Učinak udisanja normobaričnog kisika na parametre elastičnosti arterijskih krvnih žila

Đelalija, Anđela

Master's thesis / Diplomski rad

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split, School of Medicine / Sveučilište u Splitu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:171:207558

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

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

SVEUČILIŠTE U SPLITU
MEDICINSKI FAKULTET
UNIVERSITAS STUDIORUM SPALATENSIS
FACULTAS MEDICA

Repository / Repozitorij:

MEFST Repository

zir.nsk.hr

UNIVERSITY OF SPLIT

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE U SPLITU
MEDICINSKI FAKULTET
I
KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET

Anđela Đelalija

UČINAK UDISANJA NORMOBARIČNOG KISIKA NA PARAMETRE ELASTIČNOSTI ARTERIJSKIH KRVNIH ŽILA

Diplomski rad

Akademska godina:
2018./2019.

Mentorica:
izv. prof. dr. sc. Ivana Mudnić, dr. med.

Split, listopad 2019.

SVEUČILIŠTE U SPLITU
MEDICINSKI FAKULTET
I
KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET

Anđela Đelalija

UČINAK UDISANJA NORMOBARIČNOG KISIKA NA PARAMETRE ELASTIČNOSTI ARTERIJSKIH KRVNIH ŽILA

Diplomski rad

Akademska godina:
2018./2019.

Mentorica:
izv. prof. dr. sc. Ivana Mudnić, dr. med.

Split, listopad 2019.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

Kemijsko tehnološki fakultet i Medicinski fakultet Split
Integrirani preddiplomski i diplomski studij FARMACIJA
Sveučilište u Splitu, Republika Hrvatska

Znanstveno područje: Biomedicinske znanosti
Znanstveno polje: Farmacija
Nastavni predmet: Farmakologija
Tema rada: je prihvaćena na 60. sjednici Vijeća studija Farmacija te potvrđena na 19. sjednici Fakultetskog vijeća Kemijsko tehnološkog fakuteta i 14. sjednici fakultetskog vijeća Medicinskog fakulteta.
Mentorica: izv. prof. dr. sc. Ivana Mudnić, dr. med.
Pomoć pri izradi: dr. sc. Diana Jurić, mag. pharm

UTJECAJ UDISANJA NORMOBARIČNOG KISIKA NA PARAMETRE ELASTIČNOSTI ARTERIJSKIH KRVNIH ŽILA

Anđela Đelalija, 148

Sažetak:

Uvod i cilj: Udisanje normobaričnoga kisika koristi se kao terapija u različitim bolestima. Kako se često koristi empirijski, bolesnici mogu biti izloženi značajnim periodima hiperoksije, što rezultira oksidativnim stresom, vazokonstrikcijom i pogoršanjem arterijske elastičnosti. S druge strane, brojne su studije pokazale kako umjerena konzumacija vina smanjuje rizik oboljevanja i smrtnosti od kardiovaskularnih bolesti, koje se vezuju uz vazokonstrikciju i oksidativni stres. Stoga je cilj istraživanja bio istražiti učinke umjerene konzumacije crnoga i crvenoga vina na parametre arterijske elastičnosti i krvni tlak prije i poslije hiperoksije.
Materijali i metode: U randomizirano ukriženo ispitivanje uključeni su naizgled zdravi ispitanici, muškoga spola, dobi od 44 do 55 godina, koji nisu bili liječeni lijekovima (N = 9). Studija je trajala deset tjedana; dva tjedna bez konzumacije ikakvih alkoholna pića (*drive in*), tri tjedna konzumacije crnoga ili crvenoga vina, zatim ponovno dva tjedna bez konzumacije ikakvih alkoholna pića (*wash out*), te tri tjedna konzumacije drugog, crvenog ili crnog vina. Tijekom tri tjedna ispitanici su uz obrok konzumirali 300 ml crnoga ili crvenoga vina sorte *Plavac mali*. Hemodinamski parametri, krvni tlak i arterijska elastičnost mjereni su uređajem *Arteriograph* (TensioMed TM, Budimpešta, Mađarska). Mjerenja su vršena na kraju svakoga perioda u kontrolnim uvjetima i nakon 30-minutnog udisanja 100%-nog normobaričnoga kisika.
Rezultati: Konzumacija vina nije dovela do promjena arterijskoga tlaka u kontrolnim uvjetima. Udisanje kisika u svakoj je fazi pokusa izazvalo povećanje arterijskoga tlaka, perifernog sistoličkog i dijastoličkog za oko 7 mm Hg, a središnjeg sistoličkog za 13 mm Hg. Periferni i središnji augmentacijski indeksi povećali su se za oko 30% nakon intervencije kisikom. Nakon konzumacije vina to je povećanje bilo manje, što je izraženije nakon konzumacije vina s većim sadržajem polifenola. Nakon intervencije kisikom uz konzumaciju vina povećanje središnjeg sistoličkog tlaka bilo je približno dvostruko manje, kao i vrijednosti AIx-a.
Zaključak: U kontrolnim uvjetima umjerena konzumacija vina ne utječe na ispitivane hemodinamske parametre. Udisanjem kisika pogoršava se arterijska elastičnost. Tijekom hiperoksije umjerenom konzumacijom vina, osobito onoga bogatijega polifenolima, postoji trend smanjenog pogoršanja arterijske elastičnosti.

Ključne riječi: arterijska elastičnost, augmentacijski indeks, središnji sistolički tlak, hiperoksija, vino

Rad sadrži: 60 stranica, 13 slika, 4 tablica, 3 priloga, 62 literaturne reference

Jezik izvornika: hrvatski

Sastav Povjerenstva za obranu:

1. izv. prof. dr. sc. Renata Pecotić	član – predsjednik
2. doc. dr. sc. Joško Božić	član
3. izv. prof. dr. sc. Ivana Mudnić	član – mentor

Datum obrane: 22. listopada 2019. godine

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Kemijsko-tehnološkog fakulteta Split, Ul. Ruđera Boškovića 35 i Medicinskog fakulteta Split, Šoltanska 2.

BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATE THESIS

Faculty of Chemistry and Technology and School of Medicine
Integrated Undergraduate and Graduate Study of Pharmacy
University of Split, Croatia

Scientific area: Biomedical sciences
Scientific field: Pharmacy
Course title: Pharmacology
Thesis subject: was approved by Council of Integrated Undergraduate and Graduate Study of Pharmacy, session no. 60 as well as by Faculty Council of Faculty of Chemistry and Techology, session no 19 and Faculty Council of School of Medicine, session no. 14.
Mentor: Ivana Mudnić, MD, PhD, assoc. prof.
Technical assistance: Diana Jurić, MPharm, PhD

THE EFFECTS OF NORMOBARIC OXYGEN BREATHING ON ARTERIAL STIFFNESS PARAMETERS

Anđela Đelalija, 148

Summary:

Introduction and objectives: Oxygen is used in the treatment of diverse medical conditions. Since it is often administered empirically, patients may be exposed to significant periods of hyperoxia. As a result, vasoconstriction and acute increase of arterial stiffness occur. Several studies have shown that moderate wine consumption reduces the risk of coronary heart disease, a disease related to vasoconstriction and oxidative stress. Our aim was to examine effects of 3 weeks' moderate consumption of red and rosé wine on arterial stiffness and blood pressure before and after acute hyperoxia.

