Određivanje plazma reninske aktivnosti i koncentracije aldosterona u serumu kao indikatora unosa kuhinjske soli u organizam u zdravih mladih ispitanika

Ružić, Ana

Master's thesis / Diplomski rad

2018

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

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:152:719573

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Medicine Osijek

zir.nsk.hr

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK

Studij medicinsko laboratorijske dijagnostike

Ružić Ana

ODREĐIVANJE PLAZMA RENINSKE AKTIVNOSTI I KONCENTRACIJE ALDOSTERONA U SERUMU KAO INDIKATORA UNOSA KUHINJSKE SOLI U ORGANIZAM ZDRAVIH MLADIH ISPITANIKA

Diplomski rad

Osijek, 2017.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK

Studij medicinsko laboratorijske dijagnostike

Ružić Ana

ODREĐIVANJE PLAZMA RENINSKE AKTIVNOSTI I KONCENTRACIJE ALDOSTERONA U SERUMU KAO INDIKATORA UNOSA KUHINJSKE SOLI U ORGANIZAM ZDRAVIH MLADIH ISPITANIKA

Diplomski rad

Osijek, 2017.

Rad je ostvaren na Medicinskom fakultetu Osijek, Katedri za fiziologiju i imunologiju, u Laboratoriju za kliničku fiziologiju i fiziologiju sporta te Laboratoriju za molekularnu i kliničku imunologiju.

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

Rad ima 40 listova, 3 tablice i 5 slika.

Zahvaljujem se doc. dr. sc. Ani Stupin na velikoj pomoći i strpljenju pri izradi ovoga diplomskoga rada, koja je svojim stručnim znanjem pomogla pri realizaciji rada.

Posebno se zahvaljujem svom sinu, suprugu, roditeljima i cijeloj obitelji koja mi je bila najveća podrška.

Također, zahvaljujem se svim prijateljima koji su mi na bilo koji način pomogli tijekom studija.

SADRŽAJ

1. UVOD **1**

1.1. Unos soli u organizam i kardiovaskularne bolesti. 1

1.2. Renin-angiotenzin-aldosteronski sustav (RAAS) i unos soli u organizam 2

1.2.1. Komponente RAAS-a 3

1.3. Sol i renin-angiotenzinski-aldosteron sustav 9

2. HIPOTEZA **11**

3. CILJ ISTRAŽIVANJA **12**

4. MATERIJAL I METODE **13**

4.1. Ispitanici 13

4.2. Ustroj studije 13

4.3. Protokol istraživanja i metode 13

4.4. Određivanje plazma reninske aktivnosti (PRA) i koncentracije aldosterona ELISA metodom - (kompetetivni direktni enzimski imuno analitički test) 15

4.5. Statističke metode 16

5. REZULTATI **17**

5.1. Opći i antropometrijski parametri ispitanika 17

5.2. Hemodinamski parametri ispitanika 17

5.3. Biokemijski parametri ispitanika 18

5.4. Plazma reninska aktivnost (PRA) i koncentracija aldosterona u serumu 19

5.5. Povezanost dnevnog unosa soli u organizam s plazma reninskom aktivnosti i serumskom koncentracijom aldosterona u zdravh mladih žena i muškaraca 21

6. RASPRAVA **24**

7. ZAKLJUČAK **28**

8. SAŽETAK **29**

9. SUMMARY **30**

10. LITERATURA **32**

11. ŽIVOTOPIS **40**

POPIS KRATICA

ACE - angiotenzin konvertirajući enzim

AGT - angiotenzinogen

ANG - angiotenzin

Ang II – angiotenzin II

BMI - indeks tjelesne mase

BP – krvni tlak

Ca– kalcij

Cl – klor

ELISA – Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

HR – puls

HS dijeta– visokoslana dijeta

JG – jukstaglomerularne stanice

JGA – jukstaglomerularni aparat

LKFFS - Laboratorij za kliničku fiziologiju i fiziologiju sporta

LS dijeta – niskoslana dijeta

MR - mineralokortikoidni receptori

Na – natrij

NaCl – natrijev klorid

NADPH – nikotinamid adenin dinukleotid fosfat

PRA - plazma reninska aktivnost

RAAS - renin-angiotenzin- aldosteron sustav

ROS – slobodni kisikovi radikali

SD - standardna devijacija

TXA2 – tromboksan A2

WHR- omjer struk-bokovi

WHO - World Health Organisation

11b-HSD2 - 11b-hidroksisteroid dehidrogenaze tipa 2

POPIS TABLICA

Tablica 1. Opći i antropometrijski parametri ispitanika **(17. stranica)**

Tablica 2. Hemodinamski parametri ispitanika **(18. stranica)**

Tablica 3. Biokemijski parametri u serumu i 24h urinu ispitanika **(18. stranica)**

POPIS SLIKA

Slika 1. Utjecaj dnevnoga unosa kuhinjske soli u organizam na plazma reninsku aktivnost (PRA) u mladih zdravih žena (1a) i muškaraca (1b) **(19. stranica)**

Slika 2. Utjecaj dnevnoga unosa kuhinjske soli u organizam na koncentraciju aldosterona u serumu mladih zdravih žena (2a) i muškaraca (2b) **(20. stranica)**

Slika 3. Povezanost plazma reninske aktivnosti i koncentracije aldosterona u serumu u zdravih mladih žena (3a) i muškaraca (3b) **(21. stranica)**

Slika 4. Povezanost dnevnoga unosa kuhinjske soli s plazma reninskom aktivnosti (4a) i koncentracijom aldosterona u serumu (4b) u zdravih mladih žena **(22. stranica)**

Slika 5. Povezanost dnevnog unosa kuhinjske soli s plazma reninskom aktivnosti (5a) i koncentracijom aldosterona u serumu (5b) u zdravih mladih muškaraca **(23. stranica)**

1. UVOD

1.1 Unos soli u organizam i kardiovaskularne bolesti

Vodeći su uzrok smrtnosti u suvremenom svijetu kardiovaskularne bolesti. Navedene bolesti imaju značajan udio u prijevremenom umiranju, morbiditetu i pobolijevanju stanovništva i kao takve predstavljaju važan javno zdravstveni problem. Prema podatcima Svjetske zdravstvene organizacije (WHO) uzrok su smrti 17,3 milijuna ljudi diljem svijeta, odnosno uzrokuju 30% sveukupne smrtnosti (1). U Hrvatskoj su kardiovaskularne bolesti također vodeći uzrok smrti s udjelom od 48,3% u ukupnom mortalitetu 2012. godine (2).

Prehrana na različite načine utječe na razvoj kardiovaskularnih bolesti te prema tome nepravilan odabir namirnica, prevelik unos ugljikohidrata, kolesterola i masti i prevelik kalorijski unos pridonose razvoju i pogoršanju bolesti (3). Kada se govori o neprikladnoj prehrani i prekomjernom uzimanju pojedinih namirnica, nikako se ne smije izostaviti svakodnevna količina unosa kuhinjske soli u organizam. Sol je potrebna za normalno funkcioniranje organizma i njena dnevna potreba iznosi 5 – 6 g (1 čajna žličica) (4, 5). Ipak, u posljednjih nekoliko desetljeća u razvijenim zemljama svijeta potrošnja i unos soli u organizam znatno su porasli zbog velikih količina natrijevog klorida (NaCl) u, danas sveprisutnoj, prerađenoj hrani. Stoga, danas ne govorimo o unosu soli u organizam koji bi bio prihvatljiv (do 5 grama), već o mnogo većim količinama (preko 10 grama, a ponegdje i još višim). Prema podatcima Svjetske zdravstvene organizacije kada bi se unos soli sveo na preporučene vrijednosti, spriječilo bi se oko 2,5 milijuna smrti godišnje u svijetu (WHO, 2006.). S obzirom na dnevni unos soli, Hrvatska se nalazi na trećem mjestu u Europi, a osim toga i pri vrhu po smrtnosti od kardiovaskularnih bolesti (6).

Povećan unos kuhinjske soli jedan je od glavnih čimbenika za razvoj arterijske hipertenzije. Arterijska hipertenzija bolest je povišenoga krvnoga tlaka, a dijagnosticira se ukoliko mjerene vrijednosti krvnoga tlaka, kroz određeni vremenski period, prelaze graničnu vrijednost od 140/90 mmHg. Arterijska hipertenzija, osim što se očituje kao patološko povišenje arterijskog tlaka, također predstavlja složeni poremećaj brojnih hormonskih i metaboličkih čimbenika. Neliječena bolest povišenog arterijskog tlaka tako povećava rizik razvoja drugih bolesti (bolesti miokarda, angina pektoris, moždani udar, oštećenje bubrega i ateroskleroza). Kronično visoki krvni tlak oštećuje stijenke arterija, i kao posljedicu povećava vjerojatnost pojave aneurizme, dok formiranje plakova i ugrušaka na oštećenim dijelovima stijenke arterija stvara preduvjete za pojavu ili pogoršanje ateroskleroze. Arterijska

hipertenzija najčešće traje godinama bez bitnih simptoma i zbog toga je i zovu „tihi ubojica“ (7).

U Hrvatskoj je prosječan unos soli oko 10-12 g na dan, dok od povišenoga krvnog tlaka oboli svaka treća osoba (8). Zapreka smanjivanju unosa kuhinjske soli u organizam temelji se na činjenici da 75 – 80% kuhinjske soli unosimo nesvjesno (bez svojega znanja) iz gotovih i polugotovih prehrambenih proizvoda dok tek 15% dodajemo sami (9). Glavno preventivno mjesto djelovanja na prekomjerni unos soli u organizam trebala bi biti prehrambena industrija s ciljem smanjenja dodavanja natrija (Na) u različite prehrambene proizvode. Da je to moguće, pokazuju rezultati iz Finske gdje je od 1970. godine smanjen unos Na za 30%, od 4.700 na 3.300 mg/d. Posljedica ovoga učinka bilo je sniženje dijastoličkoga tlaka u populaciji za 10 mmHg, a to je dovelo do 60-postotnog smanjenja smrtnosti od ishemijske bolesti srca i cerebrovaskularnih bolesti (10). Kao što je već navedeno, istraživanja su pokazala da prosječan dnevni unos kuhinjske soli u Hrvatskoj iznosi 11,6 grama što je više nego dvostruko više od preporučenoga dnevnoga unosa. Zbog toga je potrebna edukacija stanovništva. Na primjerima provođenja nacionalnih programa štetnosti prekomjernoga unosa kuhinjske soli Finske i Velike Britanije i Europska unija je 2007.godine razvila inicijativu za smanjenje unosa kuhinjske soli te je razradila plan postupnoga smanjivanja soli u prehrambenim proizvodima za 4% na godinu. Republika Hrvatska u taj se program uključila 2008. godine tako što je Ministarstvo zdravstva i socijalne skrbi odobrilo projekt pod nazivom „Smanjenje konzumiranja soli u Hrvatskoj“ (11).

Kao što je već navedeno, velik broj istraživanja ukazuje na štetni utjecaj visokoga unosa soli u prehrani na vrijednosti krvnoga tlaka i na posljedične štetne učinke po kardiovaskularni sustav, ali u posljednjih 15-ak godina rezultati istraživanja upućuju da štetni učinci soli mogu biti potpuno neovisni o promjeni krvnoga tlaka i da se izražavaju i u normotenzivnih pojedinaca (12). Veliki broj istraživanja, kako na animalnom tako i na humanom modelu, još uvijek nastoji razjasniti način i potencijalne mehanizme kojima sol dovodi do promjena vaskularne funkcije neovisnih o promjenama krvnoga tlaka (13, 14).

1.2. Renin-angiotenzin-aldosteronski sustav (RAAS) i unos soli u organizam

Jedan od sustava koji ima bitnu ulogu u regulaciji arterijskoga tlaka, regulaciji perfuzije tkiva i homeostazi elektrolita i tjelesnih tekućina jest renin-angiotenzin-

aldosteronski sustav (RAAS). Karakteristika ovoga sustava očituje se u nizu interakcija različitih supstancā kojima je ciljno stvaranje vazoaktivnog angiotenzina (Ang II) s ekspresijom njegovih brojnih djelovanja. Novija istraživanja pokazuju da se ne radi samo o Ang II, nego da aktivnost posjeduju i druge supstance koje su dio sustava (15).

Istraživanja finskog fiziologa Roberta Tigerstedta i njegovog studenta Šveđanina Per Bergmana još krajem 19. stoljeća ukazala su na važnu ulogu bubrega u regulaciji krvnoga tlaka. Ovi su autori iz kore zečjeg bubrega izolirali tvar koja je, uštrcana u jugularnu venu zeca, povisila arterijski tlak. Toj tvari dali su naziv "renin" i tako zaključili da bi ona mogla biti povezana s hipertrofijom srca u bubrežnoj bolesti i visokim arterijskim tlakom (16). U kasnijim istraživanjima tridesetih godina 20. stoljeća Goldblatt i suradnici objavili su da bubrežna ishemija uzrokovana "klamping tehnikom" renalne arterije uzrokuje arterijsku hipertenziju. Nakon toga utvrđeno je da bubreg izlučuje još jednu supstancu neovisno o reninu i da renin sam po sebi nema punu aktivnost nego da djeluje na drugu supstancu koja je nazvana angiotenzinogen (AGT) da bi se oslobodila aktivna supstanca. Ta supstanca nazvana je angiotonin od istraživača u Americi i hipertenzin od istraživača u Australiji, a kao kompromis nazvana je angiotenzin (17).

