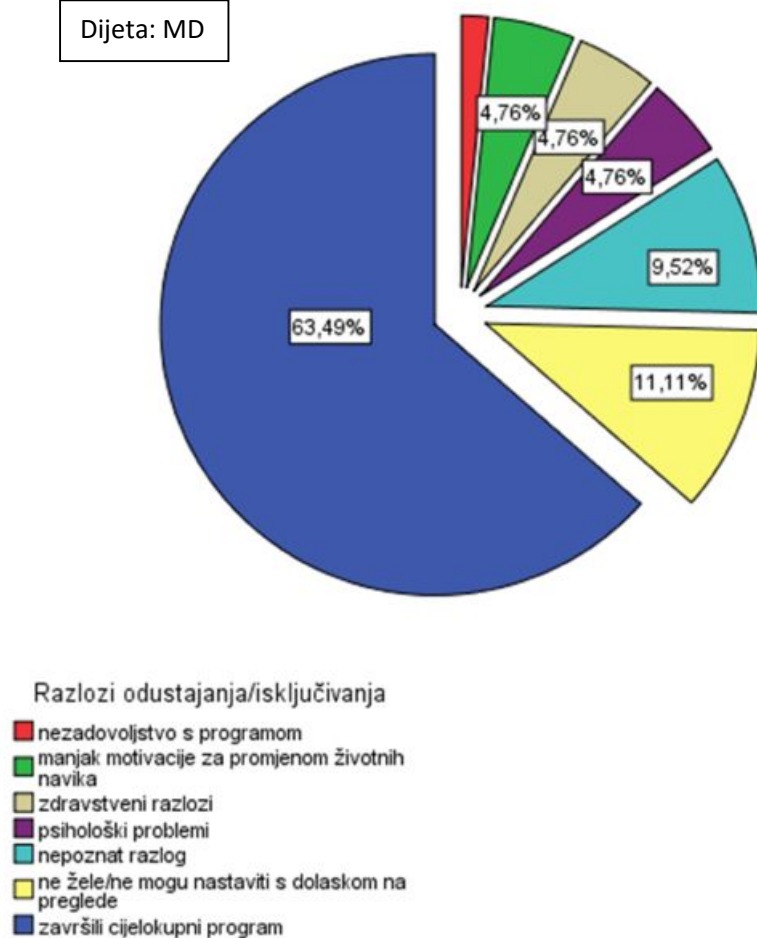
Program u trajanju od dvanaest mjeseci završilo je sveukupno 84 (67,7%) ispitanika. Najveći broj ispitanika, njih 20 (16,1%), odustalo je ili su bili isključeni u drugoj polovici programa, u razdoblju između šest i dvanaest mjeseci. Samo je dvoje (1,6%) bolesnika odustalo tijekom prvog mjeseca, njih 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

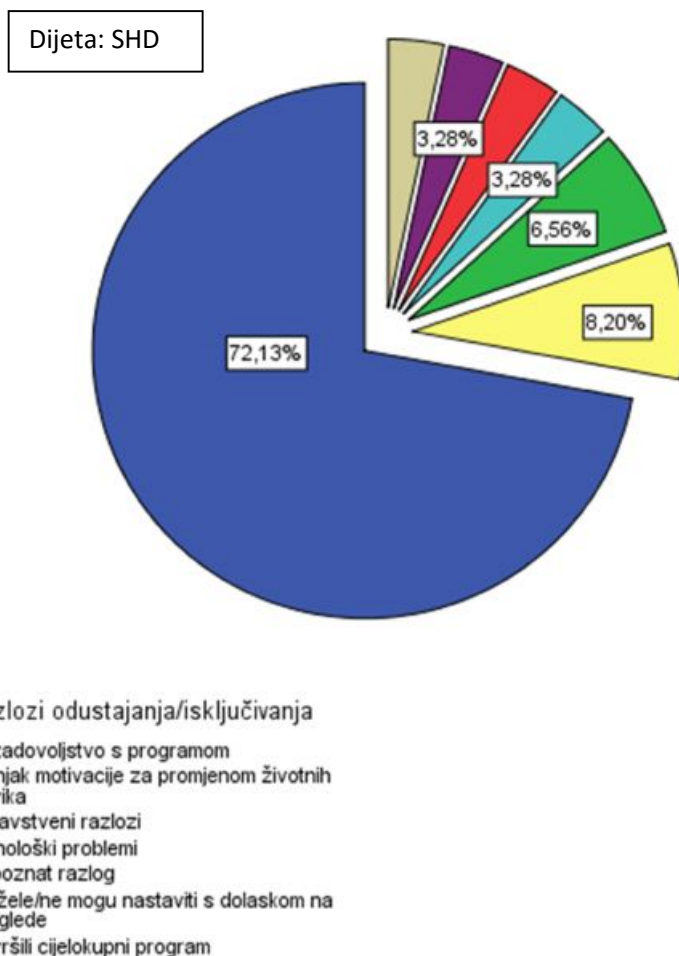
Dodijeljena skupina	Period izlaska iz studije	N (%)
MD	Tijekom prvog mjeseca	1 (1,6)
	Između 1. i 3. mjeseca	7 (11,1)
	Između 3. i 6. mjeseca	5 (7,9)
	Između 6. i 12. mjeseca	10 (15,9)
SHD	Tijekom prvog mjeseca	1 (1,6)
	Između 1. i 3. mjeseca	4 (6,6)
	Između 3. i 6. mjeseca	2 (3,3)
	Između 6. i 12. mjeseca	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 mogućnosti kontaktirati bolesnike. Slike 10 i 11 prikazuju udio bolesnika koji su završili program te razloge odustajanja ili isključivanja onih koji su izišli iz studije zasebno za svaku dodijeljenu dijetu.

Dijeta: MD



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



Slika 11. Udio bolesnika iz SHD skupine koji su završili program te razlozi odustajanja ili isključivanja 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

značajnosti koeficijenta, od prediktora su statistički značajni 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 veće izgleda za ostanak u programu od onih s nižim stupnjem obrazovanja. Omjer izgleda za početnu tjelesnu masu ($OR = 0,974$) ukazuje na to da što je viša početna masa to je manji izgled da će osoba završiti program mršavljenja. Nakon što su uzeti u obzir drugi čimbenici uključeni u model, izgled pojedinca da završi program smanjuje se 0,974 puta sa svakim kilogramom više što osoba teži.

Tablica 13. Razlike među ispitanicima koji su odustali i koji su završili program mršavljenja u sociodemografskim i kliničkim 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 (sveučilišni stupanj) N (%)	34 (41,0)	8 (21,1)	0,040**
Radni status (zaposleni) N (%)	34 (41,0)	19 (51,0)	0,267**
Bračni status (u braku) N (%)	51 (62,2)	31 (77,5)	0,091**
Broj djece	1,63±1,18	2,05±1,51	0,099*
KLINIČKA OBILJEŽJA			
Godine kada je započela pretilost < 20 godina N (%)	26 (31,7)	12 (30,0)	0,848**
Pretilost u roditelja N (%)	53 (66,7)	26 (68,4)	0,815**
Metabolički sindrom N (%)	58 (69)	26 (65)	0,652**
Broj propisanih lijekova	3,17±2,69	2,55±3,09	0,257*
Bolesti štitnjače 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 hipolipemička dijeta

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**.

Tablica 14. Rezultati logističke 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 (sveučilišni 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 određenih namirnica tijekom istraživanja dobili smo od ispitanika pomoću prehrambenog upitnika. Količina unesenih namirnica karakterističnih za mediteransku prehranu (maslinovo ulje, orašasti plodovi i riba), čija je konzumacija bila preporučena 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 početne vrijednosti, ispitanici u obje skupine su značajno 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 zaslađenih pića (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 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 dijetе na antioksidativni potencijal

S obzirom na primarne ciljeve ovoga rada, promatran je učinak prehrane na TAC nakon jednog i dvanaest mjeseci te je uspoređivan među dvjema dodijeljenim dijetama. Nakon prvih mjesec dana, uočeno je da su obje dijetе 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 dijetе ipak je došlo do statistički značajne razlike u utjecaju na TAC između dviju intervencija. Tako je nakon

dvanaestomjesečne intervencije, uočeno 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 dijeta na TAC vrijednosti bila je statistička značajna između proučavanih skupina ($\chi^2 = 8,286$; $df = 1$; $P = 0,004$).

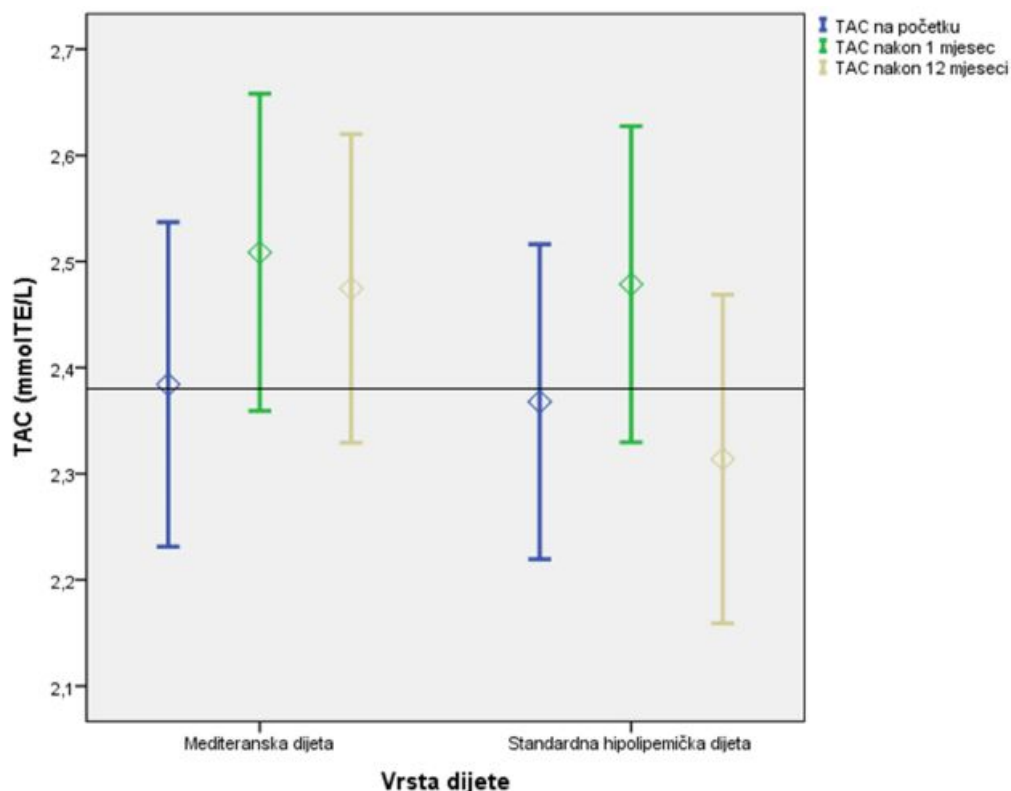
Da bismo bolje istražili učinak dviju dijeta na vrijednosti TAC-a u serumu, dodatno smo testirali razliku TAC vrijednosti između skupina na MD i SHD tijekom vremena. U tu svrhu korištena je ANOVA s ponovljenim mjerenjima, a rezultati su prikazani u tablici 16. Dokazan je statistički značajan učinak tijekom vremena ($F = 13,483$; $df = 1,697$; $P < 0,001$) s parcijalnim $\eta^2 = 0,141$, što upućuje na velik učinak. Učinak interakcije vremena i dijeta također je bio statistički značajan ($F = 5,350$; $df = 1,697$; $P = 0,009$), sa srednjom veličinom učinka ($\eta^2 = 0,061$), dok učinak same dijeta nije pokazao statističku značajnost ($F = 0,463$; $df = 1$; $P = 0,499$). Razlog tome je vrlo sličan učinak 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 učinka 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±	2.47±	<0,001	0,009	0,499
SHD (n = 44)	2,37± 0,49	0,47*	0.45*			
		2,48±	2.31± 0.51			
		0,49*				

Rezultati izraženi kao srednja vrijednost ± SD

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



Slika 12. Usporedba učinka MD i SHD na TAC tijekom dvanaestomjesečne intervencije (okomiti rasponi na grafovima predstavljaju 95%-tne intervale pouzdanosti oko prosječne 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 statistički značajna ($\chi^2 = 1,56$; $df = 1$; $P = 0,211$). Postotak smanjenja koncentracije oxLDL-a u odnosu na početnu vrijednost bio je nešto veći u ispitanika na MD ($-4,90 \pm 68,38\%$ u MD skupini vs $-1,46 \pm 46,16\%$ u SHD skupini), ali bez statističke značajnosti ($t = -0,273$; $df = 82$; $P = 0,785$).