Materials and methods: Apparently healthy male volunteers, age 44-55, non-treated with any chronic therapy, were recruited for randomized cross-sectional consumption trial (N = 9). The study lasted ten weeks; two weeks without any alcoholic beverages (*drive in*), followed by three weeks of red or rosé wine, then again two weeks without any alcoholic beverages (*wash out*) and finally three weeks of another, rosé or red wine. During wine consumption periods, the participants consumed 300 ml/day of each wine with meal. Hemodynamic parameters, blood pressure and arterial stiffness parameters were measured with an *Arteriograph* device (TensioMed TM, Budapest, Hungary). Measurements were performed at four time points, before and after each wine intervention, in control conditions and after 30 min of normobaric 100% O_2 breathing period.

Results: Wine consumption did not induce any change in blood pressure in control conditions. O_2 breathing at each stage of the experiment caused an increase in arterial pressure, peripheral systolic and diastolic by about 7 mm Hg and central systolic by 13 mm Hg. Central and peripheral augmentation index increased by around 30% after the intervention by O_2 breathing. After consumption of wine, this increase was less pronounced, which is more evident after consumption of wine with higher polyphenol content. O_2 breathing intervention during wine consumption period resulted with the increase in central systolic pressure and augmentation index, which were approximately twice as low in comparison to non-wine period.

Conclusion: Under control conditions, moderate wine consumption did not affect the hemodynamic parameters tested. O_2 breathing intervention impairs arterial stiffness. During hyperoxia, moderate consumption of wine, especially those rich in polyphenols, has a trend of decreased worsening of arterial stiffness.

Key words: arterial stiffness, augmentation index, central systolic pressure, hyperoxia, wine

Theses contains: 60 pages, 13 figures, 4 tables, 3 supplements, 62 references

Original in: Croatian

Defence committee:

1. Renata Pecotić, MD, PhD, assoc. prof.	chair person
2. Joško Božić, MD, PhD, assistant prof.	member
3. Ivana Mudnić, MD, PhD, assoc. prof.	supervisor

Defence date: 22th October 2019

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposed in Library of Faculty of Chemistry and Technology Split, Ruđera Boškovića 35 and Library of School of Medicine, Šoltanska 2.

SADRŽAJ PREMA POGLAVLJIMA

1. UVOD 1

1.1. Arterijske krvne žile 2

1.1.1. Arterijska elastičnost 3

1.1.2. Pokazatelji arterijske elastičnosti 4

1.1.3. Arterijska elastičnost i metabolički sindrom 7

1.1.4. Arterijska elastičnost i DM 2 8

1.2. Udisanje kisika; s jedne strane terapija, s druge oksidativni stres 8

1.2.1. Kisik kao terapija 8

1.2.2. Kisik kao oksidativni stres i čimbenik rizika 10

1.2.3. Oksidativni stres 10

1.3. Umjerena konzumacija vina 11

1.3.1. Vino, polifenoli i etanol 11

1.3.2. Utjecaj prehrane na elastičnost krvnih žila 15

2. CILJ ISTRAŽIVANJA 17

3.MATERIJALI I METODE 19

3.1. Kriteriji uključenja i dizajn studije 20

3.2. Pokusna vina 23

3.3. Postupci 24

3.3.1. Uzimanje anamnestičkih podataka i antropometrijsko mjerenje 24

3.3.2. Ispitivanje prehrambenih navika ispitanika 24

3.3.3. Mjerenje arterijskog tlaka 24

3.3.4. Periodično uzimanje krvi 25

3.3.5. Mjerenje hemodinamskih parametara i parametara arterijske elastičnosti 25

3.3.5.1. *Arteriograph* 25

3.3.6. Udisanje kisika 27

3.7. Statistička analiza 28

4. REZULTATI....29
5. RASPRAVA....39
6. ZAKLJUČCI....44
7. POPIS CITIRANE LITERATURE....46
8. SAŽETAK....51
9. SUMMARY....53
10. ŽIVOTOPIS....55
11. PRILOZI....57

Zahvala

Najveće hvala mojim roditeljima i sestri koji su mi bili najveća podrška ovih pet godina studiranja, ali i svaki korak prije toga, koji su mi pružali neizmjernu ljubav te cijeloj svojoj obitelji.

Hvala mojim prekrasnim prijateljicama što postoje i što me čine boljom osobom svaki dan. Bez njih ovi dani studiranja ne bi bili isti.

Veliko hvala asistentici Diani Jurić koja mi je nesebično pomagala i odgovarala na svako moje i najmanje pitanje vezano uz diplomski rad, a uz njezin optimizam sve neizvedivo postajalo je izvedivo.

Mojoj prekrasnoj mentorici, profesorici Ivani Mudnić, ogromno hvala! Hvala Vam na Vašem nesebičnom davanju vremena, znanja i vještina da bi zajedno zaokružili ovaj rad. Hvala na svakom savjetu. Bila mi je neopisiva čast raditi na studiji s Vama i s fantastičnom ekipom.

Povrh svega, hvala dragom Bogu, uz Njegovu pomoć sve je moguće.

POPIS POKRATA I OZNAKA

AIx	augmentacijski indeks
aAIx	aortni (središnji) augmentacijski indeks
ANOVA	analiza varijance
bAIx	brahijalni (periferni) augmentacijski indeks
BMI	indeks tjelesne mase (engl. *body mass index*)
$cP_{sist.}$	središnji sistolički tlak
DM 2	dijabetes melitus II
EDHF	endotelni hiperpolarizirajući čimbenik (engl. *endothelium-derived hyperpolarizing factor*)
EPC	endotelne progenitorne stanice (engl. *endothelial progenitor cells*)
H_2O_2	vodikov peroksid
HBOT	engl. *hyperbaric oxygen therapy*
GAE	ekvivalent galne kiseline (engl. *gallic acid equvalent)*
NO	dušikov oksid

O_2	kisik
$P_{diast.}$	dijastolički tlak
PP	pulsni tlak (engl. *pulse pressure*)
$P_{sist.}$	sistolički tlak
PWV	brzina pulsnog vala (engl. *pulse wave velocity*)
ROS	reaktivni oblici kisika (engl. *reactive oxygen species*)