1.2.1. Komponente RAAS-a

U ranim sedamdesetima 20. stoljeća otkrivene su glavne komponente "klasičnoga" cirkulirajućeg RAAS-a. Ukratko, u bilo kojem slučaju sniženja arterijskoga tlaka, npr. proljev, povraćanje, krvarenje, bijeg intravaskularne tekućine, nefrotski sindrom itd., smanjuje se perfuzija bubrega što registriraju jukstaglomerularne (JG) stanice koje tada u krvotok otpuštaju renin. Renin je prehormon kojega izlučuje bubreg, isto kao i prorenin. Prorenin se detektira u 70% do 90% imunoreaktivnog renina u humanoj cirkulaciji. Aktivnu sekreciju renina reguliraju i promjene u izlučivanju NaCl (registrira se kao promjena u Cl) prema stanicama makule denze distalnog tubula (koje su blizu JG-stanica i zajedno čine jukstaglomerularni aparat, JGA), stimulacija simpatičkih živaca putem β1-adrenergičkih receptora te negativna povratna sprega putem izravnoga djelovanja Ang II na JG-stanice. Renin sintetiziraju i druga tkiva kao što su: mozak, nadbubrežna žlijezda, ovariji, visceralno masno tkivo te vjerojatno srce i vaskulatura, a čimbenici koji reguliraju izlučivanje renina u ovim tkivima slabo su poznati. Kontrola sekrecije renina ključ je u aktivaciji RAAS-a (18). Angiotenzinogen u najvećem dijelu sintetizira jetra, ali i bubrezi, mozak, srce, vaskulatura, nadbubrežna žlijezda, ovariji, placenta i masno tkivo. Koncentracija u plazmi stabilna mu je, a

sinteza mu raste kao odgovor na glukokortikoide, estrogene i druge spolne hormone, hormone štitnjače, citokine (npr. IL-1, TNF-α) i Ang II (18). Ova se tvar uz pomoć renina pretvara u dekapeptid angiotenzin I (Ang I), a on se zatim uz pomoć angiotenzin-konvertirajućeg enzima (ACE) koji se najvećim dijelom nalazi na endotelnim stanicama pluća, pretvara u oktapeptid Ang II koji je snažan vazokonstriktor i glavni aktivni produkt RAAS-a. ACE metabolizira i druge peptide, uključujući i vazoaktivne bradikinin i kalidin u inaktivne metabolite (19).

Danas RAAS nije više poznat samo kao cirkulirajući hormonalni sustav koji regulira promet elektrolita, tekućine i arterijski tlak, već se smatra da aktivno sudjeluje u patofiziologiji kardiovaskularnih i bubrežnih bolesti. Posljednjih godina sve je veći naglasak na RAAS kao poseban parakrini/autokrini sustav na razini tkiva, poznat kao tkivni RAAS, koji funkcionira neovisno o komponentama RAAS-a u sustavnoj cirkulaciji. Mnoge studije pokazale su važnost tkivnog RAAS-a u mozgu, srcu, bubrezima i perifernim krvnim žilama (20). Preduvjet ovoga cijeloga koncepta jest da se od svih komponenata kaskade lokalnog RAAS-a, Ang II mora stvarati isključivo u tkivu i u njemu se vezivati na receptore za Ang II na membranama stanica u kojima se stvara (autokrino djelovanje) ili na receptore susjednih stanica (parakrino djelovanje) (21). Posljednjih godina objavljeni su radovi koji ukazuju na mogućnost postojanja cjelovitoga intracelularnog RAAS-a, tzv. intrakrinog RAAS-a, čije se komponenete ne trebaju izlučivati u izvanstanični prostor da bi započele biološko djelovanje (22).

Prorenin je prethodnik aktivnog renina koji nastaje u JG stanicama odakle se izlučuje u cirkulaciju ili deponira u staničnim granulama. Omjer renin-prorenin u tim je stanicama i do 1:10 (23). Prevođenje neaktivne molekule prorenina u aktivnu molekulu renin, događa se izvan cirkulacije, točnije u endoplazmatskoj mrežici JG stanica bubrega djelovanjem aktivirajućeg enzima sličnog tripsinu (24). Trenutno još uvijek nema dovoljno podataka o ulozi prorenina u fiziološkim i patofiziološkim zbivanjima u ljudskom organizmu (25). Sealey i njegovi suradnici prvi su ukazali na mogućnost aktivne vazodilatacijske uloge prorenina kao protuteže vazokonstrikcijskom učinku Ang II (26). Velike količine prorenina nađene su u tekućini folikula ovarija, ali njegova moguća uloga u reprodukciji još je uvijek nepoznata (27). Visoke vrijednosti nađene su i u plazmi bolesnika s dijabetesom tipa I, osobito u onih s krvožilnim komplikacijama (28). Snižene vrijednosti prorenina Sealey je dokazao u plazmi hipertenzivnih bolesnika u odnosu na normotenzivne (26).

Renin je visokospecifični proteolitički enzim molekularne težine 42000 – 49000. Stvara se i pohranjuje u citoplazmatskim zrncima specijaliziranih mioepitelnih stanica JG aparata. Te su stanice smještene u zidu renalnih aferentnih arteriola na mjestu njihova ulaska u glomerul. Renin odvaja od N-terminalnog kraja AGT-a dekapeptid, nazvan angiotenzin, a reakcija renin - angiotenzin odvija se u cirkulaciji dok brzina te reakcije ovisi neposredno o količini AGT-a u plazmi. Poluživot renina u plazmi iznosi oko 15 minuta. Dugi niz godina kontrola izlučivanja renina bila je predmet opsežnih istraživanja pa se znanja o tom mehanizmu još uvijek dopunjuju i mijenjaju (29). Danas je stav da izlučivanje renina klasičnog cirkulirajućeg RAAS-a kontrolira nekoliko sustava, a ovisno o fiziološkim uvjetima jedan od njih obično preuzima dominantnu ulogu. Prvo je iznesena pretpostavka da JG stanice bubrega djeluju kao mehanoreceptori, koji reagiraju na promjenu perifernog tlaka u bubrezima (30). Van Dongen i Peart su ipak upozorili na mogućnost da inhibicija sekrecije renina nije posljedica renalne vazokonstrikcije, već da ona predstavlja mehanizam ovisan o ulasku izvanstaničnog kalcija u JG stanice (31). Velik broj radova pokazuje da makula densa, koja je osjetljiv senzor za Na^+ i Cl^-, reagira na promjenu koncentracije elektrolita u tubularnoj tekućini i na oslobađanje renina iz JG stanica. Vander i Miller pokazali su da se povećano oslobađanje renina zbiva u odgovoru na smanjeno opterećenje Na+ u tubularnoj tekućini na razini makule dense (32). Važno mjesto u regulaciji lučenja renina ima simpatički živčani sustav, zato što stimulacija bubrežne inervacije ili infuzija kateholamina povećava sekreciju renina (33). Pretpostavlja se da simpatička inervacija bubrega može mijenjati oslobađanje renina u različitim uvjetima, ali da nije nužna za oslobađanje renina iz JG stanica. Daljnja istraživanja pokazala su da podraživanje adrenergičkih β receptora potiče oslobađanje renina. Najnoviji podaci pokazuju da aktivacija unutrastaničnih α receptora koči oslobađanje renina iz JG stanica. Promjena koncentracije elektrolita, posebno Na^+, K^+ i Ca^{++}, ima određeni utjecaj na sekreciju renina (34). Istraživanja su pokazala da prostaglandinski sustav ima veliku ulogu u kontroli izlučivanja renina. Prostaglandini PGE2 i PGI2 povećavaju aktivnost renina u plazmi i utječu na njihovo oslobađanje iz JG aparata mehanizmom pozitivne povratne sprege (35). Uz to je potvrđeno i inhibitorno djelovanje Ang II i antidiuretskog hormona na mehanizam sekrecije renina.

Za renin se dugo mislilo da osim pretvorbe AGT-a u angiotenzin sam po sebi nema direktnog fiziološkog djelovanja, međutim neka su istraživanja u sklopu koncepta lokalnih, tkivnih RAAS-a, po prvi put pokazala da se ovaj enzim veže na reninske receptore membrana mezangijskih stanica u kulturi izazivajući staničnu hipertrofiju i povećanje razine inhibitor-1

aktivatora plazminogena (36, 37). Receptori su građeni od 350 aminokiselina s jednom transmembranskom domenom koja specifično veže prorenin i renin. Osim na mezangijskim stanicama u bubregu, pronađeni su i na membranama glatke muskulature koronarnih i bubrežnih arterija (38).

Određivanje plazmatske aktivnosti renina, u kliničkoj praksi, poslužilo je kao pouzdan parametar prilikom postavljanja dijagnoze nekih vrsta sekundarnih hipertenzija. Bolesnici s esencijalnom hipertenzijom mogu se podijeliti u grupe s niskom, normalnom i visokom plazmatskom reninskom aktivnošću, što je značajno u liječenju i prognozi bolesti. Gotovo u 90% bolesnika koji su imali povećanu plazmatsku aktivnost renina u sklopu renovaskularne hipertenzije, nakon operativnog zahvata došlo je do normalizacije krvnog tlaka (39). Značajno povećanje plazmatske aktivnosti renina u krvi bubrežnih vena sa zahvaćene strane nađeno je u bolesnika s hemangiopericitomom ili nefroblastomom. Može se naći i povećanje aktivnosti renina u plazmi i kod ciroze jetre, kongestivne srčane bolesti, nefrotskog sindroma, u tijeku normalne trudnoće i tijekom primjene estrogenskih kontracepcijskih sredstava (40). Snižena plazmatska aktivnost renina određena u bolesnika s primarnim aldosteronizmom značajan je diferencijalno-dijagnostički nalaz (41).

Supstrat renina nazvan AGT, glukoprotein je plazme, koji sadrži oko 14% ugljikohidrata, a biosinteza ovoga α2-globulina zbiva se u jetri, odakle dospijeva u plazmu (42). Postojanje cjelovitih lokalnih, tkivnih komponenti RAAS-a ukazuje i na lokalno stvaranje AGT nezavisno o procesu njegova nastajanja u klasičnom, cirkulacijskom RAAS-u (43). Mehanizam koji kontrolira razinu AGT u plazmi još nije poznat, međutim pretpostavlja se da bi Ang II mehanizmom pozitivne povratne sprege mogao poticati biosintezu AGT-a u jetri. Eskperimentalno je dokazano da razina glukokortikoida u plazmi pozitivno djeluje na proizvodnju AGT u jetri. Različita klinička istraživanja pokazala su da je razina AGT-a u plazmi smanjena u bolesnika s cirozom jere, nefrotskim sindromom i Addisonovom bolešću, a porast razine tog glukoproteina utvrđen je u trudnoći, u Cushingovu sindromu, malignoj hipertenziji, poslije davanja adrenokortikotropnog hormona, hormona kore nadbubrežne žlijezde, estrogena i poslije bilateralne nefroktomije (42).

Ang II po strukturi je oktapeptid te je glavni izvršni hormon RAAS-a. Svoje fiziološke učinke pokazuje pri koncentraciji od 100 pg/ml plazme, a u organizmu se veoma brzo razgrađuje djelovanjem grupe peptidaza, nazvanih angiotenzinaze (44). Poluživot Ang II određen in vivo traje 1,5 – 3 minute. Za fiziološku aktivnost Ang II od velikog je značaja

prisutnost fenil – alanina u položaju 8, kao i prisutnost slobodne karboksilne skupine na C-terminalnom kraju peptidanog lanca (45). Na temelju ovih zapažanja, sintetizirani su mnogobrojni kompetetivni inhibitori Ang II, koji su dali nove mogućnosti za bolja i potpunija istraživanja RAAS-a, i za neke terapijske primjene u kliničkoj praksi (46). Učinci Ang II ovise o vrsti receptora na koje ovaj enzim djeluje. Metodama molekularne biologije dokazana su četri tipa receptora za Ang II: tip1 (AT1), tip 2 (AT2), tip 3 (AT3) i tip 4 (AT4) (47).

Istraživanja AT1 receptora znatno su olakšana otkrićem njihovih selektivnih antagonista (48). Pripadaju grupi sedam-transmembranskih receptora vezanih za G proteine i javljaju se u dva oblika: AT1a i AT1b (47). Izravnim učinkom Ang II na AT1 receptore glatkih mišića krvnih žila izaziva snažnu vazokonstrikciju, a na AT1 receptore kore nadbubrežne žlijezde potiče stvaranje i lučenje aldosterona (49). U srži nadbubrežne žlijezde preko AT1 receptora pojačava lučenje kateholamina. Ang II preko AT1 receptora sprječava ponovno upijanje noradrenalina na simpatičkim živčanim završecima pa dovodi do povećane aktivnosti simpatikusa (50). Aktivacijom AT1 receptora, Ang II stimulira staničnu proliferaciju i stvaranje ekstracelularnog matriksa (47).

AT2 receptori pripadaju grupi od sedam transmembranskih receptora vezanih za G proteine s niskim postotkom istovjetnosti u aminokiselinskim sekvencama s AT1, svega oko 35% (51). Jako su izraženi u fetalnim tkivima, a kod odraslih u bubrezima, nadbubrežnim žlijezdama, srcu, mozgu, miometriju i ovarijalnim folikulima koji su u atreziji. Izravnim djelovanjem na AT2 receptor u membranama glatkih mišićnih stanica krvnih žila, Ang II izaziva vazodilataciju. Isti učinak Ang II ostvaruje stimuliranjem nastanka bradikinina i dušičnog oksida posrednim djelovanjem na ovaj receptor. Preko AT2 receptora, u krvnim žilama Ang II izražava antiproliferativne i apoptotičke učinke na stanice glatke muskulature što ukazuje na značaj AT2 receptora za rast i razvoj (52).