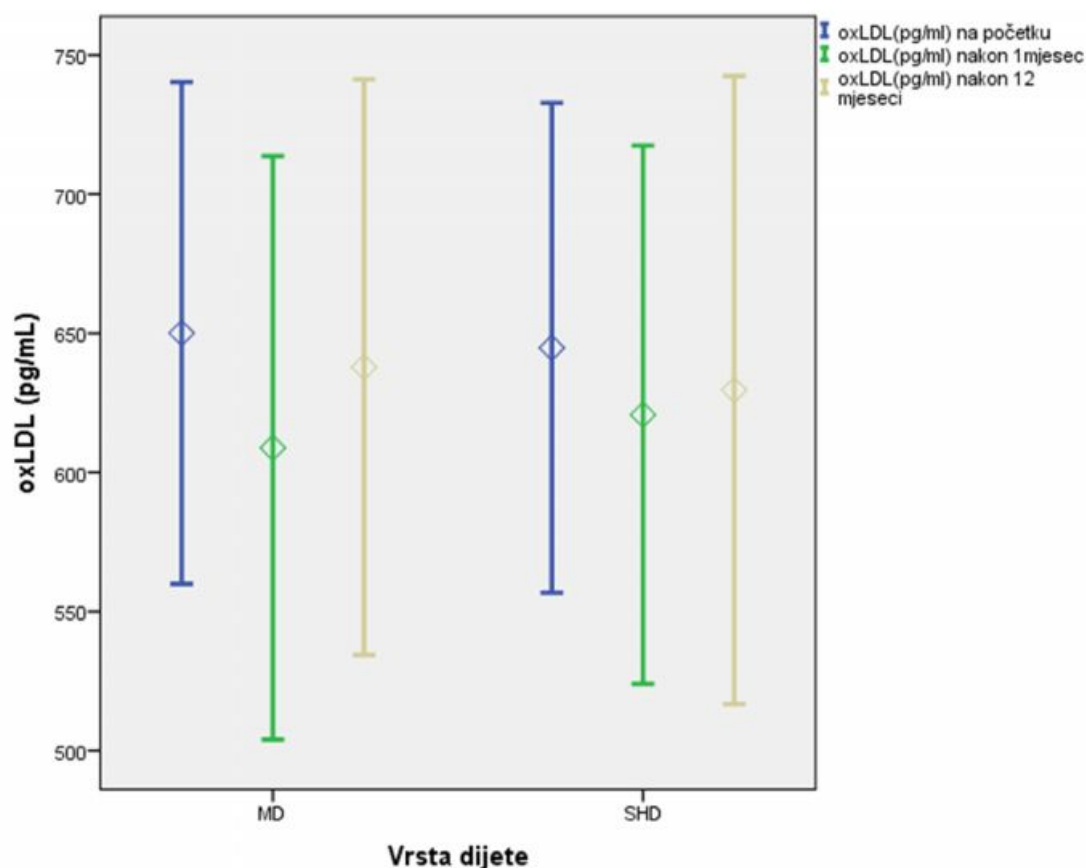
Nakon 12-mjesečne intervencije, smanjenje vrijednosti oxLDL-a zabilježeno je u 45 (53,6%) ispitanika, od čega je 22 (26,2%) ispitanika bilo na MD i 23 (27,4%) na SHD. Tako je došlo gotovo do izjednačavanja u broju ispitanika sa smanjenom koncentracijom oxLDL nakon 12 mjeseci, te ponovo nije bilo statistički značajne razlike među skupinama ($\chi^2 = 0,063$; $df = 1$; P

= 0,802). Kao što je vidljivo na slici 13 i u tablici 17, prosječne vrijednosti oxLDL-a su nakon pada tijekom prvih mjesec dana ponovno porasle u razdoblju između prvog i dvanaestog mjeseca, i to u obje proučavane skupine, ali učinak vremena, dijete ili njihove interakcije nisu bili statistički značajni.

Tablica 17. Koncentracije oxLDL-a u serumu u MD i SHD skupini na početku, 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 učinaka MD i SHD na koncentraciju oxLDL-a u plazmi tijekom dvanaestomjesečne intervencije (okomiti rasponi na grafovima predstavljaju 95%-tne intervale pouzdanosti oko prosječne vrijednosti)

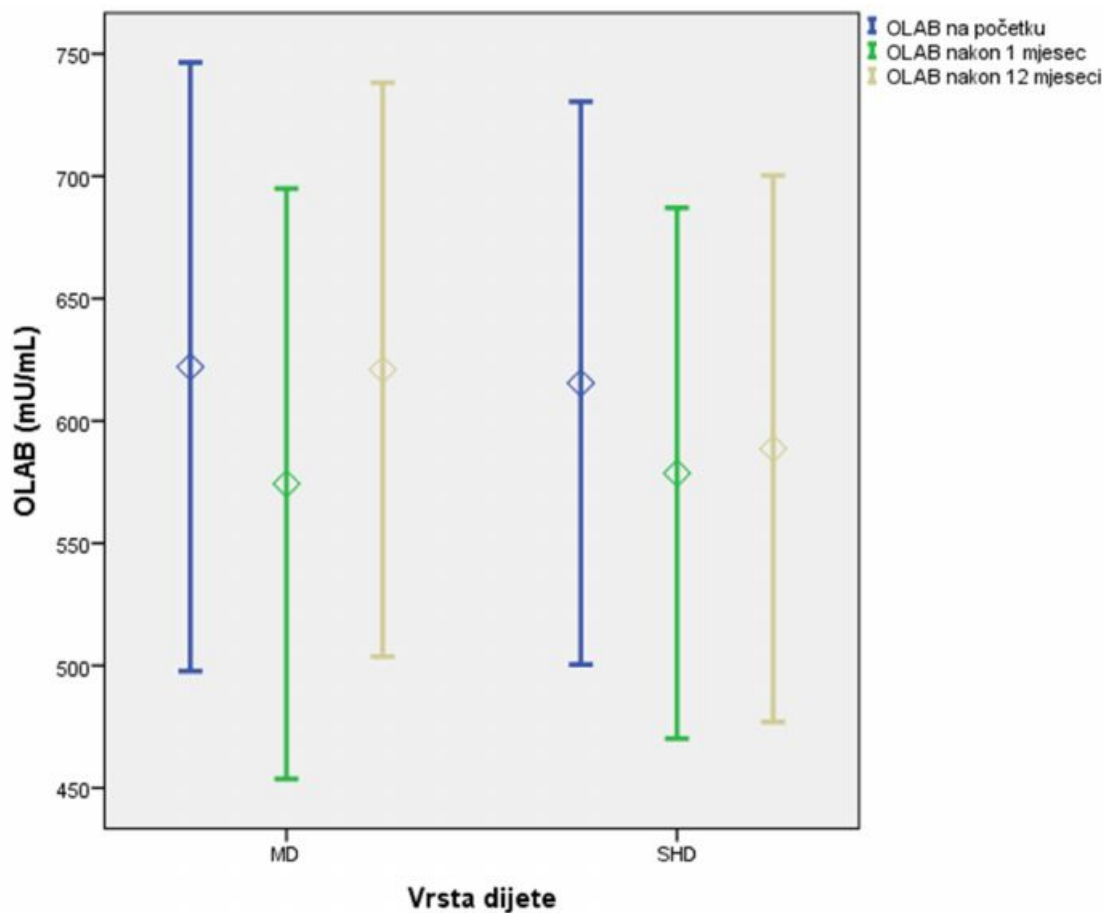
4.4.3 Učinak mediteranske dijeta na antitijela na oksidirani LDL

Smanjenje koncentracije OLAB-a tijekom prvog mjeseca intervencije pratilo je uočeno 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 činilo značajnu razliku između ispitivanih skupina ($\chi^2 = 0,119$; $df = 1$; $P = 0,730$). U razdoblju između prvog i dvanaestog mjeseca broj osoba s reduciranom vrijednosti OLAB-a smanjio se na 41 bolesnika (48,8%), od čega je njih 18 (21,4%) bilo na MD, a 23 (27,4%) na SHD, što opet nije činilo statistički značajnu razliku između MD i SHD skupine ($\chi^2 = 0,444$; $df = 1$; $P = 0,505$). Tablica 18 i slika 14 prikazuju kretanje prosječnih koncentracija OLAB-a tijekom studije za obje intervencijske skupine. Kao što je vidljivo, prosječne vrijednosti OLAB-a su pale nakon prvog mjeseca u obje skupine. Tijekom sljedećeg razdoblja, vrijednost OLAB-a u bolesnika na MD je porasla i vratila se na početnu vrijednost, dok je u bolesnika na SHD primijećen puno blaži porast. Niti jedan od proučavanih učinaka nije pokazao statistički značajnu razliku, kako između skupina tako niti tijekom razdoblja praćenja.