1. UVOD

1.1. Arterijske krvne žile

Arterije imaju jake stijenke, dovode krv pod visokim tlakom iz srca u tkiva i krv u njima protječe velikom brzinom. Srce i cirkulacijski sustav različitim mehanizmima održavaju određen srčani minutni volumen i arterijski tlak koji će tkivima osigurati potreban krvni protok. Arteriole su mali krajnji ogranci arterijskoga sustava koji djeluju poput kontrolnih ventila kojima se krv dalje propušta u kapilare. Njihova snažna mišićna stijenka rezultira sposobnošću promjene protoka krvi kroz svako tkivo ovisno o tkivnim potrebama. Nadalje, bitno je istaknuti i kako je srčani minutni volumen, sukladno osnovnim načelima cirkulacije, zbroj svih lokalnih tkivnih protoka. Kada krv prođe kroz tkivo odmah se potom venama vraća u srce. Arterijski tlak nadzire se neovisno o nadzoru lokalnog krvnog protoka i srčanog minutnog volumena. Različiti živčani refleksi za nekoliko sekunda potaknu niz cirkulacijskih promjena koje mogu promijeniti tlak. U sistemskom je krvotoku ukupno 84% ukupnog volumena krvi u tijelu, od čega je svega 13% u arterijama, a 7% u sistemskim arteriolama i kapilarama. Ostalih 16% od ukupnog volumena nalazi se u srcu i plućima (1).

Glavna raspodjela arterijskih krvnih žila obuhvaća tri vrste: arteriole, mišićne arterije i elastične arterije. Arteriole su najmanje, relativno im je malen lumen, ali imaju debele mišićne stijenke. Zapravo, tonus glatkog mišićja u arteriolama glavni je čimbenik koji određuje arterijski tlak. Ukoliko je tonus mišića iznad normalnoga, nastaje povišeni krvni tlak, odnosno hipertenzija. Mišićne arterije odvode krv u različite dijelove tijela, zbog čega se nazivaju još i distribucijske arterije. Karakterizira ih kružno raspoređeno glatko mišićje koje kontrakcijom može suziti promjer arterije. Dotok krvi u skeletne mišiće na taj način pojačava se tijekom mišićnog rada. Elastične arterije najveće su u tijelu; aorta, primjerice, ima promjer oko 2 cm. Njihove stijenke najvećim su dijelom građene od elastina i kolagena. Elastičnost tih krvnih žila održava krvni tlak u arterijskom sustavu; šire se kad srce izbaci krv u njih, a vraćaju u normalan oblik između srčanih stezanja. Vanjski dio stijenke elastičnih arterija (*tunica adventitia*) ima na sebi posebne arterije (*vasa vasorum*) koje donose kisik i hranidbene tvari. Ateroskleroza je najčešći stečeni poremećaj arterija, a odnosi se na nakupine ovapnjenih masnih naslaga na unutarnjoj strani arterije. Komplikacije su ateroskleroze uglavnom ishemijska bolest srca, infarkt miokarda, moždani udar i gangrena.

Iz srca direktno izlazi plućna arterija, koja pripada malome krvotoku, i aorta, početna arterija velikoga krvotoka. Sve arterije imaju kolateralne (postranične) i terminalne (krajnje) ogranke.

Idući prema perifernim tkivima smanjuje se promjer arterija, a uz to i debljina arterijske stijenke. Stijenka arterije ima tri sloja: *tunica interna (intima)* – unutarnji sloj građen od endotelnih stanica i elastičnih niti, *tunica media (muscularis)* – srednji sloj građen od glatkih mišićnih vlakana koja su postavljena uzdužno i kružno, a kod aorte i koso, te *tunica externa (adventitia)* – vanjski sloj građen od vezivnoga tkiva u kojem može biti i krvnih žila. Arterije teku uvijek u dubini tkiva bliže kosturu od kojega su odijeljene slojem mišića te najčešće prolaze s fleksorne strane zglobova. Samim time manje su izložene ozljedama. Ukoliko dođe do djelomičnog ili potpunog začepljenja jedne arterije, druge se mogu proširiti i preuzeti njenu ulogu tako da i dalje određeni organ opskrbljuju krvlju. Preko kapilarne mreže one prelaze u vene (2).

1.1.1. Arterijska elastičnost

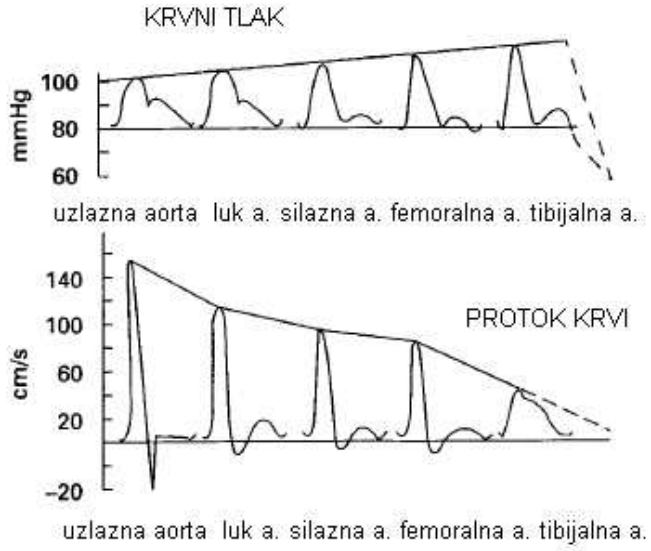
Arterijski sustav mijenja se s godinama, strukturno i funkcionalno slabi, a što se vidi po endotelnoj disfunkciji, zadebljanju stijenki i povećanju krutosti arterijskih krvnih žila (3). Rastegljivost krvnih žila svojstvo je koje je izraženije na venama nego na arterijama, a definira se kao prirast volumena koji nastane kad se tlak povisi za 1 kPa. Drugi pojam, srodan, ali različit od pojma rastegljivosti, jest popustljivost krvnih žila. Ona označava ukupnu količinu krvi koju određeni dio cirkulacijskog sustava može primiti uz povišenje tlaka od 1 kPa. Matematički, popustljivost je jednaka umnošku rastegljivosti i volumena. Protok krvi kroz krvnu žilu određuju dva čimbenika – razlika tlakova krvi između dvaju krajeva žile i žilni otpor. Prema Ohmovom zakonu protok krvi proporcionalan je razlici tlakova, a obrnuto proporcionalan otporu. Sa svakim srčanim otkucajem nova količina krvi puni arterije; tlak pulsa stvara se na početnom dijelu aorte i širi duž arterijskog stabla, a definira kao razlika sistoličkog i dijastoličkog tlaka, odnosno tlaka na vrhuncu i na najnižoj točki svakoga pulsa (1).