Uloga AT3 receptora još nije do kraja istražena, dok stimulacijom AT4 receptora Ang II potiče vaskularni integritet (47).

Aldosteron je hormon kojeg primarno luči zona glomeruloza kore nadbubrežne žlijezde. Aldosteron je najvažniji mineralokortikoid kojemu je glavna uloga održavanje volumena izvanstanične tekućine čuvanjem tjelesnog natrija (53). JG stanice bubrega reagiraju na smanjeni volumen cirkulirajuće tekućine lučenjem renina u periferni krvotok. Renin djeluje na angiotenzinogen (AGT) pri čemu nastaje dekapeptid Ang I. Djelovanjem

ACE-a plućnog podrijetla, Ang I se cijepa u oktapeptid Ang II. Taj se snažan vazokonstriktor veže na adrenalne membranske receptore zone glomeruloze i nakon toga kao drugi glasnici nastaju kalcij i produkti fosfatidil-inozitola. Protein-kinaza C premješta se u plazmatsku membranu i aktivira, a zatim se pospješuju dezmolani i 18-metilkortikosteroid-oksidazni stadiji u sintezi aldosterona. Aldosteron se veže s mineralokortikoidnim receptorom u ciljnim stanicama, a taj kompleks uzrokuje promjene u transkripciji. U tom mehanizmu bubreg je glavno mjesto mineralokortikoidnog djelovanja. Aldosteron u stanicama sabirnih te završnih dijelova distalnih zavijenih kanalića bubrega potiče aktivnu reapsorpciju natrija iz tubularne tekućine, a izlučivanje kalija iz tubularnih stanica u tubularnu tekućinu (53). Naglasak se više ne stavlja na tzv. „genomske" učinke aldosterona koji uključuju aktivaciju jezgrinih receptora i transkripciju gena, već se stavlja na „ne-genomske" učinke koji su brži, uključuju različite kinaze i fosforilaze, a za rezultat imaju povišen oksidacijski stres u stanici, upalu, fibrozu, interferiranje s unutarstaničnim signaliziranjem te utjecaj na funkciju endotela. Svi ti učinci izrazito su naglašeni u okruženju visokog unosa kuhinjske soli hranom, što je slučaj kod prekomjerno teških osoba i pretilih. Taj učinak rezultira oštećenjem ciljnih organa: srca, bubrega, gušterače, mozga te krvotvornih stanica (54, 55).

U bubregu aldosteron potiče upalu, fibrozu, proliferaciju mezangijskih stanica te oštećenje podocita uz nastanak proteinurije. Farmakološkom blokadom učinka aldosterona u bubregu dolazi do regresije proteinurije, a pospješuje preživljenje nakon kardiovaskularnog incidenta. Sukladno eksperimentalnim podatcima smatra se da je moguće da aldosteron stimulira aktivator inhibitora plazminogena, transformirajući čimbenik rasta beta 1 i toksične radikale kisika (56). U srcu djeluje izrazito aritmogeno jer potiče upalu i fibrozu sa stvaranjem okruženja koje je pogodno za nastanak aritmija i smetnja provođenja, a farmakološkom blokadom taj se učinak atenuira (57). Serumski aldosteron pridonosi nastanku metaboličkog sindroma mehanizmima koji uključuju inzulinsku rezistenciju, oksidativni stres, zadržavanje natrija i soli i volumno preopterećenje, pojačanom aktivnošću simpatikusa, povišenim razinama slobodnih masnih kiselina, upalnim citokinima, ali i adipokinima (58). U gušterači, mišićima i jetri, aldosteron putem mineralokortikoidnih receptora (MR) utječe na NADPH s posljedičnim stvaranjem toksičnih radikala kisika (ROS). Sve to nastavlja kaskadu fosforilaza i kinaza koje fosforiliraju unutarstanični dio inzulinskog receptora čineći ga pritom insuficijentnim. U gušterači potiču upalu i fibrozu. I to rezultira disfunkcijom toga organa. Periferno interferiraju s GLUT 2 i GLUT 4 kanalima u jetri i mišićima koji sudjeluju pri

unosu glukoze u stanicu te moduliraju sekreciju inzulina. Sve navedeno potiče hiperglikemiju i inzulinsku rezistenciju (59).

1.3. Sol i renin-angiotenzinski-aldosteron sustav (RAAS)

Kao što je već navedeno, prekomjeran je unos soli u svim dijelovima svijeta gorući problem te je sve prihvaćenija činjenica da visok unos soli ima štetan učinak na vaskularnu funkciju čak i u odsutnosti promjena arterijskoga tlaka. U fiziološkim uvjetima akutno i/ili dugoročno povišen unos soli suprimira lučenje renina te smanjuje aktivnost RAAS-a, dok ju redukcija unosa soli stimulira. S druge strane, promjene u aktivnosti RAAS-a igraju ključnu ulogu u etiopatologiji raznih patoloških stanja, kao što su bubrežne bolesti i bolesti kardiovaskularnoga sustava. U tim bolestima (npr. hipertenzija, kronično zatajenje srca, kronično zatajenje bubrega) prisutno je patološko povišenje aktivnosti RAAS-a, koji u početnim fazama bolesti predstavlja kompenzacijski mehanizam, ali s razvojem bolesti postaje aktivni supstrat progresije bolesti te krajnjega oštećenja organa.

Istraživanja su pokazala da normalna funkcija RAAS-a ima ključnu ulogu u održavanju arteriolarne strukture i normalne reaktivnosti krvnih žila (60). Nadalje, normalno funkcioniranje RAAS-a usko je povezano i s adrenergičkim sustavom kroz složenu interakciju brojnih signalnih putova, osobito između renina i simpatičke aktivnosti (61). Iako je od ranije poznato da je patološko povećanje aktivnosti RAAS-a prisutno u raznim bolestima, u zadnjih nekoliko godina postalo je sve evidentnije da i supresija RAAS-a i razine Ang II (kao kod visokog unosa soli u organizam) inducira više štetnih mehanizama koji su potencijalno povezani s povišenjem razine oksidativnog stresa u krvožilnom sustavu (60). Ta je pretpostavka potvrđena brojnim studijama na eksperimentalnim životinjama koje su pokazale da promjene u unosu soli značajno mijenjaju vaskularnu reaktivnost (čak i kod normotenzivnih životinja) kao posljedicu nastale endotelne disfunkcije koja je povezana s povećanom razinom oksidativnog stresa (62, 63, 64). Sve veći broj dokaza ukazuje na to da visokim unosom soli inducirani povećani oksidativni stres izaziva upravo niska razina Ang II te da normalno funkcionirajući RAAS ima zaštitni učinak u održavanju vaskularne funkcije (65). Za razliku od brojnih istraživanja na životinjama koja su istraživala međuodnos inhibicije RAAS-a, razine oksidativnog stresa te disfunkcije endotela, postoji svega nekoliko istraživanja na humanom modelu koja su istraživala ovo pitanje. Sukladno tome, jedno istraživanje pokazalo je da je blokada AT1 receptora u periodu od tjedan dana kod mladih zdravih žena na nisko slanoj dijeti uzrokovala značajno povećanje razine vazokonstriktivnog

metabolita arahidonske kiseline tromboksana (TXA2) u plazmi (66). Takvi rezultati upućuju na činjenicu da bi inhibicija normalne funkcije RAAS-a mogla uzrokovati povećanu produkciju vazokonstrikcijskih metabolita arahidonske kiseline te promjenu vazodilatacijskog fenotipa neaktivirane, "mirne" endotelne stanice u vazokonstrikcijski fenotip, što bi u konačnici moglo imati značajnu ulogu u promjeni i oštećenju vaskularne funkcije tijekom visokog unosa soli u organizam (66).

Zbog svega navedenoga, jasno je da određivanje aktivnosti RAAS-a ima važnu ulogu u procjeni količine unosa soli u organizam, kako u istraživačke svrhe, tako i u dijagnostici i u terapijskom praćenju različitih bubrežnih i kardiovaskularnih bolesti (67, 68, 69). Aktivnost RAAS-a i u kliničkoj se praksi i znanstveno-istraživačkom radu najčešće određuje mjerenjem plazma reninske aktivnosti (PRA) te koncentracije aldosterona u serumu ili plazmi. PRA je, za razliku od određivanja koncentracije renina, točniji pokazatelj aktivnosti RAAS-a zbog nekoliko razloga. PRA predstavlja mjeru brzine nastajanja Ang I putem enzimskog djelovanja renina na svoj ciljni supstrat AGT. Dakle, PRA ne ovisi samo o koncentracijama renina, već i o koncentraciji AGT-a, što ne vrijedi ukoliko se mjeri samo koncentracija renina. Razlog zašto se rutinski puno rjeđe određuje koncentracija Ang II u plazmi ili serumu taj je što se Ang II brzo razgrađuje angiotenzinazom (peptidaza) nakon svega 1 – 2 minute te zbog takve nestabilnosti u uzorcima krvi mjerenje koncentracije Ang II u krvi i dalje predstavlja izazov. Kako se koncentracija aldosterona u serumu ili plazmi puno lakše određuje, njegova koncentracija se uz PRA koristi kao prihvaćena mjera za procjenu aktivnosti RAAS-a u organizmu.

2. HIPOTEZA

Određivanje plazma reninske aktivnosti (PRA) te koncentracije aldosterona u serumu metodom ELISA predstavlja prikladnu mjeru procjene aktivnosti RAAS-a općenito te je prikladan indikator količine unosa kuhinjske soli u organizam. Visok unos soli uzrokovat će inhibiciju RAAS-a, a niski unos soli u organizam povećanu aktivnost RAAS-a.

3. CILJ ISTRAŽIVANJA

Ciljevi ovoga istraživanja su:

a) izmjeriti plazma reninsku aktivnost (PRA) metodom ELISA u ovisnosti o količini unosa kuhinjske soli u organizam u zdravih mladih ispitanika obaju spolova

b) izmjeriti koncentraciju aldosterona u serumu metodom ELISA u ovisnosti o količini unosa kuhinjske soli u organizam u zdravih mladih ispitanika obaju spolova

c) potvrditi međuovisnost količine unosa kuhinjske soli u organizam i aktivnosti RAAS-a određivanjem korelacije između unosa soli (u gramima) te PRA i koncentracije aldosterona u serumu.

4. MATERIJALI I METODE

4.1. Ispitanici

44 mladih zdravih ispitanika obaju spolova regrutirani su putem oglasa na Medicinskome fakultetu u Osijeku. Isključni kriteriji za ulazak u studiju bili su: hipertenzija ili hipotenzija, koronarna bolest, šećerna bolest, hiperlipidemija, bubrežno oštećenje, cerebrovaskularne bolesti ili bolesti perifernih krvnih žila. Isključni kriterij također je bio uzimanje lijekova koji mogu imati utjecaj na endotel. Svaki ispitanik detaljno je bio obaviješten o svim protokolima i procedurama ovoga istraživanja. Također, svaki ispitanik morao je potpisati informirani pristanak prije ulaska u protokol istraživanja. Protokol i postupci ispitivanja bili su u skladu sa standardima određenim posljednjom revizijom Helsinške deklaracije i odobreni su od strane Etičkog odbora Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Osijeku (Klasa: 602-04/17-08 /12, br.: 2158-61-07-17-42). Istraživanje je provedeno u Laboratoriju za kliničku fiziologiju i fiziologiju sporta (LKFFS) te Laboratoriju za molekularnu i kliničku imunologiju, Medicinskog fakulteta Osijek.

4.2. Ustroj studije

Ova je studija ustrojena kao nerandomizirani kontrolirani klinički pokus; ispitanicima su napravljena mjerenja prije i nakon tretiranja i protokola te su bili sami sebi kontrola. U istraživanju je sudjelovalo 44 mladih zdravih ispitanika, 24 žene i 20 muškaraca.

4.3. Protokol istraživanja i metode

Protokol istraživanja trajao je 21 dan. Tijekom studije svi ispitanici imali su tri posjeta LKFFS-u. Prvi posjet bio je prilikom ulaska u studijski protokol; drugi posjet bio je nakon 7 dana nisko-slane dijete (LS) ("wash-out period"); a treći posjet nakon 7 dana visoko-slane dijete (HS).

Tijekom studije svi ispitanici bili su na LS dijeti, koja podrazumijeva unos oko 2,3 g kuhinjske soli dnevno (DASH eating plan; US Department of Health and Human Services, 2006) kroz 7 dana. Nakon toga, svi ispitanici bili su 7 dana na HS dijeti koja je podrazumijevala unos oko 14 g soli dnevno. Kako bi svi ispitanici uzimali približno jednaku

količinu soli, i dalje su hranom unosili oko 2,3 g soli dok je ostatak soli bio nadomješten u obliku praha soli – 11,7 g dnevno.

Na početku svakog studijskog posjeta izmjereni su indeks tjelesne mase (BMI) i omjer struk-bokovi (eng. waist-to-hip ratio, WHR).

Također, krvni tlak (BP) i puls (HR) mjereni su na početku svakog posjeta, nakon 15 minuta mirovanja u sjedećem položaju, korištenjem automatskog oscilometrijskog monitora (OMRON, Osaka, Japan). Konačne vrijednosti BP i HR svakog studijskog posjeta bile su srednje vrijednosti triju ponovljenih mjerenja.

Svi ispitanici dobili su upute za prikupljanje 24h urina prije i poslije svakog protokola prehrane, kako bi se kontroliralo jesu li su se pridržavali zadanih uputa. Iz uzoraka 24h urina analizirane su koncentracije natrija, kalija, uree i kreatinina. Količina unosa soli u organizam određena je na temelju vrijednosti natriurije iz 24h urina (Na mmol/dU) koja je podijeljena s nazivnikom 17,1 i na taj način je dobivena (procijenjena) dnevna količina unosa NaCl u organizam u gramima.