Tablica 18. Koncentracije OLAB-a u serumu u MD i SHD skupini na početku, 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 učinaka MD i SHD na koncentraciju OLAB-a u plazmi tijekom dvanaestomjesečne intervencije (okomiti rasponi na grafovima predstavljaju 95%-tne intervale pouzdanosti oko prosječne vrijednosti)

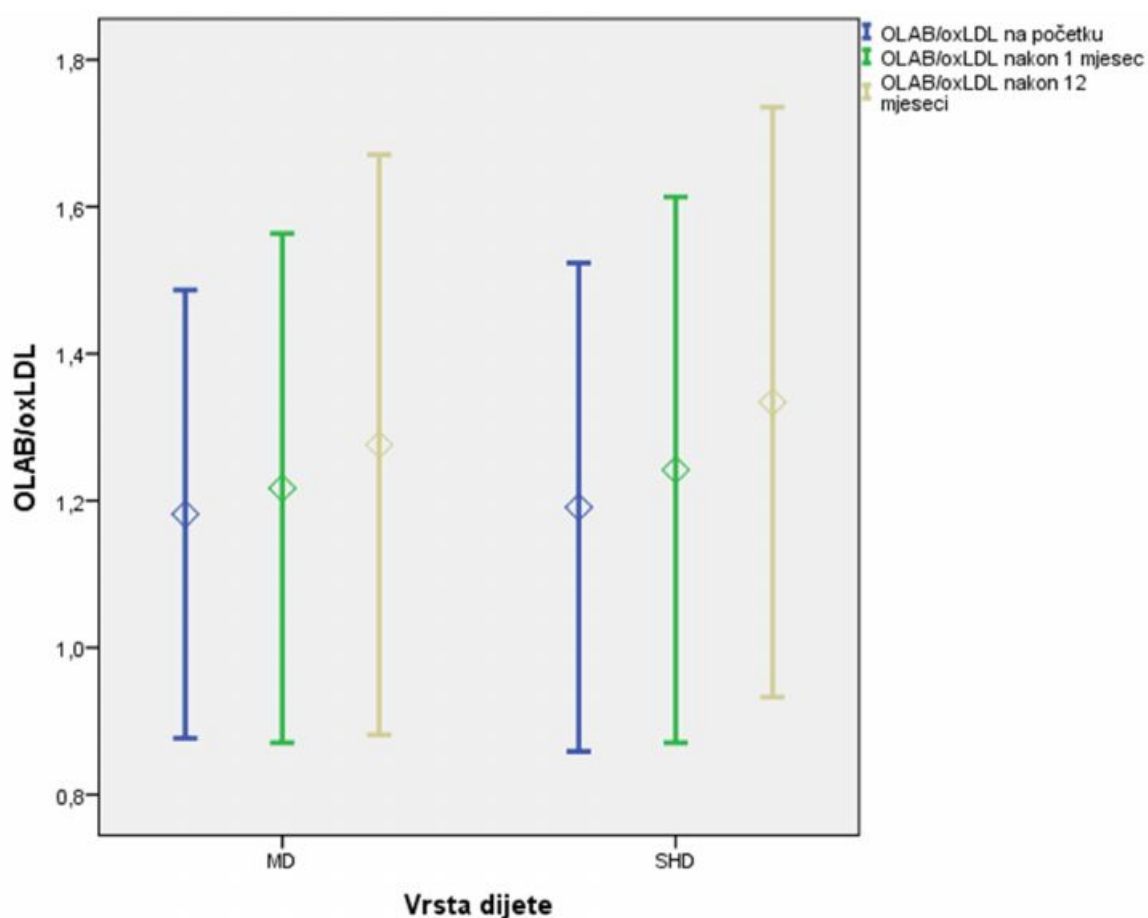
4.4.4 Učinak mediteranske dijete na omjer OLAB-a i oxLDL-a

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 čitavog razdoblja praćenja (slika 15 i tablica 19). Porast je bio nešto veći u bolesnika na SHD, iako promjena nije bila statistički značajna među 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 učinaka MD i SHD na omjer OLAB-a i oxLDL-a tijekom dvanaestomjesečne intervencije (okomiti rasponi na grafovima predstavljaju 95%-tne intervale pouzdanosti oko prosječne vrijednosti)

4.5 UČINAK MEDITERANSKE DIJETE NA OSTALE PARAMETRE – SEKUNDARNI CILJEVI ISTRAŽIVANJA

4.5.1 Učinak mediteranske dijetе na antropometrijske pokazatelje

Uspješnost ispitivanih pretilih bolesnika u mršavljenju praćena je mjerenjem antropometrijskih pokazatelja; tjelesne mase i opsega struka te izračunavanjem indeksa tjelesne mase. Kao što je vidljivo na prikazanim grafovima (slike 16-18), bolesnici iz obiju skupina uspješno su smršavili tijekom prva 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 dijetе definirana je smanjenjem $\geq 5\%$ 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 činilo 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); učinak vremena je bio velik (za tjelesnu masu $\eta^2 = 0,413$; za ITM $\eta^2 = 0,426$; za opseg struka $\eta^2 = 0,440$) uz snagu testa $> 0,8$. Nasuprot tome, učinak dijetе nije bio statistički značajan, a učinak interakcije između vremena i dijetе je bio na granici statističke značajnosti za tjelesnu masu ($P = 0,051$), a statistički značajan 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 učinka interakcije dijetе i vremena. Navedeni rezultati prikazani su grafički na slikama 16-18.

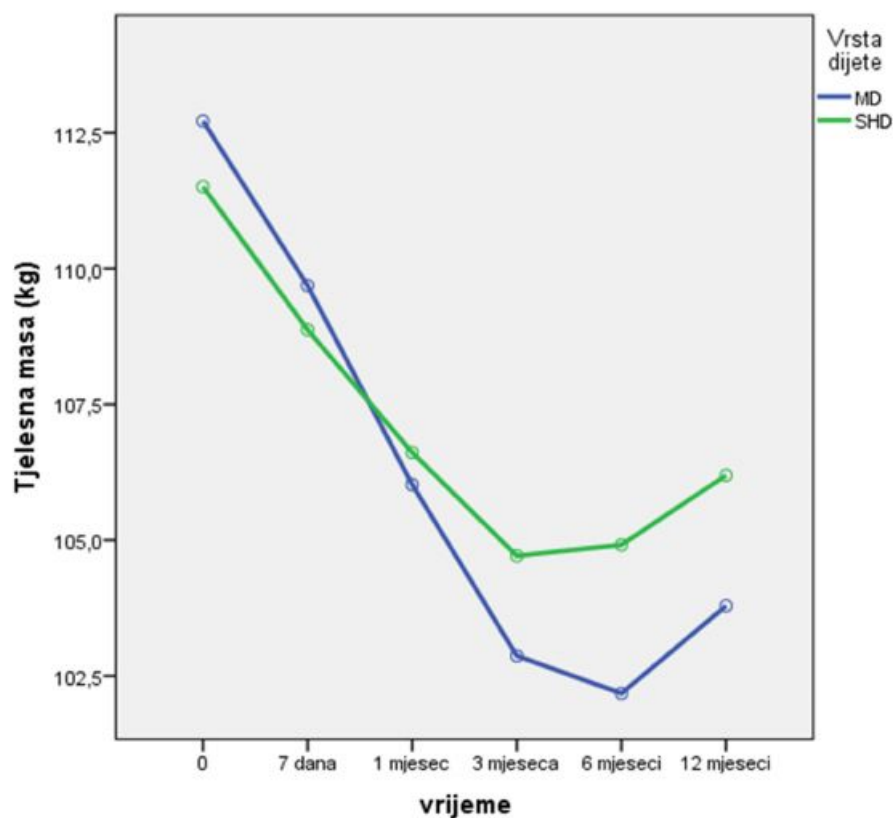
Tablica 20. Vrijednosti antropometrijskih pokazatelja u MD i SHD skupini, na početku, nakon 1 i 12 mjeseci

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*			

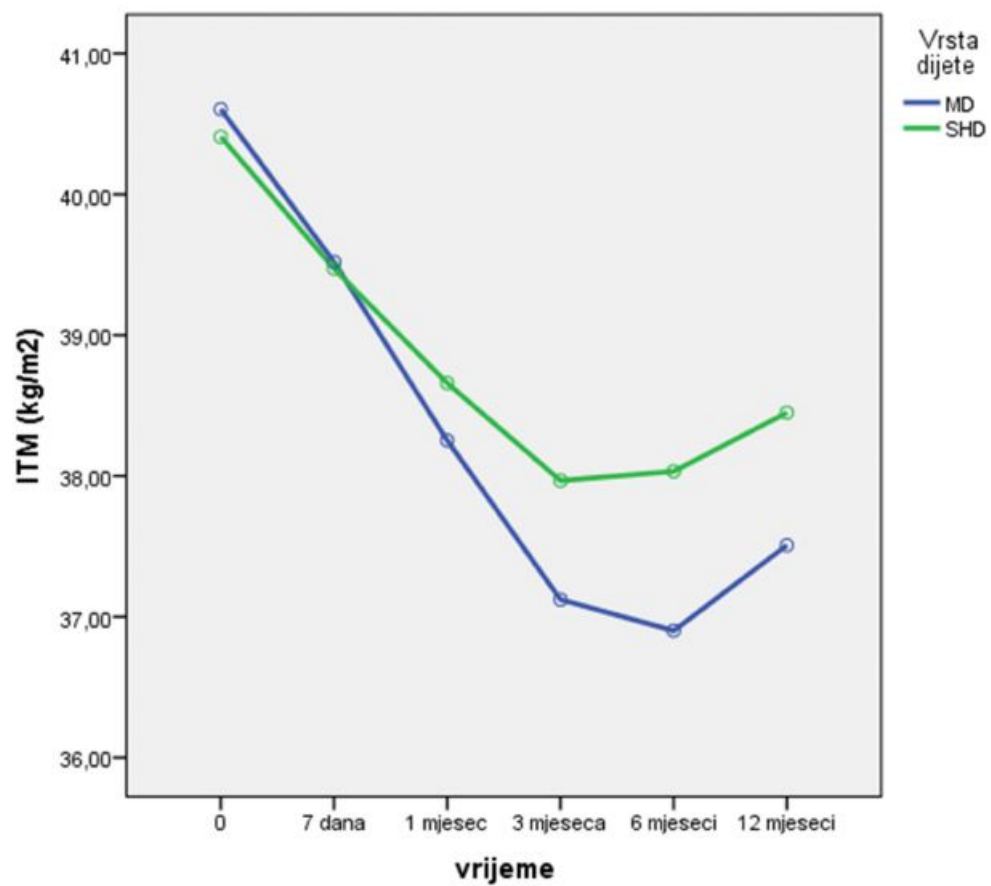
TM - tjelesna masa; ITM- indeks tjelesne mase; OS- opseg struka

Rezultati izraženi kao srednja vrijednost ± SD

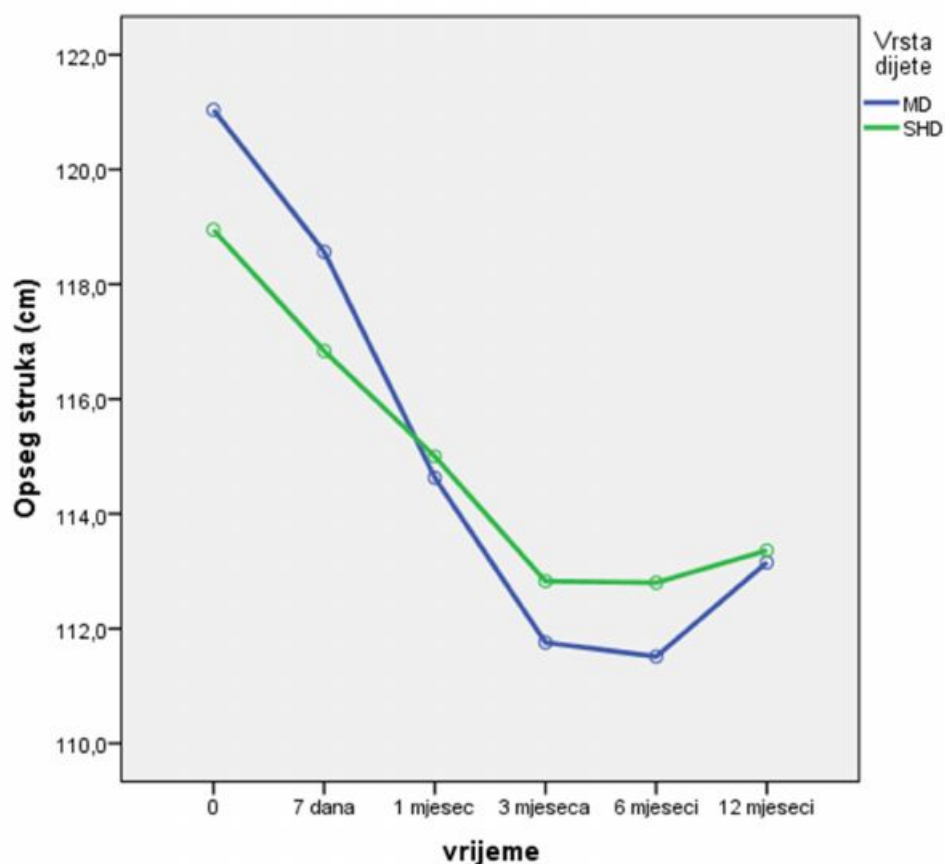
*Označava značajnu promjenu u odnosu na početnu vrijednost, određeno parnim t-testom (P < 0,05)