Elastičnost arterijskih krvnih žila posljedica je fizikalnih svojstava stijenke kao kompozitnog materijala u kojoj se na poseban način isprepliću kolagenska i elastinska vlakna. Elastičnost se može vrednovati pomoću procjene brzine pulsnoga vala (engl. *pulse wave velocity,* PWV) te analizom oblika pulsnih valova i augmentacije pomoću augmentacijskog indeksa (AIx). Mjeriti se može središnja i periferna elastičnost krvnih žila preko radijalne i brahijalne arterijske krvne žile, odnosno karotidne i femoralne arterije (3). Smanjenje elastičnosti krvnih žila, odnosno

povećanje krutosti, predstavlja nezavisni rizični čimbenik za razvoj kardiovaskularnih bolesti i štetnih događaja. Također je pokazatelj "starosti" krvnih žila (4).

1.1.2. Pokazatelji arterijske elastičnosti

Pulsni val važan je parametar za razumijevanje elastičnosti arterijske stijenke. Prikazuje kardiovaskularnu prilagodbu u smislu što bolje učinkovitosti. Starenjem nastaju promjene u vrijednostima pulsnoga vala, što prikazuje odstupanje od optimalnog međudjelovanja srca i arterijskoga sustava. Pulsni tlačni val je sila koja nastaje po jedinici površine arterijske stjenke zbog volumena krvi koji se iz lijeve klijetke izbacuje u arterijsko stablo u srčanom ciklusu. Udarni pulsni val putuje kroz arterijsko stablo te se odbija na periferiji. Nastanak razlike u tlakovima pulsa posljedica je razlika u veličini promjera arterija i njihove elastičnosti. Primjerice, smanjenjem veličine promjera, tlak u arteriji raste, a protok krvi pada, što se i vidi na Slici 1 u nastavku. Povećanje tlaka u perifernim arterijama posljedica je njihove smanjene elastičnosti u odnosu na aortu.

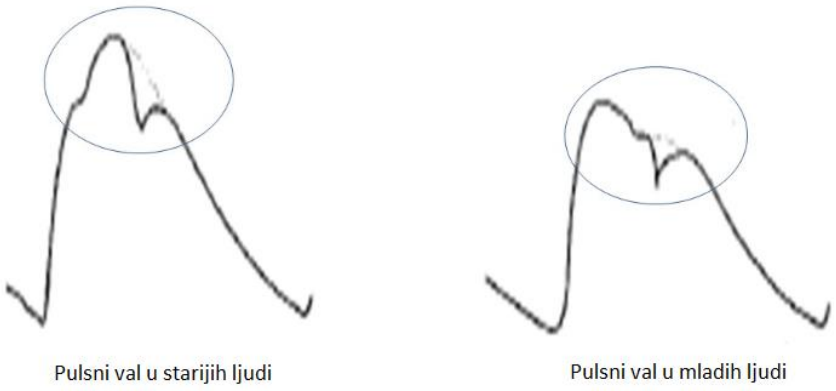


Slika 1. Prikaz odnosa tlaka i protoka u krvnim žilama *(Izvor: Agabiti-Rosei E, Mancia G, O'Rourke MF, Roman MJ, Safar ME, Smulyan H, et al. Central blood pressure measurements and antihypertensive therapy: a consensus document. Hypertension. 2007;50(1):154-60. Epub 2007/06/15*)

.

Ovisno o karakteristikama arterijskoga sustava i snage kontrakcije lijeve klijetke nastaje tlak u uzlaznoj aorti, a ovisno o arterijskoj elastičnosti i veličini početnog tlaka počinje putovanje

početnog pulsnoga vala koji se reflektira na preprekama, najčešće grananjima unutar arterijskog stabla. Unutar jedne izmjene sistole i dijastole, odnosno jednoga srčanog ciklusa, val nastane, širi se, a reflektirani se val vraća i spaja s početnim. Tlačni val snimljen u bilo kojoj točki arterijskoga stabla zbroj je tlakova početnoga i odbijenoga vala, odnosno reflektiranoga na periferiji. Tlak odbijenoga vala uvijek se pridodaje tlaku početnog vala. Ako odbijeni val putuje velikom brzinom kao u starijih ljudi, vraća se rano do uzlazne aorte te se zbraja s početnim valom rano tijekom srčanog ciklusa. Zbog toga se tijekom sistole stvara sekundarni sistolički tlak, čija je amplituda veća nego amplituda početnog vala. U mladih je ljudi brzina pulsnog vala manja, budući da reflektirani val interferira kasnije, odnosno glavni učinak reflektiranog vala očituje se za vrijeme dijastole. Oblik pulsnoga vala s obzirom na dob prikazan je na Slici 2.



Slika 2. Razlika u obliku pulsnog vala ovisna o dobi (*Izvor: Mikael LR, Paiva AMG, Gomes MM, Sousa ALL, Jardim P, Vitorino PVO, et al. Vascular Aging and Arterial Stiffness. Arquivos brasileiros de cardiologia. 2017;109(3):253-8. Epub 2017/07/06.)*

Brzinu pulsnoga vala (PWV) određuje elastičnost arterijske stijenke. Što su arterije više elastične, to pulsni val putuje sporije, i obrnuto. Valna refleksija važna je u određivanju punjenja lijeve klijetke i koronarnog protoka. Ukoliko se reflektirani val pojavi tijekom sistole, povećava se sistolički tlak, čime se potiče pojačano punjenje lijeve klijetke i povećava tlačno opterećenje, a u slučaju da se reflektirani val pojavi tijekom dijastole, tada on poboljšava koronarnu perfuziju.

PWV je preporučena mjera za praćenje arterijske elastičnosti. Računa se tako da se odredi vrijeme potrebno da pulsni val putuje između dvije točke (primjerice karotidne i femoralne arterije), a potom se mjeri udaljenost između točaka. Omjerom prijeđenoga puta i vremena dobije se PWV i izražava u mjernoj jedinici metar u sekundi (m/s). Čimbenik koji se ispituje na ovaj način jest brzina širenja tlačnog vala na koju u znatnoj mjeri utječe elastičnost arterijske stijenke. Na vrijednost PWV-a u ljudi utječu dob, genetske predispozicije, hipertenzija, hipertrofija lijevog ventrikula, koronarna srčana bolest, i dr. Uz PWV, za procjenu elastičnosti arterijske stijenke, koristi se još i augmentacijski indeks (AIx).

Augmentacija je mjera za dodatni tlak koji je uzrokovan refleksijom pulsnoga vala na vrh aortnog sistoličkog tlaka, a mjeren je uz lijevi ventrikul. Kao što je prethodno opisano, tlak aortnog pulsnoga vala sastoji se od početnog (ranog sistoličkog P1) tlaka izazvanog ejekcijom lijevog ventrikula i reflektiranog (kasnog sistoličkog P2) tlaka vala. Augmentacijski indeks odgovara razlici tlakova (P2-P1), početnog sistoličkog i odbijenog vala, u odnosu na tlak pulsa (PP). On je stoga neizravni pokazatelj elastičnosti arterijske stijenke i izravna mjera valne refleksije.