Uzorak venske krvi uzet je prilikom svakoga studijskog posjeta nakon odmaranja u ležećem položaju kroz 30 min. Upotrebom podveze povećan je tlak u venama što ih je učinilo vidljivijima i time se smanjila mogućnost pogrešnih uboda kao i mogućnost oštećenja okolnih arteriola i živaca. Podveza se stavila 7 do 10 centimetara iznad mjesta uboda. Najčešće mjesto uboda pri uzorkovanju krvi bila je površinska, antekubitalna vena. Ukoliko ona nije bila dostupna, uzorkovanje se učinilo iz vena nadlanice. Mjesto venepunkcije dezinficirano je kako bi se izbjegla kontaminacija uzorka i infekcija na mjestu uboda. Koža je prebrisana sterilnom vatom ili gazom namočenom u 70% izopropanol ili etanol (70). Uzorci seruma prikupljeni su venepunkcijom u brzu serumsku epruvetu s crvenim čepom, a uzorci plazme u epruvetu za punu krv s ljubičastim čepom u kojoj se nalazi EDTA antikoagulans. BD Vacutainer® Plus epruvete za dobivanje seruma obložene su silikonom i mikroniziranim česticama silicijeva dioksida kako bi se ubrzalo zgrušavanje. Čestice na bijelom filmu s unutarnje površine aktiviraju zgrušavanje kada se epruvete miješaju preokretanjem. Silikonski premaz na stijenkama većine epruveta za dobivanje seruma smanjuje prianjanje crvenih stanica na stijenke epruvete. Uzorci plazme prikupljeni su u epruvetu s ljubičastim čepom u kojoj se nalazi EDTA kao antikoagulans. Epruvete s EDTA bile su ispunjene uzorkom više od polovice ili do oznake na njima kako bi se spriječilo razrjeđenje uzorka i dobivanje neadekvatnih rezultata. Uzorci seruma dobiveni venepunkcijom centrifugirani su unutar dva

sata od uzorkovanja, 10 minuta na 3500 rpm. Tim se postupkom odvojio serum od stanica, koji je poslužio za mjerenje koncentracija odabranih analita.

4.4. Određivanje plazma reninske aktivnosti (PRA) i koncentracije aldosterona ELISA metodom - (kompetetivni direktni enzimski imunoanalitički test)

Za određivanje plazma reninske aktivnosti (PRA) i koncentracije aldosterona u serumu koristila se metoda ELISA - kompetetivni direktni enzimski imunoanalitički test (*engl. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*).

Tehnike koje se baziraju na reakciji antigen-antitijelo mogu se podijeliti u dvije kategorije: neizravne i izravne odnosno indirektne i direktne. Visoka osjetljivost i visoka specifičnost reakcije antitijelo-antigen privukli su pozornost znanstvenika koji žele iskoristiti ta svojstva u potrazi za poboljšanim analitičkim tehnikama. Imunološke metode razvile su se kako bi se olakšalo proučavanje imunologije, posebno u antigen-antitijelo interakcijama (71).

Imunoenzimskim ELISA testom određuje se prisutnost i količina antigena. Reakcija ELISA temelji se na vezanju antitijela i antigena iz uzorka te spektrofotometrijskom mjerenju nastale reakcije do koje dolazi zbog promjene boje. Ovo je visoko osjetljiva i selektivna metoda kojom je moguće odrediti vrlo nisku koncentraciju analita od primjerice nekoliko ng po kg ispitivanog uzorka. Postoji više vrsta tehnika imunološkog određivanja pomoću testa ELISA: indirektna, "sendvič", konkurentna te nova višestruka i prijenosna metoda pomoću mikrotitarskih ploča (72).

Uvođenju ELISA metode u istraživanja prethodilo je otkriće da se topljivi antigen ili protutijela mogu vezati za čvrstu podlogu tako da se ne isperu puferiranom fiziološkom otopinom. U tu se svrhu rabe polistirenske mikrotitarske ploče četvrtastog oblika. Sama metodologija ELISA tehnika uključuje imobilizaciju jedne ili dvije komponente, tj. antigena ili antitijela na čvrstu podlogu. To uklanja probleme razdvajanja, budući da nakon reakcije između vezane i nevezane komponente jedna komponenta ostaje pričvršćena na čvrstu podlogu, a ostatak se jednostavno uklanja pri čemu ostavlja vezani reaktanat u obliku u kojem ga je moguće izmjeriti. Mjerenje predstavlja drugu prepreku koja je, s obzirom na metodologiju, riješena na način da se jedna komponenta, odnosno detektor antitijelo, obilježi enzimom. Nakon dodatka supstrata za enzim, reakcija rezultira mjerljivim promjenama intenziteta obojenja. Imunoenzimski testovi dolaze u mnogim oblicima i imaju brojne

primjene, a analitičarima su dostupni komercijalni testovi ili pak razvijaju specifične testove za svoje vlastite primjene. U konačnici izbor ovisi o samom laboratoriju (72).

U ovom istraživanju korišten je komercijalni kit za određivanje humanog PRA (PRA, Kat. br. DB52011, IBL International, Njemačka) i aldosterona (Aldosterone Elisa, Kat. br. KAPDB450, DIAsource ImmunoAssays, Belgija).

4.5. Statističke metode

Svi rezultati prikazani su kao srednja vrijednost aritmetičke sredine ± standardna devijacija (SD). Kliničke karakteristike prije i nakon održanih protokola uspoređivane su pomoću One-way ANOVA testa za zavisne uzorke (engl. One-way ANOVA Repeated Measures). Kada varijable nisu normalno raspodijeljene, primjenjivan je Wilcoxonov test sume rangova (engl. Wilcoxon rank-sum test). Za jednostavnu povezanost između dvaju parametara korištena je Pearsonova ili Spearmanova korelacija ovisno o normalnosti distribucije uzoraka. Statistička značajnost podešena je na $P<0,05$. Kako bi se postigla 80% snaga te razina značajnosti $p<0.05$, korištena je analiza veličine uzorka pomoću One-way ANOVA testa za zavisne uzorke. Za statističku analizu korišten je program SigmaPlot (version 11.2, Systat Software, Inc, Chicago, USA). Pomoću Sigma Plot v11.2 programa izračunata je i veličina uzorka te je ona za snagu testa od 0,8 i p vrijednost manju od 0,05 iznosila 20 ispitanika.

5. REZULTATI

5.1 Opći i antropometrijski parametri ispitanika

U studiji je sudjelovalo ukupno 44 ispitanika - 24 zdrave mlade žene i 20 zdravih mladih muškaraca.

Tablica 1. prikazuje podatke o dobi i antropometrijskim parametrima ispitanika prije i nakon odgovarajućih dijetnih protokola. Nakon obaju dijetnih protokola nije došlo do značajne promjene BMI-a i WHR-a, niti u žena niti u muškaraca.

Tablica 1. Opći i antropometrijski parametri ispitanika

	1. mjerenje **prije**	2. mjerenje **LS**	3 mjerenje **HS**	1. mjerenje **prije**	2. mjerenje **LS**	3 mjerenje **HS**
spol	Ž			M		
n	24			20		
dob (godine)	20 ± 2			21± 2		
BMI (kg/m^2)	23,3 ± 4,3	23,1 ± 4,2	23,3 ± 4,3	25,5 ± 4,7	25,4 ± 4,7	25,5 ± 4,7
WHR	0,74 ± 0,03	0,73 ± 0,03	0,72 ± 0,03	0,81 ± 0,06	0,81 ± 0,06	0,81 ± 0,05

Rezultati su izraženi kao srednja vrijednost aritmetičke sredine ± standardna devijacija (SD).

n – broj ispitanika; LS- prehrana s niskim udjelom soli (period ispiranja); HS – prehrana s visokim udjelom soli;

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

5.2 Hemodinamski parametri ispitanika

Tablica 2. prikazuje promjene hemodinamskih parametara prije i poslije odgovarajućih dijetnih protokola. Vrijednosti arterijskog tlaka značajno su se snizile nakon LS dijete („wash-out“ perioda) u ženskih ispitanika. S druge strane, HS dijeta nije uzrokovala značajne promjene arterijskoga tlaka niti u žena niti u muškaraca. Također, vrijednosti pulsa nisu se značajno mijenjale ovisno o dijetnom protokolu u ispitanika obaju spolova.

Tablica 2. Hemodinamski parametri ispitanika

	1. mjerenje **prije**	2. mjerenje **LS**	3 mjerenje **HS**	1. mjerenje **prije**	2. mjerenje **LS**	3 mjerenje **HS**
spol	Ž			M		
SBP (mmHg)	115 ± 9 *	109 ± 9	110 ± 10	129 ± 10	127 ± 7	127 ± 7
DBP (mmHg)	76 ± 8 *	73 ± 8	73 ± 8	78 ± 7	78 ± 7	75 ± 6
MAP (mmHg)	89 ± 7 *	85 ± 8	85 ± 9	95 ± 7	94 ± 7	93 ± 6
HR (otkucaja u minuti)	78 ± 15	77 ± 14	76 ± 11	78 ± 12	74 ± 9	73 ± 9

Rezultati su izraženi kao srednja vrijednost aritmetičke sredine ± standardna devijacija (SD).

LS- prehrana s niskim udjelom soli (period ispiranja); HS – prehrana s visokim udjelom soli;

SBP – sistolički arterijski tlak; DBP – dijastolički arterijski tlak; MAP – srednji arterijskit lak; HR – puls.

* p<0,05 Ž prije vs. LS, HS

5.3 Biokemijski parametri ispitanika

Vrijednosti natrija i kalija u serumu nisu bile značajno promijenjene prije i nakon obaju dijetnih protokola u obama spolovima. Očekivano, ekskrecija natrija u 24h urinu bila je statistički značajno snižena nakon LS dijete („wash-out“ perioda), a značajno povećana nakon HS dijetnog protokola u obama spolovima. Isto vrijedi i za izračunati dnevni unos soli na temelju 24h natrijureze. Ovi rezultati potvrdili su da su se ispitanici pridržavali dijetnog protokola. Volumen 24h urina i vrijednost kalija u 24h urinu nisu se značajno mijenjali ovisno o dijetnom protokolu u ispitanika obaju spolova. Svi navedeni biokemijski parametri opisani su u Tablici 3.

Tablica 3. Biokemijski parametri u serumu i 24h urinu ispitanika

	1. mjerenje **prije**	2. mjerenje **LS**	3. mjerenje **HS**	1. mjerenje **Prije**	2. mjerenje **LS**	3. mjerenje **HS**
Spol	Ž			M		
natrij u serumu (mmol/L)	137 ± 1,5	136,5 ±2,7	137,2 ±1,6	137,9 ±3,1	136,8 ±2,7	137,6 ± 1,6
kalij u serumu (mmol/L)	4,1 ± 0,3	4,1 ± 0,3	4 ± 0,2	4,1 ± 0,3	4 ± 0,2	4,2 ± 0,3
volumen 24h urina (mL)	1184±488	1269±537	1331±617	1368±573	1273 ±587	1487 ± 617
natrij u 24h urinu (mmol/dU)	122 ± 50	89 ± 37 *	216± 85†	153 ± 60	119 ± 48	275 ± 95‡
Izračunat unos NaCl (g/dan)	7,1 ± 2,9	5,2 ± 2,2 *	12,6 ± 5 †	8,4 ± 4,2	6,9 ± 2,8	16,1 ±5,5‡
kalij u 24h urinu (mmol/dU)	9	36 ± 15	43 ± 24	52 ± 22	55 ± 24	62 ± 29

Rezultati su izraženi kao srednja vrijednost aritmetičke sredine ± standardna devijacija (SD).

LS- prehrana s niskim udjelom soli (period ispiranja); HS – prehrana s visokim udjelom soli.