Slika 16. Usporedba učinaka MD i SHD na tjelesnu masu tijekom dvanaestomjesečne intervencije



Slika 17. Usporedba učinaka MD i SHD na ITM tijekom dvanaestomjesečne intervencije



Slika 18. Usporedba učinaka MD i SHD na opseg struka tijekom dvanaestomjesečne intervencije

Modelom multiple regresije pokušalo se pomoću prikupljenih sociodemografskih i kliničkih čimbenika te dodijeljene dijete predvidjeti uspješnost bolesnika u mršavljenju. Uspješnost je bila definirana kao postotak smanjenja tjelesne mase nakon dvanaestomjesečnog trajanja intervencije i činila je zavisnu varijablu pri izradi modela. S obzirom na broj opažanja (mjerenja) koji je nakon dvanaestomjesečnog praćenja iznosio 84, bilo je moguće razmatrati modele s najviše 6 prediktorskih varijabli [167; 168]. Kao kriterij za odabir prediktorskih varijabli uzeta je statistički značajna korelacija između određivanih varijabli i postotka smanjenja tjelesne mase. Kao što je vidljivo iz tablice 21, statistički značajna korelacija nađena je s vrstom dijete, bračnim stanjem i početnim smanjenjem tjelesne mase (postotkom smanjenja nakon prvog mjeseca). Model multiple regresije pokazao se statistički značajnim ($F = 20,139$; $df = 3$; $P < 0,001$; $R = 0,663$; $R^2 = 0,440$). Početna tjelesna masa je bila najbolji prediktor uspješnosti u mršavljenju ($P < 0,001$), dok je bračno 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 dijete, sociodemografskim i kliničkim čimbenicima

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 dijete (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 dvanaestomjesečne intervencije primijećene 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. Učinak vremena za sve praćene pokazatelje lipidnog profila (ukupni kolesterol, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol i trigliceride) bio je statistički značajan (tablica 23). Učinak dijete ili interakcije vremena i dijete nije međutim pokazao statističku značajnost, osim u slučaju HDL-kolesterola. Kod koncentracije HDL-kolesterola primijećena je granična statistička značajnost za učinak 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 čitavog razdoblja praćenja.

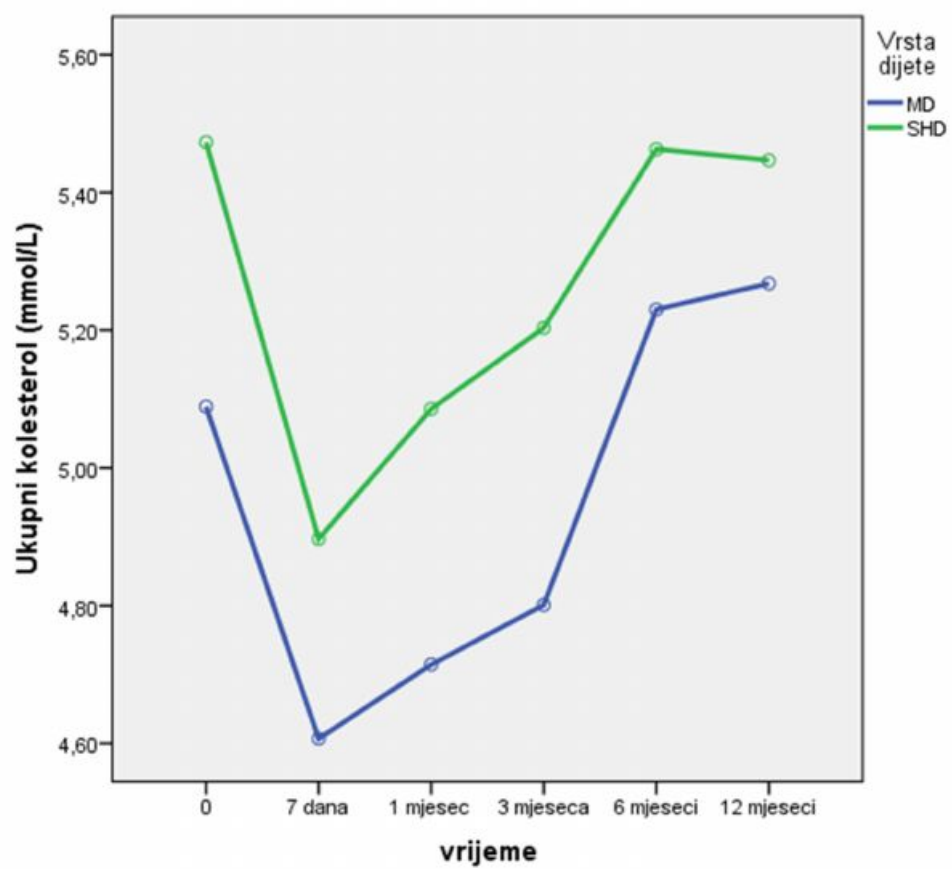
Tablica 23. Vrijednosti biokemijskih pokazatelja u MD i SHD skupini, na početku, nakon 1 i 12 mjeseci

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 ± ,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 ± ,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			

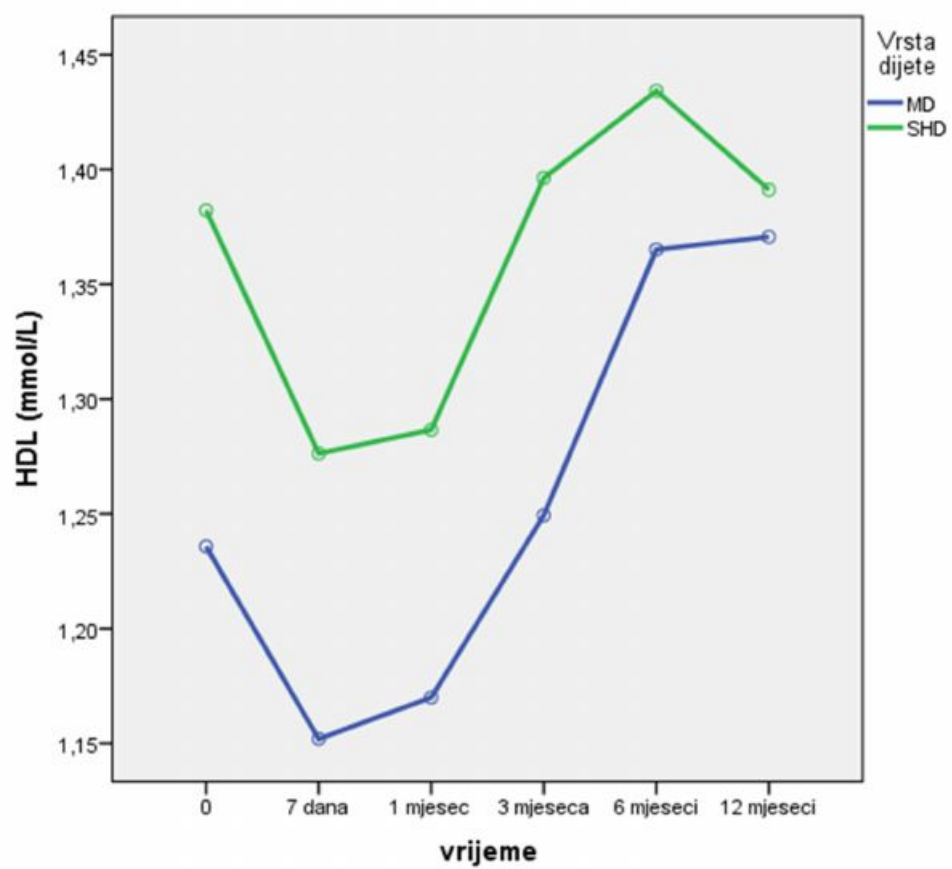
UK- ukupni kolesterol; HDL- lipoproteini velike gustoće; LDL- lipoproteini male gustoće; TG- trigliceridi; GUP-NT- glukoza u plazmi na tašte; HbA1c- hemoglobin A1c; CRP- C-reaktivni protein

Rezultati izraženi kao srednja vrijednost ± SD

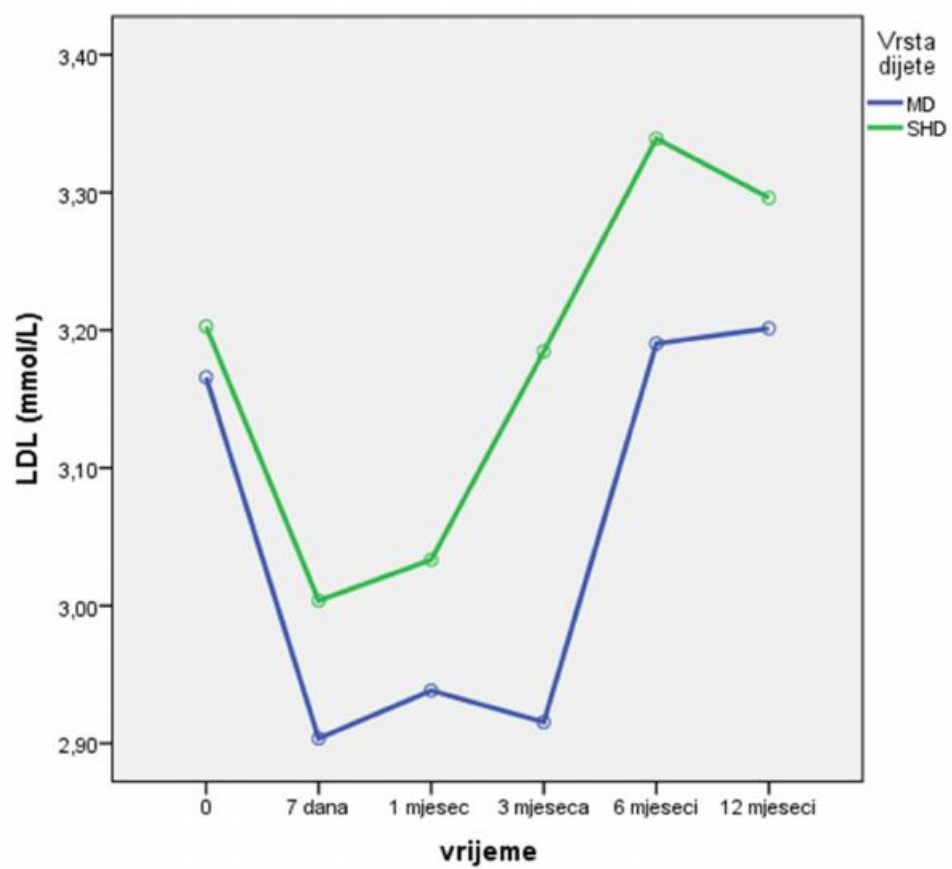
*Označava značajnu promjenu u odnosu na početnu vrijednost, određeno parnim t-testom (P < 0,05)