Augmentacijski indeks (AIx) izračunava se pomoću sljedeće formule:

$$\text{AIx (\%)} = [(\text{P2-P1})/\text{PP}] \times 100$$

Iz toga slijedi da, ukoliko je tlak reflektiranog vala (P2) manji od tlaka početnog sistoličkog vala (P1), vrijednost AIx-a bit će negativna, dok će se u suprotnom slučaju, odnosno kada se periferni otpor povećava, spomenuta vrijednost povisiti. Vrijednost AIx-a, osim elastičnosti arterijske stijenke, u prvom redu određuje i aktualna periferna vaskularna rezistencija (engl. *total peripherial resistance*, TPR) otporničkih žila (male arterije, arteriole). Što je TPR vrijednost niža, to je niži AIx, i obrnuto. Potvrđeno je da između povišene vrijednosti AIx-a i nazočnosti klasičnih srčanih i krvožilnih čimbenika rizika postoji snažna povezanost.

Endotelna je disfunkcija kompleksan proces i s kliničkog gledišta vrlo važan element, budući da dolazi do vazokonstrikcije arteriola i posljedičnoga povećanja perifernoga otpora zbog poremećene vazodilatacije ovisne o endotelu, a na što također upućuje augmentacijski indeks. Povećava se amplituda reflektiranoga, sistoličkoga vala, uslijed čega dolazi do povećanja vrijednosti AIx-a. Pozitivnija vrijednost AIx-a, koja signalizira povećanu aktualnu perifernu vaskularnu rezistenciju rezistentnih žila, upućuje na vjerojatnu endotelnu disfunkciju. Osim za dijagnostičke svrhe, augmentacijski indeks može imati i važnu ulogu u liječenju bolesnika,

pridonoseći boljoj procjeni učinkovitosti liječenja, terapijskom praćenju i procesu donošenja odluka u terapijskom postupku (5).

1.1.3. Arterijska elastičnost i metabolički sindrom

Metabolički sindrom nije bolest sama za sebe, podrazumijeva skup metaboličkih poremećaja koji povećavaju rizik od dijabetes melitus tipa 2, kardiovaskularnih bolesti, moždanog udara, masne jetre, određenih malignih i nekih drugih bolesti. Smatra se da su abdominalna pretilost i (DM 2), odnosno inzulinska rezistencija, vodeći poremećaji, a uz njih dolaze hipertenzija i hiperkolesterolemija. Budući da se neprikladna fizička aktivnost i prehrana smatraju glavnim problemom, liječenju metaboličkog sindroma primarno se pristupa nefarmakološki, tjelovježbom i promjenom prehrane, iako se još istražuje i utjecaj genske predispozicije. Farmakološko liječenje, s druge strane, obuhvaća lijekove za liječenje DM 2, hipertenzije i hiperkolesterolemije (6). Rizik kardiovaskularnih štetnih događaja veći je u bolesnika s metaboličkim sindromom u usporedbi s općom populacijom.

Smatra se da su sve odrednice ovoga sindroma usko vezane uz oštećenje endotelne funkcije i posljedično smanjenje elastičnosti krvnih žila. Upravo se na primjeru metaboličkog sindroma može osvjedočiti kako smanjenje elastičnosti krvnih žila nije samo proces starenja, već je i posljedica patofizioloških događaja na endotelnim stanicama, glatkom mišiću žila i izvanstaničnom matriksu. Parametri arterijske elastičnosti, zajedno s nekim drugim odrednicama žilne funkcije, imaju određenu dijagnostičku i prognostičku ulogu u bolesnika s metaboličkim sindromom. Posebno je važno prema parametrima arterijske elastičnosti predvidjeti moguće rizike, osobito za pretile i bolesnike s inzulinskom rezistencijom. Broj cirkulirajućih endotelnih progenitornih stanica (engl. *endothelial progenitor cells,* EPCs) zaslužnih za regeneraciju endotela, smanjen je u slučaju narušene endotelne funkcije, a što je važan čimbenik i upozorenje za moguće kardiovaskularne štetne događaje. Jedna je od pretpostavki da bi antioksidansi trebali poboljšati endotelnu funkciju i povećati broj cirkulirajućih endotelnih progenitornih stanica te na taj način povećati i elastičnost arterijskih krvnih žila (7).

1.1.4. Arterijska elastičnost i DM 2

DM 2 je povezan s većim rizikom od razvoja kardiovaskularnih bolesti. To je kronična bolest karakterizirana visokom razinom šećera u krvi. Početak bolesti obično je u srednjim i starijim godinama života, iako se u novije vrijeme javlja u sve više djece i tinejdžera.

DM 2 se javlja kao bolest kada stanice, odnosno tkivo, postane rezistentno na inzulin, i kao posljedica toga, razina glukoze u krvi raste. Kao što je dobro poznato, hrana se tijekom probave raspada na jednostavnije komponente, pri čemu se ugljikohidrati raspadaju do jednostavnijih šećera, primarno glukoze. Glukoza je kritično važan izvor energije te mora prijeći iz krvi u stanice. Inzulin koji se stvara u gušterači signalizira stanicama da uzmu glukozu iz krvi. Pacijent može imati veću rezistenciju na učinak inzulina ili veći nedostatak β-stanica u proizvodnji inzulina. S oslabljenim djelovanjem inzulina, slabi i metabolizam masti, pa se posljedično tome povećavaju razine slobodnih masnih kiselina i triglicerida, a smanjuju se lipoproteini velike gustoće (8).

Oboljevanje i smrtnost zbog hipertenzije i kardiovaskularnih događaja povezani su sa strukturnim i funkcionalnim promjenama na stijenkama krvnih žila, koje se očituju smanjenjenjem elastičnosti krvnih žila (9). Smatra se da će rasti broj oboljelih od DM 2, a paralelno i broj oboljelih od hipertenzije. DM 2 je povezan s dvostruko većim rizikom od razvoja kardiovaskularnih bolesti, a endotelna disfunkcija jasni je pokazatelj koji se smatra ranim markerom mogućih vaskularnih komplikacija. Narušavanje endotelne funkcije u DM 2 između ostalog nastaje i zbog smanjene dostupnosti dušikovoga oksida (NO), smanjene vazodilatacije ovisne o endotelu, oštećene barijerne funkcije, aktivacije upalnih agenasa i prokoagulantnoga stanja (10).

1.2. Udisanje kisika; s jedne strane terapija, s druge oksidativni stres

1.2.1. Kisik kao terapija

Kisik je na sobnoj temperaturi bezbojan plin, bez okusa i mirisa. Kao takav, prijeko je potreban gotovo svim živim organizmima jer sudjeluje u brojnim biokemijskim procesima. Čovjek je naviknut na parcijalni tlak kisika koji iznosi 21kPa i općenito osjetljiv na promjene tlaka i koncentracije kisika, iako se postepenim izlaganjem u drugačijim uvjetima organizam navikne. Krv prenosi kisik koji se veže za hemoglobin u crvenim krvnim stanicama te se u

plućima obavlja razmjena plinova. Iz venske krvi otpušta se ugljični dioksid i zamjenjuje kisikom, koji dalje do tkiva prenose arterijske krvne žile.