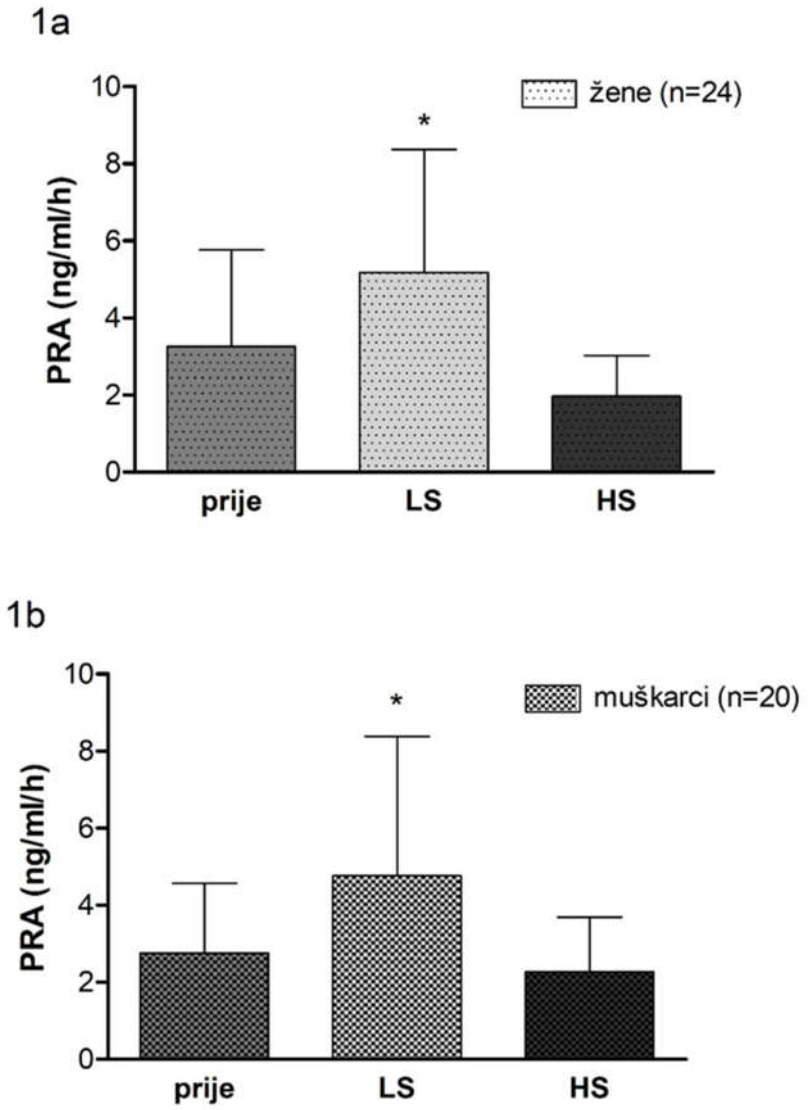
* p < 0,05 Ž LS vs. prije

† p<0,05 Ž HS vs. prije, LS

‡ P<0,05 M HS vs. prije, LS

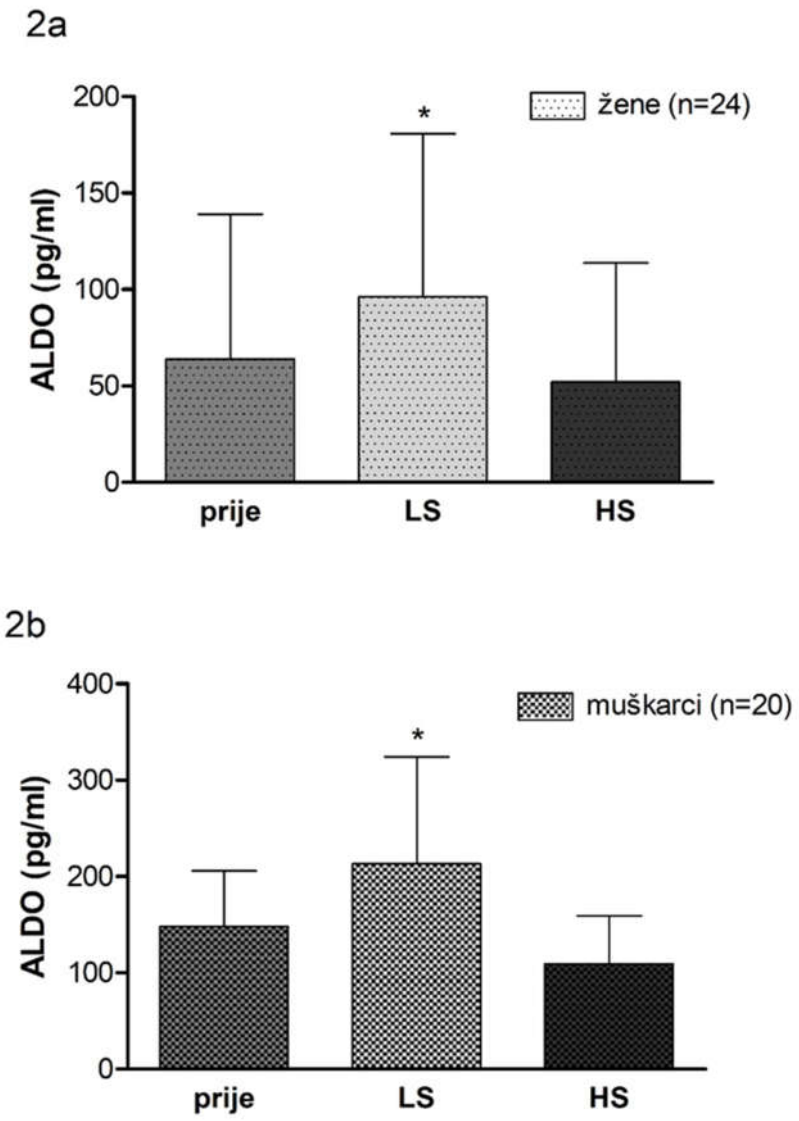
5.4 Plazma reninska aktivnost (PRA) i koncentracija aldosterona u serumu

Slika 1. prikazuje PRA prije i poslije provedenih dijetnih protokola u ženskih (1a) i muških ispitanika (1b). PRA je statistički značajno porasla nakon LS dijete i u žena i u muškaraca, dok je HS dijeta izazvala statistički značajno smanjenje PRA u ispitanika obaju spolova.



Slika 1. Utjecaj dnevnoga unosa kuhinjske soli u organizam na plazma reninsku aktivnost (PRA) u mladih zdravih žena (1a) i muškaraca (1b). *Rezultati su izraženi kao srednja vrijednost aritmetičke sredine ± standardna devijacije (SD). PRA- plazma reninska aktivnost; LS- prehrana s niskim udjelom soli (period ispiranja); HS- prehrana s visokim udjelom soli; n- broj ispitanika.* P<0,05 LS vs. prije, HS.*

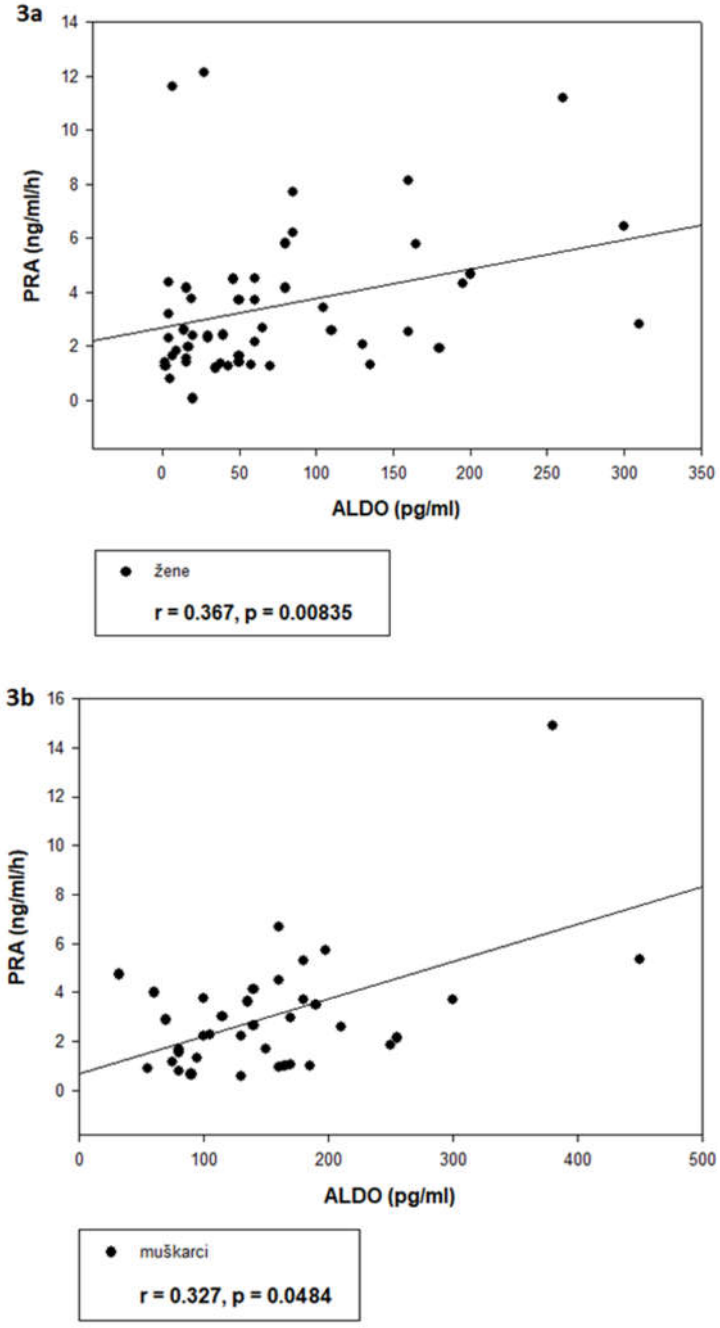
Slika 2. prikazuje koncentraciju aldosterona u serumu prije i poslije provedenih dijetnih protokola u ženskih (1a) i muških ispitanika (1b). Kao i PRA, koncentracija aldosterona statistički je značajno porasla nakon LS dijete i u žena i u muškaraca, dok je HS dijeta izazvala statistički značajno smanjenje koncentracije aldosterona u ispitanika obaju spolova.



Slika 2. Utjecaj dnevnoga unosa kuhinjske soli u organizam na koncentraciju aldosterona u serumu mladih zdravih žena (2a) i muškaraca (2b). *Rezultati su izraženi kao srednja vrijednost aritmetičke sredine ± standardna devijacije (SD). ALDO- aldosteron; LS- prehrana s niskim udjelom soli (period ispiranja); HS- prehrana s visokim udjelom soli; n- broj ispitanika.* P<0,05 LS vs. prije, HS.*

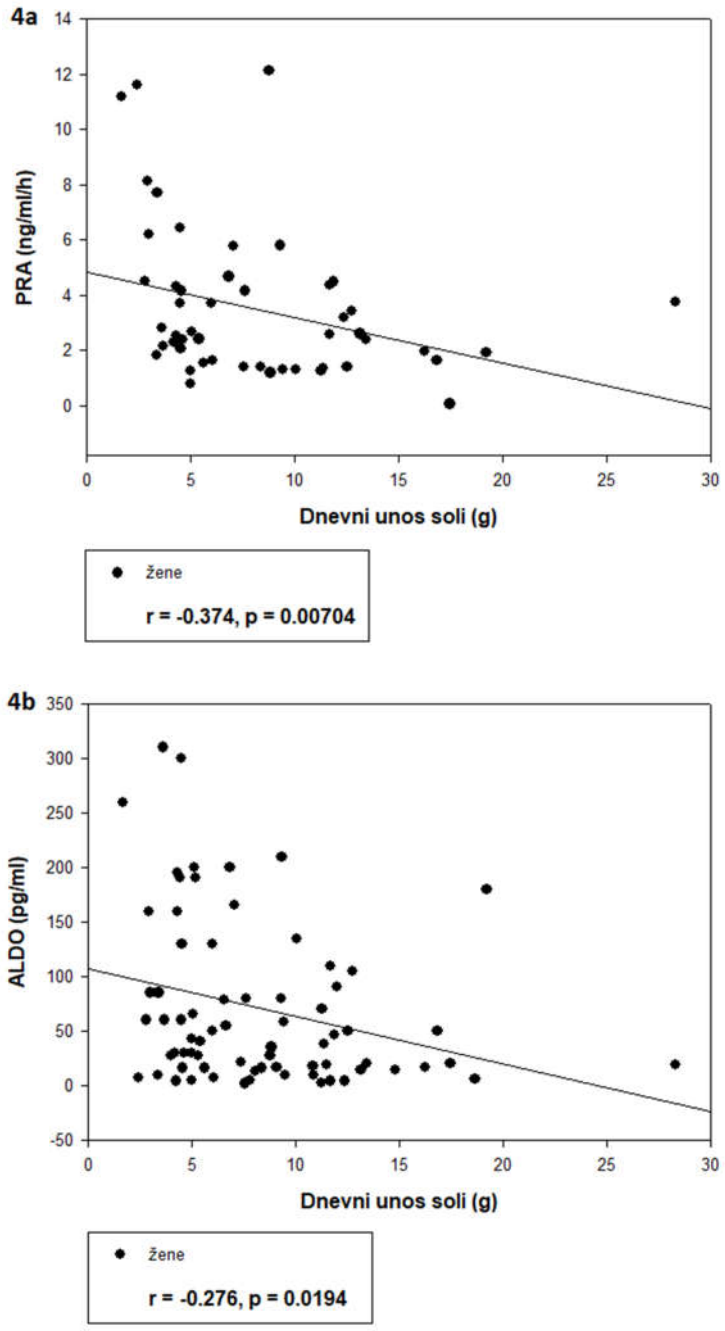
5.5. Povezanost dnevnoga unosa soli u organizam s plazma reninskom aktivnosti (PRA) i serumskom koncentracijom aldosterona u zdravh mladih žena i muškaraca

Slika 3. pokazaje povezanost PRA i aldosterona u mladih zdravih žena (3a) i muškaraca (3b). U obama spolovima nađena je statistička značajna pozitivna korelacija između PRA i koncentracije aldosterona u serumu.