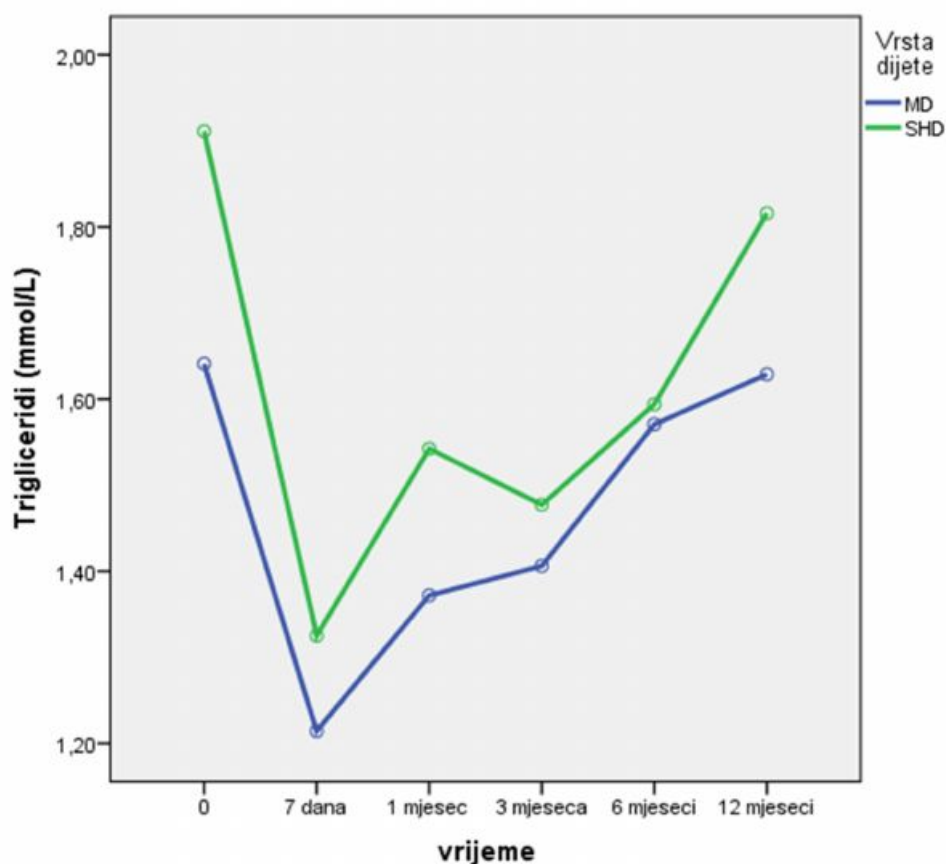
Slika 19. Usporedba učinaka MD i SHD na koncentraciju ukupnog kolesterola tijekom dvanaestomjesečne intervencije



Slika 20. Usporedba učinaka MD i SHD na koncentraciju HDL-kolesterola tijekom dvanaestomjesečne intervencije



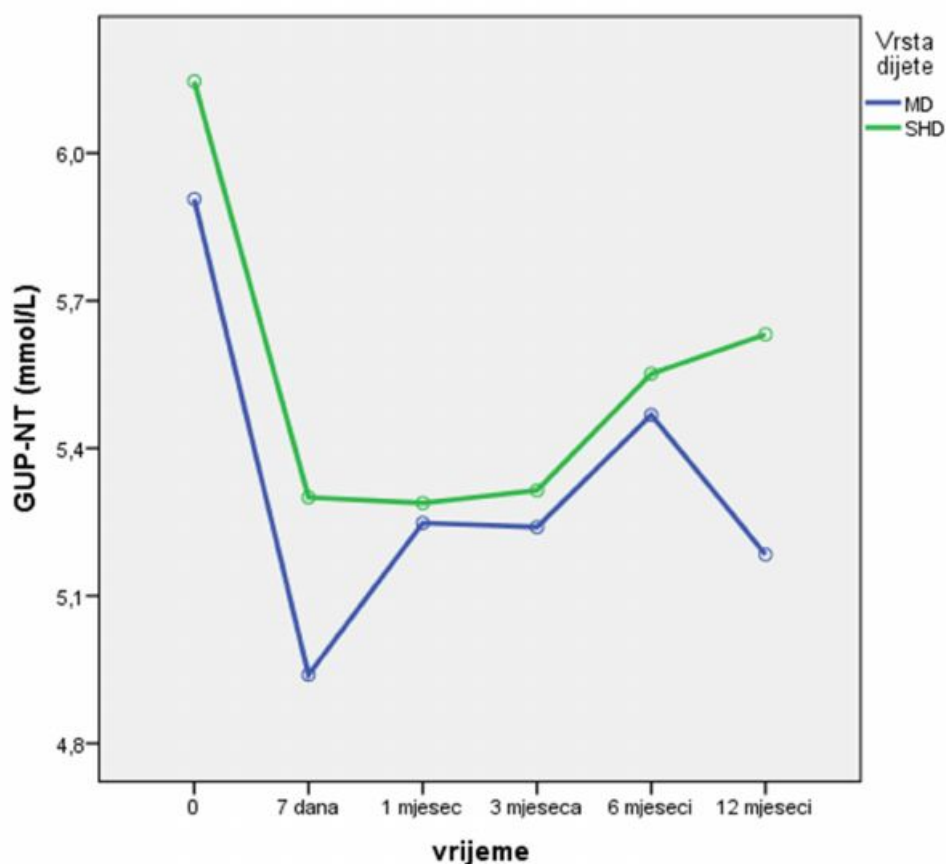
Slika 21. Usporedba učinaka MD i SHD na koncentraciju LDL-kolesterola tijekom dvanaestomjesečne intervencije



Slika 22. Usporedba učinaka MD i SHD na koncentraciju triglicerida tijekom dvanaestomjesečne intervencije

Učinak vremena na promjene koncentracije glukoze u plazmi tijekom dvanaest mjeseci također je bio statistički značajan (tablica 23). Osim toga, statistički značajan učinak na promjenu koncentracija glukoze u plazmi imala je i vrsta dijete. Slika 23 potvrđuje upravo to da je različito djelovanje dviju dijeta vidljivo u razdoblju između šestog i dvanaestog mjeseca, kada se koncentracija glukoze u plazmi naglo smanjila u skupini MD, a blago porasla u skupini SHD.

No, statistički značajne promjene u koncentraciji HbA1C nisu primijećene, kao ni promjene u koncentraciji CRP-a i urata (tablica 23).

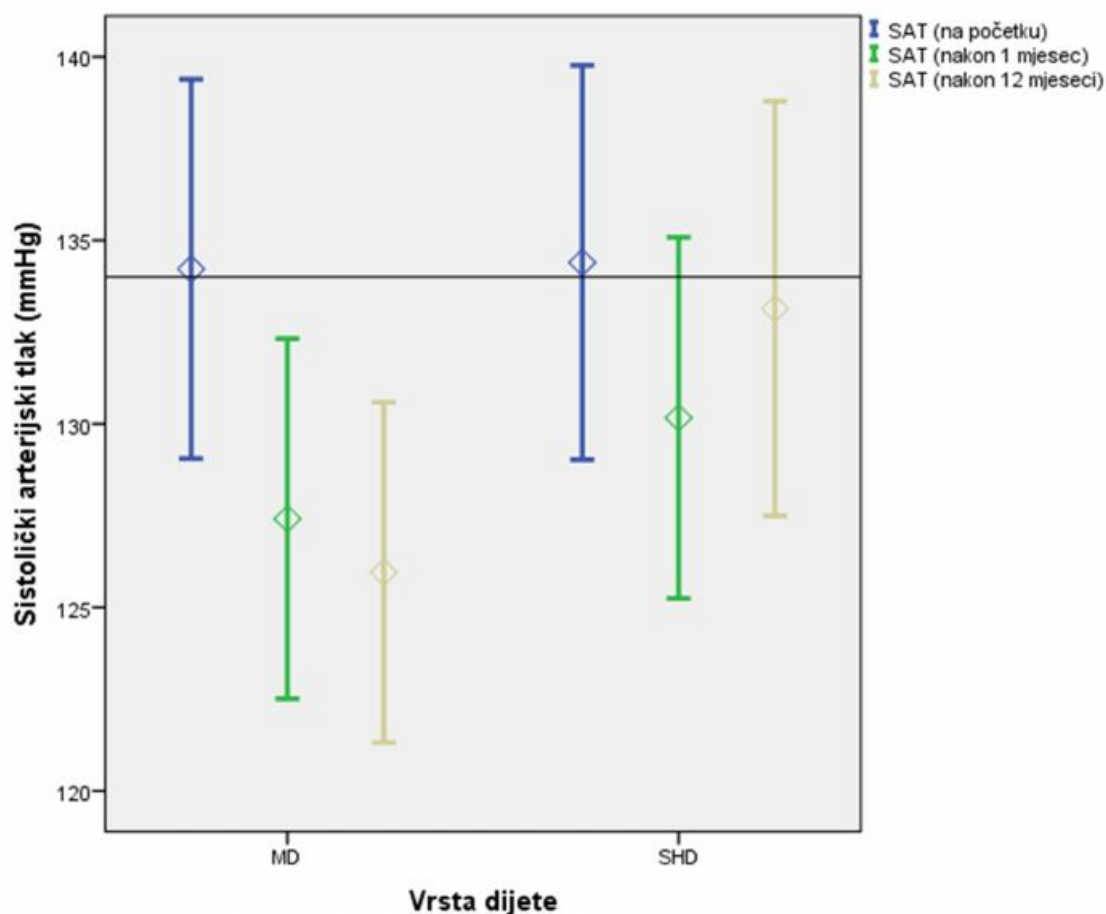


Slika 23. Usporedba učinaka MD i SHD na koncentraciju glukoze u plazmi tijekom dvanaestomjesečne intervencije

4.5.3 Učinak mediteranske dijeta na arterijski tlak

Sistolički arterijski tlak se već 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 sljedećem se razdoblju sistolički 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 počeo rasti i pritom se približio početnoj vrijednosti (ukupni pad iznosio je $1,25 \pm 18,34$ mmHg). Kako bi se uzeo u obzir učinak vremena te međudjelovanja vremena i intervencije, bila je provedena ANOVA s ponovljenim mjerenjima. Analiza je pokazala da nije bilo statistički značajne razlike u učinku dijeta ili međudjelovanja dijeta i vremena, ali je pronađena statistički značajna razlika u izmjerenom sistoličkom arterijskom tlaku tijekom vremena (tablica 23). Sistolički arterijski tlak je statistički

značajno 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 statistički značajna 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 učinaka MD i SHD na sistolički arterijski tlak tijekom dvanaestomjesečne intervencije (okomiti rasponi na grafovima predstavljaju 95%-tne intervale pouzdanosti oko prosječne vrijednosti)