Međutim, čisti kisik može biti korišten u vidu terapije. Hiperbarična oksigenizacija (engl. *hyperbaric oxygen therapy,* HBOT) metoda je liječenja koja se temelji na udisanju medicinskog čistog (100%) kisika u hiperbaričnoj komori, pri čemu je tlak veći od 1 bara, koji je inače normalni atmosferski tlak. Na taj način do tkiva dospije tri do četiri puta više kisika nego pri normalnom atmosferskom tlaku, a i do 20 puta više nego udisanjem „običnoga" zraka. Na ovaj se način velikom brzinom ispravlja hipoksija nastala u tkivima, opća i/ili lokalna. Prilikom nastanka hipoksije važno je brzo reagirati da bi stanice mogle preživjeti i obnoviti svoje funkcije. Princip na kojem djeluje HBOT temelji se na povećanju količine kisika u stanicama zbog otopljenog kisika u plazmi (11).

U normobaričnoj terapiji kisikom, kisik se primjenjuje inhalacijom preko maske ili nosne kanule, što ovu terapiju čini lako primjenjivom i relativno čestom u medicinskoj praksi. Na taj način ispravlja se manjak kisika u krvi i/ili tkivu. No, metode praćenja parcijalnoga tlaka kisika u krvi jesu neprikladne te stoga bolesnik može biti izložen hiperoksiji. Normobarična terapija kisikom može biti: kratkoročna, primjerice u slučaju osjećaja nedostatka daha, za poboljšavanje kvalitete i neprekinutosti procesa spavanja, u pacijenata s akutnim respiratornim tegobama, budući da smanjuje rizik od srčanog zatajenja, te u slučaju traumatskog oštećenja mozga. Iz eksperimentalnih i kliničkih studija vidljivo je da su ozljeda mozga i aerobni metabolizam povezani. Normobarična terapija kisikom, osim toga, može biti i dugoročna, u slučaju liječenja kroničnih dišnih poremećaja, kao npr. u bolesnika s astmom, kroničnim opstruktivnim plućnim bolestima, emfizemom pluća, bronhitisom, tumorom pluća, cističnom fibrozom, plućnom hipertenzijom i kongestivnim srčanim zatajenjem (5).

Terapija primjene kisika jest dugotrajna, točnije doživotna, u pacijenata s kroničnom opstruktivnom plućnom bolešću. Takva se terapija primjenjuje u njihovim domovima, a ne u bolničkim ustanovama, i traje od 16 do 18 h dnevno, dok je noću obvezna. S obzirom da se tu kisik primjenjuje kao lijek, važno je poštivati dozu. Premalo kisika neće imati pravo djelovanje, a previše kisika može uzrokovati oštećenja u organizmu (12).

Terapija kisikom, hiperbaričnim ili normobaričnim, primjenjuje si i u nekim drugim stanjima. Smatra se da u određenih vrsta tumora, kao što su tumori glave, vrata ili maternice, klasična terapija uz terapiju kisikom pod povišenim tlakom smanjuje smrtnost u liječenih bolesnika i sprječava nastanak recidiva. Također, može biti pomoćna i korisna terapija ukoliko se vrši u

malom broju ponavljanja (13). Nekrotizirajući fascitis teška je infekcija mekih tkiva koja može biti životno ugrožavajuća, stoga je liječenje hitan kirurški zahvat zahvaćenoga tkiva i primjena antibiotika. Pokazalo se da se primjenom kisika uz standardnu terapiju smanjio broj gubitka tkiva, amputacije udova i smrtnosti zbog ove bolesti. Cilj terapije kisikom jest povećati opskrbu tkiva kisikom. Takav je pristup toksičan za bakterije te povoljno može djelovati na liječenje antibioticima i cijeljenje tkiva (14).

1.2.2. Kisik kao oksidativni stres i čimbenik rizika

Kisik je široko i često nekritički korišten kao terapija u raznim kliničkim stanjima u kojima se najviše kao problem ističe arterijska saturacija hemoglobina. Kao rezultat toga, bolesnici mogu biti izloženi hiperoksiji koja uzrokuje vazokonstrikciju u koronarnim i perifernim krvnim žilama te smanjuje elastičnost krvnih žila, što se vidi po povećanju augmentacijskog indeksa (AIx). Smatra se da je vazokonstrikcija uzrokovana hiperoksijom posljedica smanjenja biodostupnosti dušikovog oksida (NO) zbog većeg oksidativnog stresa. Dokazano je kako se smanjenje razine nitrita (NO_2^-) kao produkta dušikovog oksida odvija istodobno s povećanjem oksidativnog stresa i smanjenjem arterijske elastičnosti u zdravih pojedinaca (15). Ovi rezultati upućuju na moguću središnju ulogu NO u vaskularnoj disfunkciji nakon hiperoksije. Primjena različitih antioksidansa, kao primjerice intravenska ili oralna primjena vitamina C te povećanje uratne kiseline u plazmi, pokazuje neke protektivne učinke protiv narušavanja endotelne funkcije inducirane hiperoksijom (16, 17). Ova saznanja podržavaju hipotezu da je oksidativni stres induciran hiperoksijom odgovoran za vaskularnu disfunkciju.

1.2.3. Oksidativni stres

Oksidativni je stres poremećena ravnoteža između antioksidansa i pro-oksidansa u korist oksidansa, što može biti uzrokom oštećenja bioloških sustava. Uzroci narušavanja ravnoteže jesu mnogobrojni i mogu biti uvjetovani mehaničkim, bakterijskim i virusnim oštećenjem, ali i egzogenim toksinima, a glavni razlozi nastanka su: smanjenje ili gubitak glavnine reducirajućih supstanci, odnosno antioksidansa, povećanje oksidirajućih supstanci, točnije pro-oksidansa te akumulacije oštećenih i promijenjenih makromolekula. Oksidativni stres koji se javlja kao rezultat neravnoteže slobodnih radikala i antioksidativne obrane povezan je s oštećenjima brojnih molekula kao što su lipidi, proteini i nukleinske kiseline.

Hiperoksija također može biti jedan od uzroka nastanka oksidacijskoga stresa, zbog povećanog «curenja» elektrona u mitohondrijima. Hiperoksija uzrokuje vazokonstrikciju i zapravo smanjuje arterijsku elastičnost koja se prikazuje povećanom vrijednosti augmentacijskog indeksa (16, 18). Moguć mehanizam štetnoga utjecaja hiperoksije na krvne žile jest preko reaktivnih oblika kisika (engl. *reactive oxygen species,* ROS). Primjerice, superoksidni anion (O_2^-) koji se stvara u vrijeme hiperoksije može reagirati s NO i smanjiti njegovu dostupnost. ROS može utjecati i na redoks stanje tetrahidropterina (BH_4) ometajući njegovu funkciju kao esencijalnog kofaktora za sintezu NO-a (18).