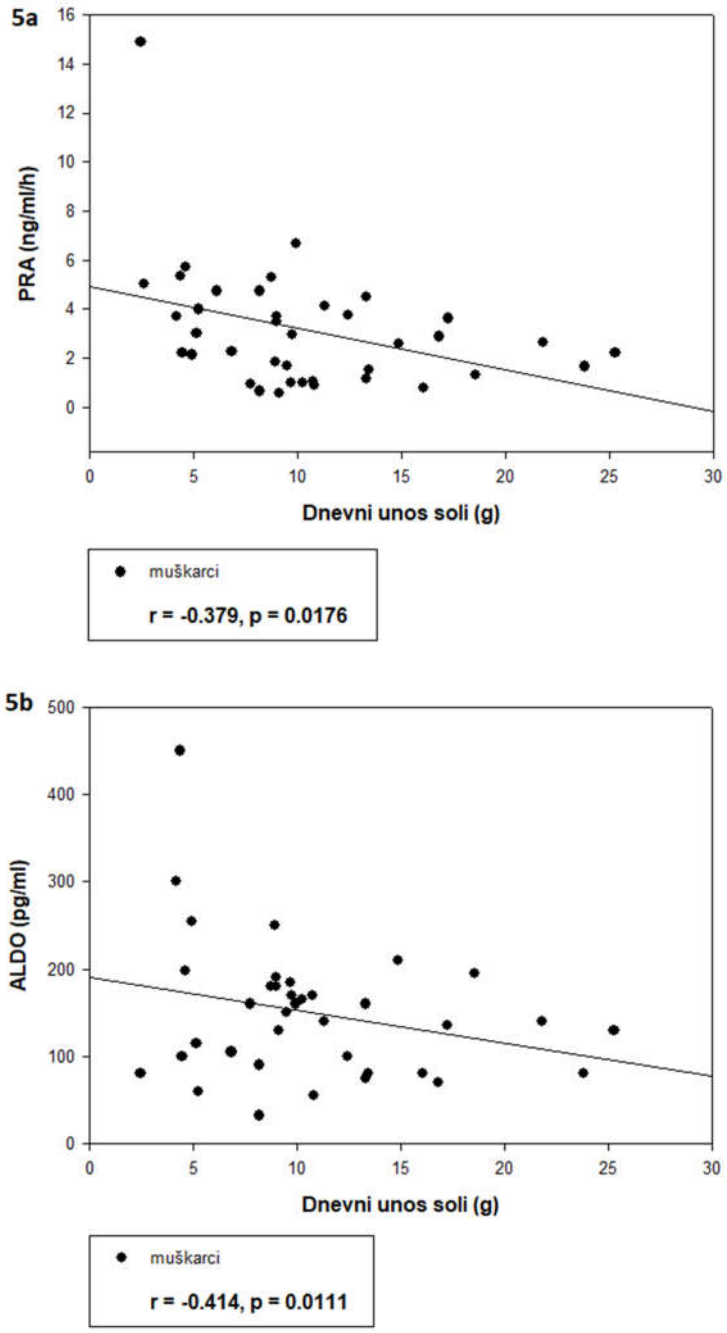
Slika 3. Povezanost plazma reninske aktivnosti i koncentracije aldosterona u serumu u zdravih mladih žena (3a) i muškaraca (3b). *PRA- plazma reninska aktivnost; ALDO- aldosteron; r- koeficijent korelacije.*

Slika 4. pokazuje povezanost dnevnoga unosa soli u organizam sa PRA (4a) i koncentracijom aldosterona u serumu u zdravih mladih žena. Nađena je statistički značajna negativna korelacija i između dnevnoga unosa soli i PRA (4a), kao i između dnevnoga unosa soli i koncentracije aldosterona (4b) u zdravih mladih žena.



Slika 4. Povezanost dnevnoga unosa kuhinjske soli s plazma reninskom aktivnosti (4a) i koncentracijom aldosterona u serumu (4b) u zdravih mladih žena. *PRA- plazma reninska aktivnost; ALDO- aldosteron; r- koeficijent korelacije.*

Slika 5. pokazuje povezanost dnevnoga unosa soli u organizam s PRA (5a) i koncentracijom aldosterona u serumu (5b) u zdravih mladih muškaraca. Isto kao i u žena, nađena je statistički značajna negativna korelacija između dnevnoga unosa soli i PRA (5a), kao i između dnevnoga unosa soli i koncentracije aldosterona (5b) u zdravih mladih muškaraca.



Slika 5. Povezanost dnevnoga unosa kuhinjske soli s plazma reninskom aktivnosti (5a) i koncentracijom aldosterona u serumu (5b) u zdravih mladih muškaraca. *PRA- plazma reninska aktivnost; ALDO- aldosteron; r- koeficijent korelacije.*

6. RASPRAVA

Najvažniji je rezultat ove studije da je tjedan dana prehrane s niskim udjelom soli značajno povećao aktivnost RAAS-a, a tjedan dana prehrane s visokim udjelom soli značajno inhibirao aktivnost RAAS-a u zdravih mladih žena i muškaraca. To se očitovalo značajnim povećanjem PRA, kao i serumske koncentracije aldosterona nakon dijete s niskim udjelom, odnosno smanjenjem PRA i aldosterona nakon dijete s visokim udjelom soli u zdravih mladih žena i muškaraca. Nadalje, ova studija potvrdila je postojanje snažne pozitivne povezanosti između PRA i serumske koncentracije aldosterona u zdravih mladih žena i muškaraca, a osim toga nađena je značajna negativna međuovisnost između dnevnoga unosa kuhinjske soli u organizam i aktivnosti RAAS-a u zdravih mladih ispitanika obaju spolova.

Kao što je već navedeno, RAAS ima ključnu ulogu u kontroli ravnoteže vode i soli u organizmu, a sukladno tomu bitan je regulator arterijskoga krvnog tlaka. Aktivnost RAAS-a kontrolira renin proteaza koja se otpušta iz bubrežnih JG epitelnih stanica u cirkulaciju. Otpuštanje renina regulirano je kompleksnim međudjelovanjem nekoliko hormona ili mehanizama koji djeluju lokalno, a jedan je od njih i dnevni unos soli u organizam (18). Dakle, smanjen unos soli u organizam potiče otpuštanje renina i povećanje aktivnosti RAAS-a, a povećana aktivacija RAAS-a zadržava sadržaj soli u organizmu. Time je uspostavljena klasična povratna petlja između sadržaja / količine soli u organizmu i otpuštanja renina iz bubrežnih JG epitelnih stanica u cirkulaciju, odnosno aktivnosti RAAS-a. Unatoč svojoj važnoj ulozi za homeostazu tjelesnih tekućina, precizni signalni putovi koji povezuju unos soli sa sintezom i otpuštanjem renina nisu još u potpunosti razjašnjeni (73). Također, kada je riječ o interakciji između unosa soli u organizam i aktivnosti RAAS-a te posljedičnih promjena vrijednosti arterijskoga tlaka, još uvijek su otvorena dva bitna pitanja: a) na koji način i kojim mehanizmima u određenom dijelu populacije s esencijalnom hipertenzijom postoji povećana aktivnost RAAS-a unatoč visokom unosu soli u organizam te b) može li inhibicija RAAS-a visokim unosom soli utjecati na vaskularnu i endotelnu funkciju neovisno o promjenama krvnoga tlaka (74).

Danas je opće prihvaćena činjenica da je visoki unos soli jedan od glavnih čimbenika rizika za razvoj i progresiju arterijske hipertenzije (7), a brojna eksperimentalna istraživanja potvrdila su jasnu povezanost unosa soli u organizam i vrijednosti arterijskoga krvnoga tlaka. Velik broj epidemioloških, evolucijskih i kliničkih ispitivanja potvrdio je da je unos soli važna determinanta u određivanju vrijednosti krvnoga tlaka, a time i prevalencije hipertenzije

u općoj populaciji. Svakako treba spomenuti epidemiološke studije koje upućuju na to da krvni tlak raste s dobi samo ako je popraćen povećanim unosom soli. Na primjer, Yanomamo Indijanci i dalje jedu hranu koja sadrži vrlo niske koncentracije soli, tj. manje od 50 mmol NaCl (2,9 g NaCl) (73, 75). U ovom neolitskom plemenu, kao i u mnogim sličnim populacijama širom svijeta, nema starosnog porasta krvnoga tlaka, a prevalencija hipertenzije manja je od 5%. Međutim, porast krvnoga tlaka zabilježen je kada su se članovi tih populacija preselili u zapadnjačka društva u kojima je unos natrija višestruko veći. Utjecaj ove promjene najočitiji je kod Aboridžina i Afroamerikanaca, koji imaju najveću prevalenciju hipertenzije uzrokovane solju (73% u usporedbi s 51% i 26% u ostalim hipertenzivnim i normotenzivnim skupinama) (74).

Smatra se da je utjecaj visoko slane dijete na krvni tlak uvelike povezan s razvojem endotelne disfunkcije, iako točni mehanizmi kao i patofiziološki slijed navedenih događanja još uvijek nisu u potpunosti razjašnjeni. Poznato je da su genetski čimbenici vrlo važni, a različite vrste štakora kao životinjski modeli pokazale su se vrlo korisnima u razumijevanju interakcije između unosa soli i hipertenzije. Hipertenzija uzrokovana visokim unosom soli općenito je povezana s nekim oblikom oštećene bubrežne funkcije, što rezultira smanjenom sposobnošću pojedinca da pravilno izlučuje natrij i vodu. Dijeta s visokim unosom soli obično smanjuje aktivnost RAAS-a, a time i razinu Ang II, fiziološkim mehanizmima kontrole razine krvnog tlaka. Ipak, u 40 - 50% populacije s esencijalnom hipertenzijom, nadbubrežne i bubrežne vaskularne reakcije na Ang II ne pokazuju očekivane promjene predviđene promjenama unosa soli u organizam, odnosno u njih je nađena povećana aktivnost RAAS-a i koncentracija Ang II unatoč povećanom unosu soli u organizam (76).

Nedavne studije pokazale su postojanje / prisutnost nekoliko strukturnih promjena gena koji kodiraju komponente RAAS-a, a koje su povezane s razvojem esencijalne hipertenzije u ljudi i životinja. Humana studija analize haplotipa autora Hasimu i suradnika (77) otkrila je značajno različitu distribuciju haplotipa gena za renin između normotenzivnih pojedinaca i ispitanika s esencijalnom hipertenzijom. Naime, povišene plazmatske razine renina bile su povezane s mutacijom na eksonu 9 te posljedično sa specifičnim genotipom i hipertenzijom, što upućuje na to da mutacija na eksonu 9 može utjecati na enzimatsku funkciju renina povećanjem njegove aktivnosti i time na njegovu uključenost u etiologiju hipertenzije (77). Nadalje, dvije genetske studije autora Giner i suradnika (78) te Poch i suradnika (79) istraživale su povezanost između hipertenzije osjetljive na sol i genetičkih polimorfizama RAAS-a kod ljudi. Rezultati tih studija pokazali su značajnu povezanost

između polimorfizma gena za ACE i hipertenzije osjetljive na sol. Pored toga, pacijenti osjetljivi na sol s polimorfizmom gena 11b-hidroksisteroid dehidrogenaze tipa 2 (11b-HSD2) izražavali su više vrijednosti krvnoga tlaka i manju supresiju aktivnosti renina u plazmi kao odgovora na povišeni unos soli u organizam, u usporedbi s hipertenzivnim bolesnicima koji su otporni na sol (79). Autori su zaključili da je polimorfizam ovih dvaju gena (ACE i 11b-HSD2) značajno povezan s hipertenzijom osjetljivom na sol (79). U studiji 284 japanska muškaraca (dob: 20-64 godine) koja je ispitivala interakciju između ACE polimorfizma i dnevnog unosa soli (80) nije nađena povezanost između polimorfizma ACE s razinama krvnoga tlaka ili hipertenzijom. Ipak, pokazana je povezanost između polimorfizma ACE i dnevnoga unosa soli, što upućuje na interakciju između gena i okoliša (80). Zanimljivo je napomenuti da su geni koji su prekomjerno izraženi u cerebralnoj arteriji nakon hipertenzije uzrokovane soli, regulirani Ang II (81).

Epidemiološke studije pokazale su da neke etničke populacije imaju veću incidenciju hipertenzije u usporedbi s ostalima. Afroamerikanci su skloniji povišenom tlaku od pripadnika bijele rase (82, 83), osjetljiviji su na sol i imaju tendenciju da razviju hipertenziju čak i uz manji unos natrija (84, 85, 86).

Nadalje, brojni autori istraživali su utjecaj unosa soli na promjene u lokalnom RAAS-u u različitim tkivima različitih vrsta štakora. Strehlow i suradnici (87) detektirali su „downregulaciju“ gustoće AT1 receptora u aorti te mRNA AT1 receptora u aorti i bubregu u štakora osjetljivih na sol koji su bili na visoko slanoj dijeti. Wang i Du pronašli su povišene razine mRNA AT1 receptora (88) u aorti i u otporničkim mezenterijalnim arterijama Wistar štakora koji su na visoko slanoj dijeti. Stewen i suradnici (89) pokazali su da je gustoća AT1 receptora povećana u bubrežnoj kori hipertenzivnih štakora nakon kroničnoga visokoga unosa soli. Bayorh i suradnici (90) istraživali su promjene razine aldosterona i Ang II u plazmi i tkivima Dahl štakora na visoko slanoj dijeti te su pokazali da je visoko slana dijeta uzrokovala smanjenje razine Ang II i aldosterona u plazmi, dok su njihove razine soli u srcu i bubrezima bile povećane (90). Zaključak autora bio je da visoko slana dijeta potiče neprikladnu lokalnu aktivaciju RAAS-a te da lokalne razine Ang II i aldosterona više odražavaju promjene u vaskularnoj prilagodbi od razina u plazmi i kao takve imaju važnu ulogu u održavanju hipertenzije (90).

Kao što je navedeno u uvodu, brojne studije na eksperimentalnim životinjama pokazale su da visok unos soli u organizam dovodi do oštećenja vaskularne reaktivnosti

uzrokovane nastankom endotelne disfunkcije (čak i u normotenzivnih životinja), a koja je povezana s povećanom razinom oksidativnog stresa (62, 63, 64). Zanimljivo je što postoji sve veći broj dokaza koji ukazuju na to da je oksidativni stres uzrokovan visokim unosom soli zapravo posljedica niske koncentracije Ang II i kako normalna funkcija RAAS-a djeluje zaštitnički na održavanje normalne vaskularne funkcije (65). Nedavna studija pokazala je da supresija RAAS-a visokim unosom soli dovodi do smanjene genske ekpresije antioksidanata u cerebralnim krvnim žilama i perifernim limfnim organima Sprague-Dawley muških štakora (91). Nadalje, rezultati jednoga istraživanja na humanom modelu pokazali su da blokada AT1 receptora u zdravih mladih žena, koje su se tjedan dana hranile dijetom s niskim udjelom soli, uzrokuje povećanje koncentracije vazokonstriktora tromboksana u plazmi, što ukazuje da inhibicija RAAS-a može imati važnu ulogu u regulaciji normalne vaskularne funkcije (66). Za razliku od brojnih istraživanja provedenih na životinjama, koja ukazuju na to da inhibicija RAAS-a uzrokuje povećanu razinu oksidativnog stresa i endotelnu disfunkciju, postoji svega nekoliko humanih studija koje se bave tim problemom, a moguća veza između inhibicije RAAS-a, endotelne disfunkcije i poremećene vaskularne funkcije u normotenzivnih ljudi i dalje je otvoreno pitanje.