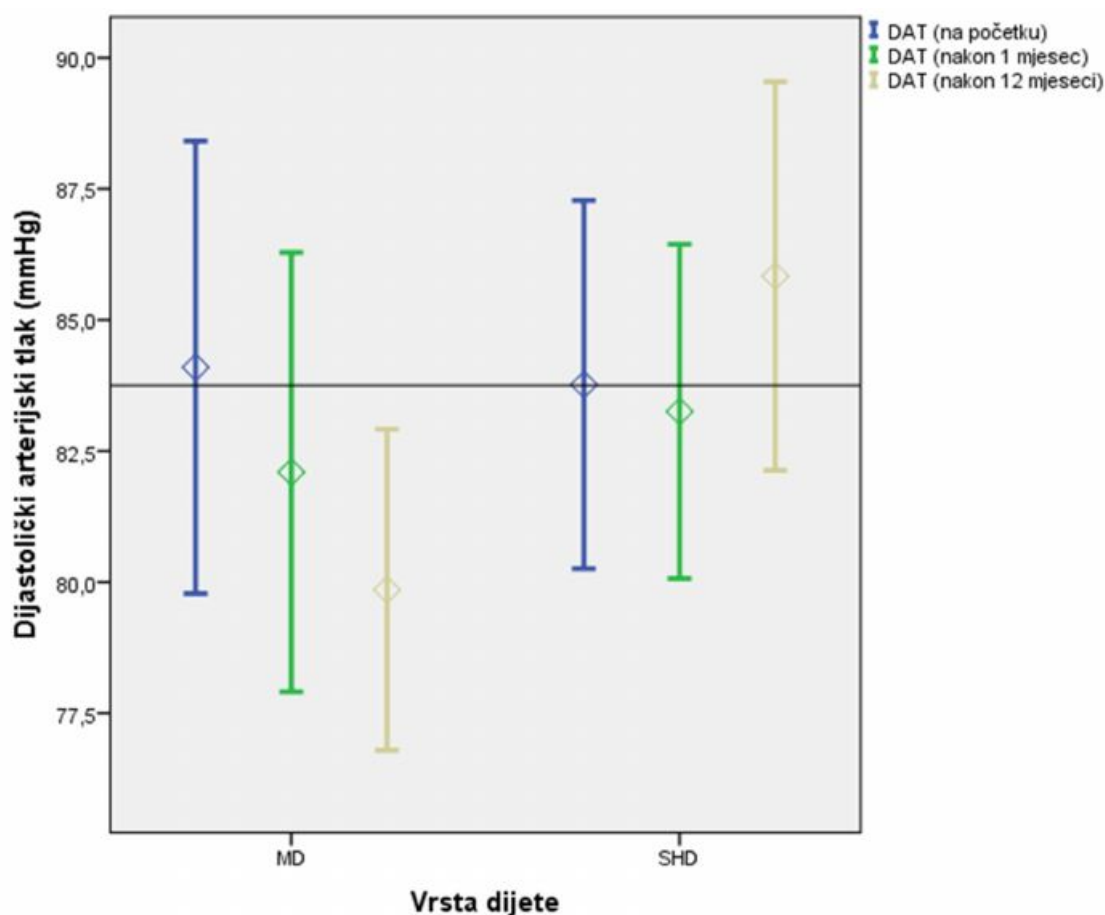
Tablica 24. Vrijednosti arterijskog tlaka u MD i SHD skupini, na početku, nakon 1 i 12 mjeseci

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 sličan 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 među 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 među grupama ($t = 2,079$; $df = 82$; $P = 0,041$). Promjena dijastoličkog arterijskog tlaka bila je međutim premala da bi rezultirala statistički značajnim učinkom 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 učinaka MD i SHD na dijastolički arterijski tlak tijekom dvanaestomjesečne intervencije (okomiti rasponi na grafovima predstavljaju 95%-tne intervale pouzdanosti oko prosječne vrijednosti)

4.5.4 Učinak mediteranske dijete na metabolički sindrom

Zbog značajne zastupljenosti metaboličkog sindroma među pretilim bolesnicima, u okviru ovog rada istražen je utjecaj dijete na metabolički sindrom. Na početku studije metabolički sindrom bio je prisutan u 84 od 124 ispitanika (67,7%), a na kraju u 46 od 84 ispitanika (54,8%). Za sve ispitanike, prosječan broj prisutnih čimbenika koji određuju metabolički sindrom na početku studije iznosio je $2,97 \pm 1,06$, a na kraju $2,62 \pm 0,99$, što je činilo statistički značajnu razliku između dva mjerenja ($t = 3,190$; $df = 78$; $P = 0,002$).

Prosječan broj prisutnih čimbenika metaboličkog sindroma izračunat je i zasebno za svaku skupinu. Na počeku 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. Statistički

značajna razlika između 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 čimbenik u liječenju pretilosti, tjelesna aktivnost činila 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 sjedilačkim 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 $\pm$ SD
Tjelesna aktivnost (MET-min/tjedan)		
Početno	120	1659,47 $\pm$ 1878,39
Nakon 1 mjesec	100	2899,83 $\pm$ 4140,99
Nakon 12 mjeseci	83	2217,08 $\pm$ 3120,44
Vrijeme provedeno sjedeći (min/dan)		
Početno	118	498,05 $\pm$ 232,52
Nakon 1 mjesec	97	476,75 $\pm$ 233,39
Nakon 12 mjeseci	83	500,36 $\pm$ 250,46

MET- metabolički ekvivalent

Rezultati izraženi kao srednja vrijednost $\pm$ 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 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 Multivarijatni 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. No, 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 čitavog 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 učinak MD i SHD u kombinaciji s tjelesnom aktivnosti na TAC seruma. Otprije je poznato da je pozitivan učinak dijete i tjelovježbe na oksidativni stres veći 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 početku su obje intervencije bitno povećale TAC seruma, ali bez značajnije razlike među ispitivanim skupinama, dok je na kraju intervencije u skupini MD ustanovljen bolji učinak na povećanje TAC-a.

Može se pretpostaviti da je za početni povoljni učinak obiju intervencija, između ostaloga, zaslužna kalorijska restrikcija, ali i unos određenih 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 posljedično manji oksidativni stres razjasnili su Vincent i Taylor [18], što je detaljnije opisano u uvodnom dijelu. I drugi su autori potvrdili vezu između restrikcije kalorija i manjeg oksidativnog stresa [158; 172]. Istraživanje Dandone i suradnika polučilo je zanimljive rezultate koji upućuju na to da je povoljan učinak 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, čime se može objasniti i razlika koja je uočena između prvog i dvanaestog mjeseca studije.

Osim kalorijske restrikcije, početni povoljan utjecaj obiju intervencija na TAC pripisujemo i količini antioksidansa u voću i povrću koje su ispitanici obiju skupina unosili u podjednakim količinama. Sličan su učinak nakon povećane konzumacije voća i povrća dokazala i druga istraživanja u kojima je posljedično primijećena povećana koncentracija antioksidansa u serumu [173-175]. Pretpostavljeni mehanizam za antioksidativni učinak dijete potječe iz temeljnih istraživanja koja su pokazala da antioksidansi uneseni prehranom inhibiraju oksidaciju LDL-kolesterola [176]. Voće i povrće koje obiluje fitonutrijentima, antioksidativnim vitaminima i dijetalnim vlaknima, vjerojatno ima isti učinak.

Između 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 značajniji u SHD skupini. Tako je, u usporedbi s početnom 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 preporučenih 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, primijećena razlika među 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 učinku 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-Martineza 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-česticama, što je važno zbog činjenice da su jednostruko nezasićene masne kiseline manje podložne oksidaciji u usporedbi s višestruko nezasićenim masnim kiselinama. One tako 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 dugoročnom povoljnom učinku 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 zaključci 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, očekivalo 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.

No, uočeno 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 uočenu 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 drugačiji dizajn studija, stoga ih je teško izravno uspoređivati. Kolmvotsou i suradnici [149] uspoređivali su učinak mediteranske dijeta u skupinama sa i bez potpore dijetetičara 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 dijetetičara dovela do bitno povećanog TAC-a. Suprotno tome, Buscemi i suradnici [149] uspoređivali su utjecaj mediteranske dijeta i dijeta s niskim udjelom ugljikohidrata na 8-izo-PGF2 α kao pokazatelja oksidativnog stresa, ali nisu pronašli značajnu razliku između dviju skupina [156]. Povećanje 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 dijetetičara 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 uključivala i tjelesnu aktivnost, što je također 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 zaključak da mediteranska dijeta smanjuje rizik od srčano-žilnih poremećaja i smrtnosti od srčano-žilnih bolesti i karcinoma, a rezultati ovoga rada predlažu mogući mehanizam kojim bi ta dijeta mogla povoljno utjecati na kardiometabolički rizik.

Rezultati ovog istraživanja doprinose boljem razumijevanju učinka mediteranske dijeta na oksidativni stres, iako točan mehanizam još nije u potpunosti razriješen. Naime, ustanovljeno povećanje TAC-a mnogo je više iznad očekivanog, s obzirom na koncentraciju flavonoida u plazmi koja se postiže nakon konzumacije namirnica bogatih flavonoidima, kako zbog njihove niske biodostupnosti tako i zbog ubrzane metaboličke pretvorbe. Povećanje TAC-a najčešće se objašnjava povećanom fiziološkom koncentracijom urata. Poznato je da urati imaju velik utjecaj na koncentraciju TAC-a te da doprinose njegovom povećanju od 20% do 60%. Ipak, to ne može objasniti rezultate ove studije jer nije došlo do značajne promjene u koncentraciji urata ni u jednoj promatranoj skupini. Nadalje, predložen je još jedan mehanizam prema kojem flavonoidi iz hrane djeluju sinergistički, što rezultira značajnim povećanjem antioksidativnog kapaciteta [192], čime bi se moglo objasniti i djelovanje mediteranske dijeta na TAC ustanovljeno u ovom radu budući da se antioksidativni učinak pojedine namirnice može pojačati 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 čimbenicima 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 čimbenika koji doprinosi promjeni TAC-a, već je istaknula dijetu kao jedini bitan čimbenik 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 čimbenik 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 učinkovitost povećanog unosa antioksidansa ovisna o početnom antioksidativnom statusu organizma. Točnije, u ispitanika koji su na početku intervencije imali najnižu razinu TAC-a došlo je do njegovog najvećeg povećanja nakon primijenjene dijetete. Suprotno tome, u osoba s najvišom razinom TAC-a uočeno je njegovo blago smanjenje. U našem istraživanju utjecaj obiju intervencija na TAC bio je najveći 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 obiju 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 očekivanjima, oksidirani LDL (oxLDL) i antitijela na oksidirani LDL (OLAB) pokazali su obrnuti trend u odnosu na TAC. Između ispitivanih skupina nije bilo razlike budući da je u obje došlo do smanjenja koncentracija oxLDL-a i OLAB-a nakon prvog mjeseca, iako ne značajno, te do povratka koncentracija prema početnim vrijednostima nakon dvanaest mjeseci. Bitno je naglasiti da praćene promjene oxLDL-a i OLAB-a nisu dale statistički značajne rezultate te će se ovdje raspravljati samo o trendovima njihova kretanja.