1.3. Umjerena konzumacija vina

Neke su epidemiološke studije pokazale kako je umjerena konzumacija alkoholnih pića povezana sa smanjenom smrtnosti zbog kardiovaskularnih bolesti i drugih uzroka (19).

Među alkoholnim pićima posebno se izdvaja vino, osobito crno vino, za kojega je pokazano da unatoč postojećim kardiovaskularnim rizicima smanjuje kardiovaskularnu smrtnost (20). Iako mehanizmi ovog zaštitnog učinka još uvijek nisu u potpunosti razjašnjenji, polifenolne se tvari smatraju najzaslužnijima za ovaj učinak.

U usporedbi vina s drugim nealkoholnim napitcima koji obiluju polifenolima, primjerice sokom od grejpa, pokazano je kako dvotjedno pijenje soka od grejpa također poboljšava endotelnu funkciju u ljudi s koronarnom arterijskom bolešću. To također upućuje na polifenole i iz crnog vina, a tako i iz soka od grejpa, kao nositelje spomenute zaštitne uloge (21).

1.3.1. Vino, polifenoli i etanol

Polifenoli spadaju u veliku i heterogenu grupu fitospojeva većinom u biljnoj hrani. Pronalazimo ih u čajevima, kavi, vinu, cjelovitim žitaricama, povrću (mahunarkama), voću, i to najviše u bobičastom. Najviše istraživani i najrašireniji spojevi iz grupe polifenola su flavonoidi, koji uključuju nekoliko tisuća vrsta, a među njima flavonoli, flavoni, flavononi, flavan-3-oli, izoflavoni i antocijanini (22). Procijenjeno je kako je dnevna potreba za polifenolima 1 g.

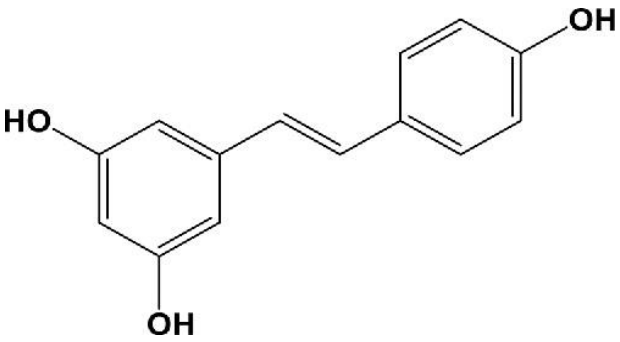
Polifenoli crnoga vina dijele se na flavonoide (uglavnom iz razreda flavan-3-ola i antocijanina) i neflavonoide (resveratrol, cinamati i galična kiselina). Flavan-3-oli u najvećem su broju prisutni s polimeričnim procijanidinima (kondenzirani tanini), čineći oko 50% ukupnih fenola.

Polifenoli imaju niz povoljnih učinaka na ljudsko zdravlje. Ovi su spojevi jaki antioksidansi, smanjuju razinu LDL-a i agregaciju trombocita (22). Primijenjeni *in vitro* na izolirane vaskularne prstenove ili u kulturi endotelnih stanica pokazuju izravni vazoprotektivni učinak. Oni mogu potaknuti proizvodnju NO-a i endotelnog hiperpolarizirajućeg čimbenika (engl. *endothelium-derived hyperpolarizing factor,* EDHF) u izoliranim krvnim žilama (23).

Uz njihov povoljan učinak na endotelnu funkciju i vaskularnu homeostazu, ističe se i povoljan učinak na metabolizam glukoze, i to preko nekoliko mehanizama, kao što su inhibicija apsorpcije ugljikohidratnih dijelova i glukoze iz tankoga crijeva, poticanje izlučivanja inzulina iz β-stanica gušterače, smanjeno otpuštanje glukoze iz jetre, aktivacija inzulinskih receptora i pomoć pri ulasku glukoze u ciljna tkiva (24). Različiti polifenoli imaju i različite mehanizme djelovanja, primjerice rutin, kvercetin, apigenin, epikatehin potiču inzulinsku sekreciju te inhibiraju kotransporter natrija i glukoze tip 1 (engl. *sodium-glucose linked transporter 1*) i glukozni transporter (engl. *glucose transporter 2*) (24).

Istraživanja su pokazala da, uz vino, konzumacija i ostale hrane bogate polifenolima ostvaruje niz povoljnih metaboličkih učinaka. Konzumacija, primjerice, kakaa, namirnice izrazito bogate polifenolima, poboljšava razine triglicerida u krvi, smanjuje krvni tlak i glukozu natašte u bolesnika s DM 2 i hipertenzijom. Kurkumin, glavni polifenol kurkume, dokazano djeluje kao „čistač“ ROS-a u organizmu putem svojih antioksidativnih sposobnosti (24).

Među najviše istraživanim polifenolima svakako je resveratrol, stilben (3,5,4′-trihidroksistilben), čija je struktura prikazana na Slici 3. U značajnoj količini ima ga u grejpu, kikirikiju, bobičastom voću te crnome vinu (25). Resveratrol značajno poboljšava glukoregulaciju i inzulinsku osjetljivost u dijabetičara, a također je pokazana i povoljna uloga u tumorskih, neuroloških i kardiovaskularnih bolesti te debljine i pretilosti. Resveratrol ima kardioprotektivni i kemoprotektivni učinak, inhibira oksidaciju LDL-a i agregaciju trombocita, također inhibira rast nekih tumora te ima antibakterijsko, antiinflamatorno, antifungalno, antiviralno, neuroprotektivno, antiproliferativno i antiangiogeno djelovanje. Bitno je svakako istaknuti da je povoljno djelovanje vina zbroj djelovanja svih njegovih komponenti, a ne samo resveratrola (26).



Slika 3. Struktura resveratrola, jedne od supstanci crnog vina (Izvor: *Rauf A, Imran M, Butt MS, Nadeem M, Peters DG, Mubarak MS. Resveratrol as an anti-cancer agent: A review. Critical reviews in food science and nutrition. 2018;58(9):1428-47. Epub 2016/12/22*)

Smatra se kako je crno vino povoljnije za zdravlje od bijeloga upravo zbog većeg udjela polifenola koji preostaje nakon procesa proizvodnje. Naime, postupak proizvodnje crnog i bijelog vina razlikuju se po višednevnoj ili čak višetjednoj maceraciji grožđa, uključujući i sjemenke i pokožice koje i sadrže najveći udio polifenola, pri čemu se u kontaktu s etanolom i drugim alkoholima događa oslobađanje polifenola i njihovo koncentriranje u crnom vinu. S druge strane, u proizvodnji se bijelog vina odvaja grožđani sok koji fermentira bez kontakta s biljnim materijalom.