Zaključno možemo reći da time što je visok unos soli uzrokovao inhibiciju, a niski unos soli u organizam povećao aktivnost RAAS-a, određivanje pojedinih komponenti RAAS-a (kao što su PRA ili koncentracija aldosterona u serumu) pokazao se kao prikladan indikator količine unosa kuhinjske soli u organizam u zdravih mladih ispitanika obaju spolova. Nadalje, određivanje navedenih parametara može poslužiti kao prikladna mjera procjene aktivnosti RAAS-a i u istraživačke i u kliničke svrhe, a budućim istraživanjima tek predstoji odgovoriti na pitanje kako unos soli u organizam utječe na aktivnost RAAS-a u zdravlju i bolesti (hipertenzija) te kako ta ista aktivnost RAAS-a utječe na kardiovaskularnu funkciju ovisno i neovisno o vrijednostima arterijskoga tlaka.

7. ZAKLJUČAK

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

- Tjedan dana prehrane s visokim udjelom soli značajno je inhibirao aktivnost renin-angiotenzinskog sustava, što se očitovalo značajnim smanjenjem plazma reninske aktivnosti, kao i serumske koncentracije aldosterona u zdravih mladih žena i muškaraca nakon tjedana dana dijete s visokim udjelom soli.

- Postoji snažna pozitivna povezanost između plazma reninske aktivnosti i serumske koncentracije aldosterona u zdravih mladih žena i muškaraca.

- Nađena je značajna negativna međuovisnost između dnevnoga unosa kuhinjske soli u organizam i aktivnosti renin-angiotenzinskog sustava.

- Time što je visok unos soli uzrokovao inhibiciju, a niski unos soli u organizam povećao aktivnost renin-angiotenzinskog sustava, određivanje pojedinih komponenti renin-angiotenzinskog sustava pokazao se kao prikladan indikator količine unosa kuhinjske soli u organizam u zdravih mladih ispitanika obaju spolova.

8. SAŽETAK

Ključne riječi: plazma reninska aktivnost, aldosteron, renin-angiotenzin-aldosteronski sustav, visoko slana dijeta, nisko slana dijeta

Cilj: Cilj ove studije bio je odrediti predstavljaju li izmjerena plazma reninska aktivnost (PRA) te koncentracija aldosterona u serumu metodom ELISA prikladnu mjeru procjene aktivnosti renin-angiotenzin-aldosteronskog sustava (RAAS-a) općenito te jesu li te vrijednosti prikladan indikator količine unosa kuhinjske soli u organizam.

Metode: U istraživanju je sudjelovalo 44 mladih zdravih ispitanika, 24 žene i 20 muškaraca. Svi ispitanici bili su 7 dana na dijeti s niskim udjelom soli (LS dijeta) (unos oko 2,3 g soli/dan), a zatim 7 dana na dijeti s visokim udjelom soli (HS dijeta) (unos oko 14 g soli/dan), te su imali ukupno tri studijska posjeta. Tijekom svakoga studijskoga posjeta (prije i poslije dijetnih protokola) ispitanicima su uzete antropometrijske mjere, izmjereni su arterijski tlak i puls te su uzeti uzorci venske krvi i 24h urina za procjenu pridržavanja dijetnog protokola te određivanje PRA i koncentracije aldosterona u serumu metodom ELISA.

Rezultati: Promjene unosa soli u organizam nisu uzrokovale promjene antropometrijskih parametara, pulsa te vrijednosti natrija i kalija u serumu ispitanika obaju spolova. LS dijeta je uzrokovala sniženje arterijskog tlaka u ženskih ispitanica, dok HS dijeta nije uzrokovala značajne promjene arterijskoga tlaka u ispitanika obaju spolova. Ekskrecija natrija u 24h urinu i izračunati dnevni unos soli bili su značajno sniženi nakon LS, a povećani nakon HS dijete u obama spolovima. LS dijeta značajno je povećala PRA, kao i serumsku koncentraciju aldosterona, dok je HS dijeta uzrokovala značajno smanjenje navedenih parametara. Nađena je značajna pozitivna korelacija između PRA i serumske koncentracije aldosterona te značajna negativna korelacija između dnevnog unosa kuhinjske soli u organizam i vrijednosti PRA odnosno aldosterona u serumu u ispitanika obaju spolova .

Zaključak: Postoji snažna pozitivna povezanost između PRA i serumske koncentracije aldosterona te značajna negativna međuovisnost između dnevnoga unosa kuhinjske soli u organizam i aktivnosti RAAS-a u ispitanika obaju spolova. Time što je visoki unos soli inhibirao, a niski unos soli u organizam povećao aktivnost RAAS-a, određivanje pojedinih komponenta RAAS-a pokazao se kao prikladan indikator količine unosa kuhinjske soli u organizam u zdravih mladih ispitanika obaju spolova.

9. SUMMARY

Keywords: plasma renin activity, aldosterone, renin-angiotensin-aldosterone system, high salt diet, low salt diet

Objective: The objective of this study was to determine whether the plasma renin activity (PRA) and concentration of aldosterone in the serum measured using the ELISA method represents a suitable measure for evaluating the activity of the renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS) overall, and whether those values represent a suitable indicator of table salt intake.

Methods: 44 young and healthy subjects participated in the research, 24 women and 20 men. All the subjects were on a low salt diet (LS diet) for a period of 7 days (salt intake around 2,3 g/day), and then on a high salt diet (HS diet) for a period of 7 days (salt intake around 14 g/day), and took part in three study visits. During each study visit (before and after implementation of dietary protocols) the subjects' anthropometric measurements were taken, arterial pressure and pulse were measured, venous blood and 24h urine samples were obtained for the purpose of assessment of adherence to the dietary protocols and determination of PRA and aldosterone concentration in the serum using the ELISA method.

Results: Changes in salt intake did not cause changes in anthropometric parameters, pulse, or the amounts of sodium and potassium in the serum in subjects of both sexes. The LS diet has caused a lowering of arterial pressure in female subjects, while the HS diet caused no significant changes in arterial pressure in subjects of both sexes. Excretion of sodium in 24h urine and the calculated daily salt intake were significantly lower after the LS diet, and elevated after the HS diet in both sexes. The LS diet has significantly increased the PRA, as well as the serum concentration of aldosterone, while the HS diet caused a significant decrease in said parameters. A significant positive correlation was discovered between the PRA and the serum concentration of aldosterone, and a significant negative correlation between the daily table salt intake and the amount of PRA or aldosterone in the serum in subjects of both sexes.

Conclusion: There is a definitive positive correlation between PRA and the serum concentration of aldosterone, and a significant negative interdependence between the daily table salt intake and the activity of RAAS in subjects of both sexes. Since the high salt intake inhibited, and the low salt intake increased the activity of RAAS, determination of certain

components of RAAS has been established as a suitable indicator of table salt intake in young, healthy subjects of both sexes.

10. LITERATURA

1. World Health Organization. Global status report on noncommunicable diseases 2010. Geneva: World Health Organization; 2011.

2. Kralj V, Brkić-Biloš I. Mortalitet i morbiditet od kardiovaskularnih bolesti. Cardiologia Croatica. 2013;8(10-11):373-8.

3. Mozaffarian D. Dietary and Policy Priorities for Cardiovascular Disease, Diabetes, and Obesity. Circulation 2016;133:187–225.

4. Mattes RD, Donnelly D. Relative contributions of dietary sodium sources. J Am Coll Nutr 1991;10:383–9.3.

5. WHO: The World Health Report 2002 – Reducing Risks, Promoting Healthy Life. Geneva: WHO; 2003.

6. Agostino Virdis, Emiliano Duranti, and Stefano Taddei: Review ArticleOxidative Stress and Vascular Damage in Hypertension: Role of Angiotensin II; (2011.)

7. Vrhovac B. i suradnici, Interna medicina, Zagreb, Naklada Ljevak, 2008

8. Jelaković B, Zeljković-Vrkić T, Pećin I i sur. Arterijska hipertenzija u Hrvatskoj. Rezultati EH-UH studije. Acta Med Croatica 2007;61:287–92

9. Jelaković B, Vuković I, Reiner Ž. Arterijska hipertenzija i kuhinjska sol. Acta Med Croatica 2010;64:105–10.

10. CUSHMAN WC, FORD CE, CUTLER JA i sur. Success and predictors of blood pressure control in diverse North American settings: the antihypertensive and lipid-lowering treatment to prevent heart attack trial (ALLHAT). J Clin Hypertens 2002;4:393-404.

11. Jelaković B, Kaić-Rak A, Miličić D, Premužić V, Skupnjak B, Reiner Ž. Manje soli – više zdravlja. Hrvatska inicijativa za smanjenje unosa kuhinjske soli (CRASH). Liječnički Vjesnik.2009; 131:87-92.

12. Weinberger MH. Salt sensitivity is associated with an increased mortality in both normal and hypertensive humans. J Clin Hypertens (Greenwich) 2002;4(4):274-6.

13. Čavka A, Ćosic A, Jukić I, Jelaković B, Lombard JH, Phillips SA, Šerić V, Mihaljević I, Drenjančević I. The role of cyclo-oxygenase-1 in high-salt diet-induced microvascular dysfunction in humans. J Physiol. 2015 Dec 15;593(24):5313-24. doi: 10.1113/JP271631.

14. Ćosić, Anita; Jukić, Ivana; Stupin, Ana; Mihalj, Martina; Mihaljević, Zrinka; Novak, Sanja; Vuković, Rosemary; Drenjančević, Ines. Attenuated flow-induced dilation of middle cerebral arteries is related to increased vascular oxidative stress in rats on a short- term high salt diet. // The Journal of Physiology. 594 (2016), 17; 4917-4931

15. Ljutić D., Jeličić I. 2010. Lijekovi koji djeluju na renin – angiotenzin – aldosteronski sustav, Medicus, No.2. 139-146

16. Marx LS, Maxwell MH. Tigerstedt and the discovery of renin. An historical note. Hypertension 1979;1:384-8

17. TIGERSTEDT R, BERGMAN P. Niere und Kreislauf. Arch Physiol 1989;8:223-71

18. ATLAS SA. The Renin-Angiotensin Aldosterone System: Pathophysiological Role and Pharmacologic Inhibition. J Manag Care Pharm. 2007;13:S9-20.

19. CAREY RM, SIRAGY HM. Newly recognized components of the renin-angiotensin system: potential roles in cardiovascular and renal regulation. Endocr Rev 2003;24:261-71.

20. Muller DN, Bohlender J, Hilgers KF, Dragnun D, Costerousse O, Menard J, et al. Vascular angiotensin converting enzyme expression regulates local angiotensin II. Hypertension 1997;29:98-104.

21. Johnston CI. Renin-angiotensin system: a dual tissue and hormonal system for cardiovascular control. J Hypertens 1992; Suppl 10:513-26.

22. Re RN. Implications of intracrine hormone action for physiology and medicine. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2003;284:H751-7

23. Hsueh WA, Baxster JD. Human prorenin. Hypertension 1991;17:469-79, Osmond DH, Sealey JE, McKenzie JK. Activation and function of prorenin: different viewpoints. Can J Physiol Pharmacol 1991;69:1308-14.

24. Griendling KK, Murphy TJ, Alexander RW. Molecular biology of the reninangiotensin system. Circulation 1993;87:1816-28.

25. Osmond DH, Sealey JE, McKenzie JK. Activation and function of prorenin: different viewpoints. Can J Physiol Pharmacol 1991;69:1308-14.

26. Sealey JE. Plasma renin activity and plasma prorenin assays. Clin Chem 1991;37:1811-19

27. Itskovitz J, Rubattu S, Rosenwaks Z, Liu HC, Sealey JE. Relationship of follicular fluid prorenin to oocyte maturation, steroid levels, and outcome on in vitro fertilization. J Clin Endocrinol Metab 1991; 72:165-71.

28. Wilson DM, Luetscher JA. Plasma prorenin activity and complications in children with insulin-dependent diabetes mellitus. N Enl J Med 1990;323:1101-6.

29. Skott O, Jensen BL. Cellular and intravenal control of renin secretion. Clin Sci 1993;84:1-10

30. Opshal JA, Smith KL, Murray RD, Abraham PA, Katz SA. Renin and renin inhibition in anephric man. Clin Exp Hypertens 1993;15:289-306

31. Van Dongen R, Peart WS. Calcium dependence of the inhibitory effect of angiotensin on renin secretion in the isolated perfused kidney of the rat. Br J Pharmac 1974;52:125-9

32. Vandr AJ, Miller R. Control of renin secretion in the anesthetized dogs. Am J Physiol 1964;207:537-45.

33. Coote JH, Johns EJ, Macleod VH, Singer B. Effect of renal nerve stimulation, renal blood flow and adrenergic blockade on plasma renin activity in the cat. J Physiol 1972;226:15-9

34. Sealey JE, Clark I, Bull MB, Laragh JH. Potassium balance and the control of renin secretion. J Clin Invest 1970;49:2119-27.