Otprije je poznato da povišene vrijednosti oxLDL upućuju na povećani oksidativni stres i prisutnost upale u organizmu, koji vode nastanku određenih bolesti. Na temelju svojih istraživanja Wallenfeldt i suradnici [194] predložili su da bi oxLDL mogao biti dobar pokazatelj subkliničke ateroskleroze. U njihovoj je studiji razina oxLDL-a bila u korelaciji s brojem i veličinom tromba. Druge studije su pokazale da je razina oxLDL-a dobar pokazatelj, čak bolji od klasičnih rizičnih čimbenika, za akutni koronarni sindrom [195] ili infarkt miokarda [196]. Temeljem navedenih dokaza, početni pad oxLDL-a u našoj studiji upućuje na moguće povoljno djelovanje obiju intervencija u pretilih visokorizičnih bolesnika. Iako rezultati ovog istraživanja nisu pokazali statističku značajnost, potvrđuju trend pada oxLDL-a dokazan i u drugim istraživanjima. Primjerice, istraživanje na zdravim ženama koje je ispitalo djelovanje mediteranske dijeta nakon 12 tjedana dovelo je do značajnog 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 srčano-žilnih bolesti [157]. Djelovanje mediteranske dijeta 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 uzročno-posljedičnoj vezi između polifenola iz maslinova ulja (standardiziranih na sadržaj hidroksitirozola i njegovih derivata) i zaštitnog djelovanja od procesa oksidacije LDL čestica [197].

Osim maslinova ulja, dokazi upućuju na povoljne učinke dijetalnih vlakana u sprječavanju procesa oksidacije LDL čestica. U provedenoj duplo slijepoj, placebo kontroliranoj i randomiziranoj studiji unos 4,5 g na dan netopivih vlakana hitin-glukana doveo je do značajno smanjene razine oxLDL-a [198]. Ova činjenica ide u prilog objema intervencijama u našem istraživanju jer su vlakna u obje primijenjene dijeta 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 uključila mlade žene i muškarce pokazala značajno smanjenje oxLDL-a nakon 16 tjedana aerobne tjelesne aktivnosti [199].

No, sva su navedena istraživanja pratila učinke 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 neočekivani trend svakako je zaslužno nepridržavanje preporučene prehrane i tjelesne aktivnosti nakon duljeg razdoblja intervencije.

Što se tiče OLAB-a, promjena njegove koncentracije pratila je promjene oxLDL-a, međutim 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 nađeni 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 ne iznenađuje 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 srčano-žilnim problemima u bolesnika na dijalizi. Omjer oxLDL-a i OLAB-a odražava ravnotežu između *in vivo* oksidacije LDL-čestica 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 čestica. Iako porast nije bio statistički značajan, rezultati upućuju na to da se s vremenom u obje skupine, zbog manjeg broja ox-LDL čestica, može očekivati blago antiaterogeno djelovanje.

5.3 UČINAK INTERVENCIJE NA OSTALE PARAMETRE (SEKUNDARNI CILJEVI ISTRAŽIVANJA)

U svrhu ostvarivanja sekundarnih ciljeva ovog rada istražena je učinkovitost dviju intervencija u redukciji tjelesne mase praćenjem tjelesne mase, indeksa tjelesne mase i opsega struka, te određen utjecaj intervencija na kardiometaboličke rizične čimbenike 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 bihevioralnom terapijom na kardiometaboličke rizične čimbenike 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 učinak na veći broj rizičnih čimbenika za kardiometaboličke 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 učinak visokomasnih dijeta bogatih nezasićenim masnim kiselinama na čimbenike 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 predstvaljaju 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 učinak 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 učinak na trigliceride, LDL-kolesterol i ukupni kolesterol niti u jednoj skupini, dok je povoljan učinak 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 dvanaestomjesečne 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 učinak 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 različit učinak na HDL-kolesterol. Kao što je već rečeno, suprotno od dosadašnjih istraživanja, koncentracije ostalih lipida nisu se značajno promijenile ni u jednoj skupini, niti je bilo razlike između skupina. Značajno smanjenje triglicerida, ukupnog kolesterola i LDL-kolesterola primijećeno je međutim u MD skupini nakon prvog mjeseca intervencije. Učinak dijeta na rizične čimbenike 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 početnog povoljnog učinka 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 prije uočeni pozitivni učinci MD na regulaciju glikemije u

bolesnika s metaboličkim sindromom [227]. Pozitivno djelovanje niskomasne dijeta s višim sadržajem ugljikohidrata poznato je od prije, stoga se takva dijeta tradicionalno preporučavala bolesnicima sa šećernom bolesti. Danas je međutim jasno da i visokomasne dijeta bogate jednostruko nezasićenim masnim kiselinama mogu poboljšati metaboličku kontrolu [109].

U posljednje je vrijeme nekoliko velikih opservacijskih i intervencijskih studija istaknulo da dijetalni čimbenici imaju najjači učinak na arterijski tlak, lipide, glikemiju i tjelesnu masu [80; 127; 218]. Noviji epidemiološki dokazi upućuju na vezu između povećanog 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 veći broj rizičnih čimbenika te na bitne ishode liječenja, 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 dijetetičara 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 među 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 bio 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 izgleda za razvoj akutnog koronarnog sindroma nego dijeta ili tjelesna aktivnost pojedinačno [231]. Ova je studija dizajnirana upravo tako da osigura maksimalnu dobrobit programa mršavljenja učinkom na rizične kardiometaboličke

čimbenike. 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 rizičnih čimbenika 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 čimbenici 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 bolesnike. Trećina bolesnika bila je uspješna sa smanjenom početnom tjelesnom masom 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 podjednakog su udjela osoba koje odustaju od programa mršavljenja došli i Mutsaerts i suradnici [232] metaanalizom koja se temeljila na deset istraživanja. Kao ključne čimbenike koji su utjecali na odustajanje od programa, naše istraživanje izdvojilo je niži stupanj obrazovanja i višu početnu 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 također 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, točnije onih nižeg stupnja obrazovanja i višeg stupnja pretilosti. Iako je u našem programu bilo nemoguće zadržati 8% bolesnika koji su isključeni zbog zdravstvenih i psiholoških problema, zasigurno se trebaju poduzeti određene mjere kako bi se spriječilo 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 najčešći su bili osobni problemi i manjak motivacije za sudjelovanje u programu, dok je nezadovoljstvo samom dijetom rijetko kad dovodilo do odustajanja od programa mršavljenja. Druge su studije kao ključne mjere za ostanak što većeg broja bolesnika u programu preporučile češći kontakt sa zdravstvenim djelatnicima uključenima 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 liječnike i druge zdravstvene djelatnike [110; 241]. Nepridržavanje uputa o mršavljenju i odustajanje od programa pretilih bolesnika ozbiljan je problem uočen u mnogim studijama koje su kao intervenciju uključivale dijetu. Wadden i suradnici [243] dokazali su da je smanjenje tjelesne mase bilo to veće što su ispitanici imali više terapijskih tretmana. Najnovije američke smjernice za upravljanje debljinom (AHA/ACC/TOS 2013) iznose dokaze o potrebi za tjednim, a kasnije mjesečnim kontaktom bolesnika sa zdravstvenim djelatnicima u svrhu učinkovitijeg mršavljenja. U usporedbi s tim, intervencija naše studije temeljila se na manje intenzivnom praćenju pretilih ispitanika, a zanimljivo je da je nakon godinu dana postignut sličan uspjeh kao i kod intervencija s intenzivnijim pristupom. Stoga primijenjeni dizajn s pet poludnevničkih tretmana na početku te pet kratkih kontrolnih posjeta tijekom godine može biti zanimljiv novi model u liječenju pretilosti.

Što se tiče ispitanika koji su završili program mršavljenja, pokazalo se da su nakon prvih mjesec dana najviše smršavili mlađi muškarci. Takav rezultat, naravno, nimalo ne iznenađuje s obzirom na viši bazalni metabolizam u mlađih muškaraca. Ovaj se učinak međutim nije zadržao tijekom vremena te se na kraju dvanaestomjesečnog programa skupina mlađih muškaraca više nije isticala po uspješnom mršavljenju. Zbog toga bi mlađim muškarcima, uslijed naglog mršavljenja, trebao individualiziran pristup s ponaosob krojenim dnevnim kalorijskim unosom,

kako bi se početni učinak 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 početni uspjeh u mršavljenju, što je sukladno drugim studijama koje su uočile da početni 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 želučanog 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 mršavjela 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 preporučene dijeta i tjelesne aktivnosti u ovom je istraživanju praćen 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 isključenja 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, polučila 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

uključivanju u studiju jer to nije dopuštala veličina uzorka, niti je praćena eventualna promjena kronične terapije uključenih bolesnika. Kako postoje nedvojbeni dokazi o učincima pojedinih lijekova na oksidativni stres, primjerice statina ili ACE-inhibitora, moguće je da bi njihova analiza omogućila bolje objašnjenje rezultata ove studije.

6. ZAKLJUČCI

U okviru ovog doktorskog rada ispitani su učinci mediteranske dijeta (MD) i standardne hipolipemičke dijeta (SHD), u kombinaciji s tjelesnom aktivnošću i bihevioralnom terapijom, primarno na pokazatelje oksidativnog stresa te sekundarno na smanjenje tjelesne mase i kardiometaboličkih rizičnih čimbenika, koristeći randomizirani, paralelni dizajn studije.

Temeljem provedenog istraživanja, dobivenih rezultata i rasprave doneseni su sljedeći zaključci:

1. Utjecaj na antioksidativni potencijal seruma (TAC) ovisio je o duljini trajanja intervencije. Inicijalno je uočen povoljan učinak obiju intervencija, a dugoročno je intervencija koja je uključivala MD bila značajno učinkovitija u povećanju TAC-a.
2. Na ispitivanom uzorku pretilih bolesnika vrsta dijeta pokazala se jedinim značajnim čimbenikom s utjecajem na TAC, dok tjelesna aktivnost, spol, promjena tjelesne mase i koncentracija urata nisu značajnije utjecali na koncentraciju TAC-a.
3. S obzirom na povećan unos ribe, maslinova ulja i orašastih plodova kao ključne razlike među intervencijama, rezultati upućuju na važnost tih namirnica u dugoročnom pozitivnom djelovanju na TAC.
4. Temeljem rezultata rada, predloženi hipotetski mehanizam djelovanja mediteranske dijeta na smanjenje smrtnosti od srčano-žilnih bolesti mogao bi uključivati antioksidativni učinak.
5. U ovom istraživanju nije ustanovljen statistički značajan učinak vremena niti ispitivanih intervencija na oxLDL, OLAB i njihov omjer. Trend kretanja vrijednosti oxLDL-a i OLAB-a ukazao je na početno povoljno djelovanje u obje intervencije te na nestanak prvotnog povoljnog učinka na kraju dvanaestomjesečnog razdoblja praćenja. Dobivene vrijednosti omjera OLAB-a i oxLDL-a upućuju na veći klirens oxLDL-a u usporedbi s nastajanjem novih oksidiranih LDL čestica te na moguće blago antiaterogeno djelovanje. S obzirom na nedovoljnu snagu statističkih testova koji su uključivali oxLDL, OLAB i njihov omjer te na pozitivan trend promjena ali bez statističke značajnosti, istraživanje bi imalo smisla ponoviti na većem 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 uključila 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 početno smanjenje tjelesne mase i bračni status kao povoljne čimbenike uspješnosti mršavljenja pretilih bolesnika uključenih u program mršavljenja. Osobe koje su u početku više 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 $\geq 5\%$ početne tjelesne mase tijekom dvanaestomjesečnog trajanja programa, ukazuje na probleme pretilih bolesnika u pridržavanju preporučenih mjera. 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 početku studije i pet dodatnih kratkih kontrolnih posjeta kroz dvanaest mjeseci, bio podjednako učinkovit na mršavljenje kao i prethodno istraživani pristupi s češćim 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 drugačije 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 dobru osnovu za daljnja usmjerena istraživanja u ovom području.

7. LITERATURA

- (1) Jelčić J, Baretić M, Koršić M. 4. smjernice o dijagnostici i liječenju debljine. *Liječnički 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) Ružić A, Peršić V. Pretilost - milenjska prijetnja: tvrdokorna pandemijska bolest modernoga društva. U: Pokrajac-Bulian A, urednik. Pretilost - spremnost za promjenu načina 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) Pelleymounter 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) Sučić M, Božikov V. Poremećaji 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) Baretić M, Balić 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, Pearson 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) Nadtochiy 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, Šubarić 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, Pavlić Renar I. Šećerna 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, Chrysoshoou 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, Romic Z. The antioxidative protecting role of the Mediterranean diet. *Coll Antropol* 2012; 36(4):1427-1434.
- (147) Pitsavos C, Panagiotakos D B, Tzima N, Chrysohooou 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, Sjostrom 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. Mhwh, 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, Chrysoshoou 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 neoepitopes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998; 18(12):1972-1982.
- (213) Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, Dans T, Avezum A, Lanus 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, Chrysoshoou 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, Hjelmessaeth 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 involvment 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 namirnica

- 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 namirnica

- 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 namirnica

- 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 namirnica

- 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 namirnica

- 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	Žitarice i proizvodi žitarica	Brašno (bijelo, kukuruzno, raženo)	20g
	Crni, raženi kruh i pecivo	30g		Kukuruzna krupica, pšenična krupica, kokice	20g
	Graham kruh, pecivo	35g		Zobene pahuljice, heljda, leća, soja zrna	20g
	Kukuruzni kruh	35g		Ječmena kaša, mekinje	25g
Keksi i krekeri	Dvopek	20g	Tjestenina	Makaroni, špageti, mlinci i sl.	20g
	Dijabetički keksi	25g		Integralna ili bijela	20g
	Integralni krekeri	30g	Škrobno povrće	Bob, grah, grašak suhi, slanutak, kukuruz zrna,	30g
Škrobno Voće	Kesten bez kore	45g		Soja ljuskice	50g
				Krumpir oguljeni, grašak smrznuti	100g

Skupina MLJEKO i zamjene

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

1 jedinica	Odgovara količini u gramima	
Mlijeko i mliječ. proizvodi	Mlijeko, fermentirana mlijeka (jogurt, kiselo mlijeko, kefir i sl. do 1,5% m.m.)	240g

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), kunč, teletina, junetina, svinjetina (but), divljač	30g
Ribe	Morska i riječna riba, hobotnica, lignje, sipa, dagnje i sl.	30g
Ostali proizvodi	Light polutvrdi sir, šunka prešana, riblja konzerva (tuna, sardina i sl., bez ulja)	30g
	Toast pureća šunka, pureća ili pileća prsa u ovitku	50g
	Posni svježi sir	60g
	Topljeni sir light	25g
	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	100g
	Rajčica pire, pirjana	60g

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	70g
	Grožđe, šipak (nar), mango, trešnje	90g
	Kruška, kivi, ribiz, ogrozđ, borovnica	100g
	Nektarina, ananas, mandarina, maline	120g
	Jabuka, naranča, šljive, višnje	130g
	Breskva, marelica, dinje, kupine, papaja	140g
	Jagode, lubenica, grejp	190g
	Džem od raznog voća bez šećera (2 male žličice)	23g
	Sok od voća bez šećera	120ml

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	5g
	Sjemenke suncokreta, lana, sezama (1 velika žlica)	8g
	Orah - 4 polovice, Lješnjak - 5 kom, Badem - 6 kom, Kikiriki - 10 kom, Pistacije - 16 kom	
Zasićene masnoće	Maslac, biljna mast	5g
	Sušena slanina	10g
	Mliječni namaz	15g
	Mliječni namaz-light	23g
	Kiselo vrhnje 12% m.m.	30g

**Odjel prehrane**

Avenija Gajka Šuška 6

Tel: 011 290 3325

Fax:

Email: dijetetika@kdb.hr

Standardna hipolipemička dijeta

OBROK	NAZIV JELA	ENERGIJA	
		kcal	kJ
Doručak			
1.	0895 LIGIT 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 PILEĆA 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 BUTVA 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: Međunarodni upitnik fizičke aktivnosti

Šifra pacijenta _____

Datum _____

MEĐUNARODNI UPITNIK FIZIČKE AKTIVNOSTI

(Engl. IPAQ- International Physical Activity Questionnaire)

Cilj ovog upitnika je ispitati koliko ste aktivni i kojim vrstama fizičke 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, čak i ako se ne smatrate aktivnom osobom. Razmislite o svim aktivnostima koje obavljate na poslu, u svome domu, radeći 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 fizički trud i čine disanje znatno napornijim nego normalno. Uzmite u obzir samo *one* fizičke aktivnosti koje ste obavljali u trajanju od najmanje 10 minuta.

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

____ dana u tjednu

☐ ne bavim se žestokim fizičkim aktivnostima → **Prijeći na pitanje 3**

2. Koliko vremena obično provedete baveći se **žestokim** fizičkim 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 fizički napor i čine disanje nešto napornijim nego normalno. Uzmite u obzir samo *one* fizičke aktivnosti koje ste obavljali u trajanju od najmanje 10 minuta.

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

____ dana u tjednu

☐ ne bavim se umjerenim fizičkim aktivnostima → **Prijeći na pitanje 5**

4. Koliko vremena obično provedete baveći se **umjerenim** fizičkim 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 uključuje šetnju na posao i s posla, šetnju dok putujete od mjesta do mjesta i bilo koju drugu šetnju zbog rekreacije, sporta, vježbanja ili iz okolice.

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

____ dana u tjednu

☐ ne hodam → **Prijeći na pitanje 7**

6. Koliko vremena obično 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 **sjedeći** tijekom dana u **posljednjih 7 dana**. To uključuje vrijeme provedeno na poslu, kod kuće, za vrijeme bilo kakvog poslovnog procesa ili iz okolice. Također možete uključiti vrijeme provedeno za pisaćim stolom, vrijeme u posjetu prijateljima te sjedenje ili ležanje za vrijeme čitanja ili gledanja televizije.

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

____ 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 Hadžiabdić, Iva Mucalo, Pero Hrabač, Tomas Matić, Dario Rahelić, 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 Hadžiabdić, Dubravka Vitali Čepo, Dario Rahelić, 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 Hadžiabdić, Velimir Božikov, Eva Pavić, Željko Romić. The antioxidative protecting role of the Mediterranean diet. *Collegium Antropologicum*. 2012; 36: 1427-1434.

9. ŽIVOTOPIS

Maja Ortner Hadžiabdić rođena je 20. travnja 1977. godine u Zagrebu gdje je završila osnovnu školu i II gimnaziju. Diplomirala je 2002. godine na Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu i time stekla zvanje magistra farmacije. Tijekom diplomskog studija u dva je navrata boravila na Farmaceutskom fakultetu Sveučilišta u Londonu gdje je surađivala na dva istraživačka rada i izradila svoj diplomski rad (*Drug Information Preferences in Diabetic Patients*). Nakon završenog diplomskog studija upisuje poslijediplomski magistarski studij na Sveučilištu države Maine u Sjedinjenim Američkim Državama gdje 2005. godine stječe magisterij znanosti iz područja kemije obranivši svoj rad pod nazivom *Mechanism of Alzheimer's Disease: Computational Study*. Nakon toga postaje suradnik na TEMPUS JEP 18028-2003 međunarodnom 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 specijalistički studij iz kliničke farmacije i farmaceutske prakse na Farmaceutskom fakultetu Sveučilišta u Londonu. Od 2006. godine zaposlena je u Centru za primijenjenu farmaciju Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu kao znanstveni novak-asistent, a 2009. godine upisuje doktorski studij Farmaceutske znanosti. Uz znanstveni rad sudjeluje u izvođenju nastave na kolegijima Farmakoterapija, Klinička farmacija i Komunikacijske vještine. Članica je Hrvatskog farmaceutskog društva i Hrvatske ljekarničke komore gdje je aktivna kao članica Radne skupine za izradu nacionalnog kompetencijskog okvira te Povjerenstva za unapređenje ljekarničke prakse u Hrvatskoj. Koautor je pet znanstvenih radova u časopisima citiranima u bazi Current Contents te pet znanstvenih i stručnih radova objavljenih u ostalim časopisima. Aktivno je sudjelovala na domaćim i međunarodnim skupovima s 33 posterska i usmena priopćenja. Aktivno sudjeluje u edukaciji magistara farmacije u sklopu njihova poslijediplomskog stručnog usavršavanja. Udana je i majka dvaju dječaka.

Objavljeni znanstveni radovi citirani u bazi Current Contents:

1. Maja Ortner Hadžiabdić, Iva Mucalo, Pero Hrabač, Tomas Matić, Dario Rahelić, 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 Hadžiabdić, Dubravka Vitali Čepo, Dario Rahelić, 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 Hadžiabdić, Velimir Božikov, Eva Pavić, Željko Romić. The antioxidative protecting role of the Mediterranean diet. *Collegium Antropologicum*. 2012; 36: 1427-1434.
4. Arijana Meštrović, Živka Staničić, **Maja Ortner Hadžiabdić**, Iva Mucalo, Ian Bates, Catherine Duggan, Sarah Carter, Andrea Bruno, Miljenko Košiček. 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 Meštrović, Živka Staničić, **Maja Ortner Hadžiabdić**, 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 Šarić, Monika Škunca, **Maja Ortner Hadžiabdić**, Velimir Božikov. Metabolički sindrom - novi pristup u definiranju i liječenju. *Farmaceutski Glasnik*. 2013; 69: 333-345.
2. **Maja Ortner Hadžiabdić**. Ljekarnička skrb temeljena na dokazima. *Farmaceutski Glasnik*. 2012; 68: 483-492.
3. **Maja Ortner Hadžiabdić**. 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

Sveučilište u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijski fakultet
Centar za primijenjenu farmaciju
A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Hrvatska

Doktorski rad

UČINCI MEDITERANSKE PREHRANE NA OKSIDATIVNI STRES KOD PRETILIH BOLESNIKA

Maja Ortner Hadžiabdić

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 ističu 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 čimbenike 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 dvanaestomjesečnog razdoblja. Rezultati ovog istraživanja pokazali su da je MD bila značajno učinkovitija 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 učinak vremena, $P = 0,009$ za učinak interakcije vremena i dijeta). Metodom multiple regresije, vrsta dijeta pokazala se kao jedini značajan čimbenik 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 značajan učinak 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 učinkovitost 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 čimbenika metaboličkog sindroma. Ovo istraživanje 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 dobru osnovu za daljnja usmjerena istraživanja u ovom području.

Rad je pohranjen u Centralnoj knjižnici Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta 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 Sveučilišta u Zagrebu

Povjerenstvo:

Dr. sc. Sanda Vladimir-Knežević, redovita profesorica, Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

Dr. sc. Donatella Verbanac, docentica, Medicinski fakultet Sveučilišta 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 Hadžiabdić

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.