35. Henrich WL. Role of the prostaglandins in renin secretion. Kidney Int 1981;19:822-5

36. Nguyen G, Delarue F, Berrou J, Rondeau E, Sraer JD. Specific receptor binding of renin on human mesangial cells in culture increases plasminogen activator inhibitor-1 antigen. Kidney Int 1996;50:1897-1903.

37. Nguyen G, Bouzhir L, Delarue F, Rondeau E, Sraer JD. Evidence of a renin receptor on human mesangial cells: effects onPAI1 and cGMP. Nephrologie 1998;19:411-6

38. Nguyen G, Delarue F, Burckle C, Bouzhir L, Giller T, Sraer JD. Pivotal role of the renin/prorenin receptor in angiotensin II production and cellular responses to renin. J Clin Invest 2002;109:1417-27.

39. AbdAlla S, Lother H et Massiery A, Quitterer U. Increased AT1 receptor heterodimers in preeclampsia mediate enhanced angiotensin II responsiveness. Nat Med 2001;7:1003-9

40. Rosenthal J, Thurnreiter M, Plaschke M, Geyer M, Reiter W, Dahlheim H. Reninlike enzymes in human vasculature. Hypertension 1990;15:848-53

41. Doi Y, Atarashi K, Franco-Saenz R, Mulrow PJ. Effects of changes in sodium or potassium balance, and nephrectomy, on adrenal renin and aldosterone concentrations. Hypertension 1984;6:1124-9

42. Griendling KK, Murphy TJ, Alexander RW. Molecular biology of the reninangiotensin system. Circulation 1993;87:1816-28.

43. Engeli S, Negrel R, Sharma AM. Physiology and pathophysiology of the adipose tissue renin-angiotensin system. Hypertension 2000;35:1270-7.

44. Campbell DJ. Circulating and tissue angiotensin systems. J Clin Invest 1987;79:1-6

45. Levens NR, Freedlender AE, Peach MJ, Carey RM. Control of renal function by intrarenal angiotensin II. Endocrinology 1983;112:43-9

46. Siragy HM, Carey RM. Protective role of the angiotensin AT2 receptor in renal vascular hypertension in conscious rats. Hypertension 1999;33:1237-42.

47. De Gasparo M, Catt KJ, Inagami T, Wright JW, Unger TH. International Union of Pharmacology. XXIII The angiotensin receptors. Pharmacol Rev 2000;52:415-72

48. Tschope C, Schultheiss HP, Walther Z. Multiple interactions between the reninangiotensin and the kallikrein-kinin systems: role of ACE inhibition and AT1 receptor blockade. J Cardiovasc Pharmacol 2002;39:478-87.

49. Mulrow PJ, Franco-Saenz R. The adrenal renin-angiotensin system: a local hormonal regulator of aldosterone production. J Hypertens 1996;4:173-6

50. Wang JM, Slembrouck D, Tan J, Archens L, Leenen FHH, Courtoy PJ, Depotter WP. Presence of cellular renin-angiotensin system in chromaffin cells of bovine adrenal medulla. Am J Physiol 2002;283:H1811-18.

51. Mukoyanna M, Nakajima M, Horiuchi M, Sasamura H, Pratt RE, Dzau VJ. Expression cloning of type-2 angiotensin II receptor reveals a unique class of 7-transmembrane receptors. J Biol Chem 1993;268:24539-42.

52. Ozono R, Wang ZQ, Moore AF, Inagami T, Siragy HM, Carey RM. Expression of the subtype-2 angiotensin II (AT2) receptor protein in the rat kidney. Hypertension 1997;30:1238-46

53. Briet M, Schiffrin EL. Aldosterone: effects on the kidney and cardiovascular system. Nat Rev Nephrol. 2010; 6(5): 261-73

54. Schmidt BM, Sammer U, Fleischmann I, Schlaich M, Delles C, Schmieder RE. Rapid nongenomic effects of aldosterone on the renal vasculature in humans. Hypertension. 2006; 47(4): 650-5,

55. Fujita T. Mineralocorticoid receptors, salt-sensitive hypertension, and metabolic syndrome. Hypertension. 2010; 55(4): 813-8.

56. Sowers JR. Metabolic risk factors and renal disease. Kidney Int. 2007; 71(8): 719-20.

57. Kosmala W, Przewlocka-Kosmala M, Szczepanik-Osadnik H, Mysiak A, O'MooreSullivan T, Marwick TH. A randomized study of the beneficial effects of aldosterone antagonism on LV function, structure, and fibrosis markers in metabolic syndrome. JACC Cardiovasc Imaging. 2011; 4(12): 1239-49

58. Lastra-Lastra G, Sowers JR, Restrepo-Erazo K, Manrique-Acevedo C, LastraGonzalez G. Role of aldosterone and angiotensin II in insulin resistance: an update. Clin Endocrinol (Oxf). 2009; 71(1): 1-6.

59. Kamide K, Hori MT, Zhu JH, Takagawa Y, Barrett JD, Eggena P, et al. Insulin and insulin-like growth factor-I promotes angiotensinogen production and growth in vascular smooth muscle cells. J Hypertens. 2000; 18(8): 1051-6.

60. Drenjančević Perić I, Jelaković B, Lombard JH, Kunert MP, KibelA&Gros M. High-salt diet and hypertension: focus on the renin-angiotensin system. Kidney Blood Press Res 2011; 34: 1–11.

61. Guild SJ, McBryde FD, Malpas SC, Barrett CJ. High dietary salt and angiotensin II chronically increase renal sympathetic nerve activity. A direct telemetric study. Hypertension 2012; 59:614-620.

62. Drenjancević-Perić I, Frisbee JC, Lombard JH.Skeletal muscle arteriolar reactivity in SS.BN13 consomic rats and Dahl salt-sensitive rats. Hypertension. 2003;41(5):1012-5.

63. Phillips SA, Olson EB, Morgan BJ, Lombard JH. Chronic intermittent hypoxia impairs endothelium-dependent dilation in rat cerebral and skeletal muscle resistance arteries. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2004;286(1):H388-93.

64. Zhu J, Drenjančević-Perić I, McEwen S, Friesema J, Schulta D, Yu M, Roman RJ, Lombard JH. Role of superoxide and angiotensin II suppression in salt-induced changes in endothelial Ca2+ signaling and NO production in rat aorta. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2006;291(2):H929-38.

65. Drenjančević-Perić I, Lombard JH. Reduced angiotensin II and oxidative stress contribute to impaired vasodilation in Dahl salt-sensitive rats on low-salt diet. Hypertension. 2005;45(4):687-91.

66. Čavka A, Ćosić A, Grizelj I, Koller A, Jelaković B, Lombard JH, Phillips SA, Drenjančević I. Effects of AT1 receptor blockade on plasma thromboxane A2 (TXA2) level and skin microcirculation in young healthy women on low salt diet. Kidney Blood Press Res. 2013;37(4-5):432-42.

67. Shin SJ1, Lim C2, Oh SW3, Rhee MY4. The unique response of renin and aldosterone to dietary sodium intervention in sodium sensitivity. J Renin Angiotensin Aldosterone Syst. 2014 Jun;15(2):117-23. doi: 10.1177/1470320314526437. Epub 2014 Mar 12.

68. Sealey JE1, Gordon RD, Mantero F. Plasma renin and aldosterone measurements in low renin hypertensive states. Trends Endocrinol Metab. 2005 Apr;16(3):86-91.

69. Susan Cartledge1 and Nigel Lawson2. Aldosterone and renin measurements . Ann Clin Biochem 2000; 37: 262±278

70. Čvorišćec D, Čepelak I. Štrausova medicinska biokemija. Zagreb: Medicinska naklada; 2009.

71. Topić, Elizabeta: Medicinsko biokemijska dijagnostika u kliničkoj praksi, Medicinska naklada Zagreb, 2004.

72. D.Čvorišćec i I.Čepelak Molekularna dijagnostika;Štrausova Medicinska biokemija. Medicinska naklada Zagreb,2009.

73. James G, Baker T. Human population biology and blood pressure: evolutionary and ecological consideration and interpretations of population studies. In: Laragh JH, Brenner BM, editors. Hypertension, Diagnosis and Management. ed 2. New York: Raven Press; 1995. pp. 115–135

74. Weinberger MH. Salt sensitivity of blood pressure in humans. Hypertension. 1996;27:481–490.

75. Carvalho J, Baruzzi R, Howard P, Poulter P, Alpers M, Franco LJ, Marcopito LF, Spooner VJ, Dyer AR, Elliott P. Blood pressure in four remote populations in the Intersalt study. Hypertension. 1989;14:238–246

76. Williams GH, Hollenberg NK. Sodium-sensitive essential hypertension: emerging insights into an old entity. J Am Coll Nutr. 1989;8:490–494.]

77. Hasimu B, Nakayama T, Mizutani Y, Izumi Y, Asai S, Soma M, Kokubun S, Ozawa Y. Haplotype analysis of the human renin gene and essential hypertension. Hypertension. 2003;41:308–312.

78. Giner V, Poch E, Bragulat E, Oriola J, Gonzalez D, Coca A, De la Sierra A. Renin-angiotensin system genetic polymorphisms and salt sensitivity in essential hypertension. Hypertension. 2000;35:512–517.

79. Poch E, Gonzalez D, Giner V, Bragulat E, Coca A, de la Sierra A. Molecular basis of salt sensitivity in human hypertension. Evaluation of renin-angiotensin-aldosterone system gene polymorphisms. Hypertension. 2001;38:1204–1209

80. Zhang L, Miyaki K, Araki J, Song Y, Kimura T, Omae K, et al. Interaction of angiotensin I-converting enzyme insertion-deletion polymorphism and daily salt intake influences hypertension in Japanese men. Hypertens Res. 2006;29:751–758

81. Rose P, Bond J, Tighe S, Toth MJ, Wellman TL, Briso de Montiano EM, Lewinter MM, Lounsbury KM. Genes overexpressed in cerebral arteries following salt-induced hypertensive disease are regulated by angiotensin II, JunB, and CREB. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2008;294:H1075–H1085

82. Weinberger MH. Racial differences in renal sodium excretion: relationship to hypertension. Am J Kidney Dis. 1993;21(4 Suppl 1):41–45.

83. Hertz RP, Unger AN, Cornell JA, Saunders E. Racial disparities in hypertension prevalence, awareness, and management. Arch Intern Med. 2005;165:2098–2104.

84. Luft FC, Miller JZ, Grim CE, Fineberg NS, Christian JC, Daugherty SA, Weinberger MH. Salt sensitivity and resistance of blood pressure. Age and race as factors in physiological responses. Hypertension. 1991;17(Suppl 1):I102–I108

85. Richardson AD, Piepho RW. Effect of race on hypertension and antihypertensive therapy. Int J Clin Pharmacol Ther. 2000;38:75–79

86. Jamerson KA. Rationale for angiotensin II receptor blockers in patients with low-renin hypertension. Am J Kidney Dis. 2000;36(3 Suppl 1):S24–S30

87. Strehlow K, Nickenig G, Roeling J, Wassmann S, Zolk O, Knorr A, Böhm M. AT(1) receptor regulation in salt-sensitive hypertension. Am J Physiol. 1999;277:H1701–H1707.

88. Wang DH, Du Y. Regulation of vascular type 1 angiotensin II receptor in hypertension and sodium loading: role of angiotensin II. J Hypertens. 1998;16:467–475

89. Stewen P, Mervaala E, Karppanen H, Nyman T, Saijonmaa O, Tikkanen I, Fyhrquist F. Sodium load increases renal angiotensin type 1 receptors and decreases bradykinin type 2 receptors. Hypertens Res. 2003;26:583–589.

90. Bayorh MA, Ganafa AA, Emmett N, Socci RR, Eatman D, Fridie IL. Alterations in aldosterone and angiotensin II levels in salt-induced hypertension. Clin Exp Hypertens. 2005;27:355–367.

91. Ćosić A, Jukić I, Stupin A, Mihalj M, Mihaljević Z, Novak S, Vuković R, Drenjančević I. Attenuated flow-induced dilation of middle cerebral arteries is related to increased vascular oxidative stress in rats on a short-term high salt diet. J Physiol. 2016 Apr 8. doi: 10.1113/JP272297.

11. ŽIVOTOPIS

Osobni podaci:

Ime i prezime: Ana Ružić, r. Vrcan, univ. bacc. med. lab. diagn.

Datum i mjesto rođenja: 16. rujna 1985., Osijek

Adresa: Prolaz J. Leovića 1, Osijek

Telefon: 091/583-65-17

E-mail : anavrcan169@gmail.com

Obrazovanje:

2000. - 2004. godine: Medicinska škola, Osijek; smjer: zdravstveno-laboratorijski tehničar.

2010. - 2013. godine: Sveučilišni preddiplomski studij Biomedicinsko-laboratorijskih tehnologija, Medicinski fakultet Osijek, Sveučilište J.J. Strossmayera u Osijeku; zvanje: sveučilišna prvostupnica medicinsko-laboratorijske dijagnostike (univ. bacc. med. lab. diagn.).

2015. - do danas: Sveučilišni diplomski studij Medicinsko-laboratorijske dijagnostike, Medicinski fakultet Osijek, Sveučilište J.J. Strossmayera u Osijeku.

Radno iskustvo:

Klinički bolnički centar Osijek, Odjel za kliničku laboratorijsku dijagnostiku (ZKLD), na radnom mjestu prvostupnice medicinsko laboratorijske dijagnostike

- od 02. studenog 2004. godine do 01. studenog 2005. godine
- od 21. svibnja 2007. godine do danas