Crno vino *in vitro* također djeluje i na trombotičku aktivnost, budući da smanjuje proizvodnju protrombinskih faktora (27). Smatra se da je za antitrombotski učinak odgovoran etanol, koji smanjuje agregaciju trombocita inducirajući adenozin difosfat, kolagen, trombin i adrenalin. Etanol također smanjuje agregaciju tromocita i poboljšanjem djelovanja GPIIb/IIIa antagonista (28).

U istraživanju povezanosti konzumacije alkoholnih pića i obolijevanja od dijabetesa, Rimm i suradnici došli su nakon višegodišnje studije do zaključka kako manje obolijevaju ljudi koji su povremeno i umjereno konzumirali bilo koju vrstu alkoholnih pića u odnosu na ljude čije životne navike nisu uključivale ikakva alkoholna pića. Ovi podatci također mogu biti djelomično objašnjeni svojstvima alkohola budući da alkohol potiče metabolizam, inhibira glukoneogenezu i može povećati osjetljivost na inzulin (29).

Učinci na razinu cirkulirajućeg kolesterola u krvi najbolji su pokazatelj međudjelovanja alkohola i polifenola u vinu koji zajedno doprinose sveukupnome povoljnom učinku

konzumacije vina na ljudsko zdravlje. Alkohol povisuje razine HDL-a u krvi u svih, osim u jetrenih bolesnika. HDL se također veže na kolesterol u tkivima te može prevenirati oksidaciju LDL kolesterola. Najznačajniji je učinak smanjenje plaka koji se stvara na stijenkama primjerice koronarnih arterija tijekom aterogeneze.

Aterosklerotski proces ne nastaje samo zbog akumulacije lipida na stijenkama arterija u određenome dijelu krvožilnoga sustava, već i zbog kroničnih upalnih reakcija koji pridonose formiranju plaka. Ateroskleroza se smatra upalnom bolešću, a vino i druga alkoholna pića s manjim udjelom polifenola pokazala su protuupalno djelovanje smanjujući, između ostaloga i koncentraciju fibrinogena i IL-1α u plazmi. Vino je, i u ovom slučaju, pokazalo dodatni zaštitni učinak, i to smanjenjem razine visoko-osjetljivog C-reaktivnog proteina (engl. *high sensitive C-reactive protein*), monocita i endotelnih adhezijskih molekula (30-32).

Ispitivanja u visokorizičnih muškaraca pokazala su kako pijenje crnoga vina ili džina jednako povećava razinu IL-10 i smanjuje koncentracije kemokina iz makrofaga (engl. *macrophage-derived chemokine*), dok fenolne komponente crnoga vina dodatno smanjuju serumsku koncentraciju unutarstanične adhezijske molekule-1, E-selektina, IL-6, te inhibiraju ekspresiju antigena 1 u T-limfocitu, receptor za makrofag te C-C kemokinski receptor u monocitima. Obje komponente crnoga vina, i etanolna i polifenolna, smanjuju serumsku koncentraciju CD40 antigena, CD40 liganda, IL-16, i nekolicine drugih molekula s proupalnim učinkom (33).

S druge strane metabolizmom etanola mogu se stvoriti slobodni radikali i smanjiti razina glutationa, ali uz polifenole, antioksidanse, umjerena konzumacija alkohola ipak ostvaruje učinak poboljšanja ravnoteže oksido-redukcijskoga procesa.

Kao što je već ranije navedeno, umjerenom konzumacijom alkoholnih pića smanjuje se rizik pojave DM 2. Osim toga, i u nedijabetičara također povoljno djeluje na inzulinske koncentracije. Neke su studije pokazale kako nema razlike u protekciji između umjerenog pijenja bilo koje vrste alkoholnih pića, što upućuje na važan značaj etanola (34).

Ako se, pak, analizira povezanost umjerene konzumacije alkoholnih pića i kronične bolesti, primjerice koronarne bolesti, s dobi, nedavna studija pokazuje kako se i u mlađih osoba koje umjereno konzumiraju alkoholna pića, značajno smanjuje rizik koronarne bolesti u usporedbi s onima koje ne konzumiraju alkoholna pića, iako je protektivni učinak niži nego u osoba starije dobne skupine (35).

Kinetika i apsorpcija polifenola ispitivana je mjerenjem plazmatskih koncentracija ovih tvari i/ili njihove koncentracije u urinu nakon konzumacije napitka koji sadrži polifenole. Ispitanici koji su imali visoku apsorpciju polifenola ujedno su imali i nižu koncentraciju upalnih parametara od ostalih ispitanika s manjom izmjerenom apsorpcijom polifenola (36). Pokazano je kako su izoflavoni i galična kiselina najbolje apsorbirani polifenoli u ljudi, a potom katehini, flavanoni i kvercetin s različitim kinetikama. Ipak, bioraspoloživost polifenola vrlo je ograničena te se u tom smislu zaključci dobiveni na osnovu *in vitro* istraživanja nikako ne bi smjeli nekritično translatirati na situacije u stvarnom životu pri konzumaciji polifenolima bogatih namirnica, uključujući i vino (37).

Ako se uzme sve navedeno u obzir, može se zaključiti kako su pokušaji da se procjeni relativni doprinos polifenolne ili alkoholne frakcije zaštitnom učinku umjerene konzumacije vina značajno povećali znanje o mehanizmima, ali je, uzevši u obzir slabu bioraspoloživost polifenola, njihov metabolizam i kemijsku prirodu unutar hidro-alkoholnog okruženja, te potencijalnu prooksidativnu prirodu alkohola, potrebno istraživati učinke konzumacije upravo vina kao sastavnog dijela prehrane i to u pažljivo osmišljenim konzumacijskim istraživanjima.

1.3.2. Utjecaj prehrane na elastičnost krvnih žila

Smatra se da je zdrava prehrana povezana s dobrom vaskularnom funkcijom, odnosno s manjom endotelnom disfunkcijom i kroničnom upalom, što je ključno za razvoj kardiovaskularnih bolesti (38).

Zdrava prehrana koja se tradicionalno veže uz geografski pojam Mediterana, a uključuje povećani unos voća, povrća, složenih ugljikohidrata, mononezasićenih masnih kiselina, a smanjeni unos životinjskih masti i jednostavnih šećera, predstavalja mediteransku prehranu. Neke od dodatnih odrednica mediteranske prehrane su: primjena maslinovog ulja za kuhanje, pečenje i kao začina, pojačani unos orašastih polodova, umjerena konzumacija mliječnih proizvoda, značajna konzumacija ribe i peradi te minimalna konzumacija crvenog meso. Sastavni dio mediteranske prehrane je i umjerena konzumacija vina uz obroke, koja podrazumijeva otprilike dvije do tri čaše vina dnevno za muškarce, a za žene jednu (39).

Utjecaj se mediteranske prehrane istražuje u različitim epidemiološkim i eksperimentalnim studijama. Tako se, primjerice, u meta-analizi 50 provedenih studija koja je objvaljena 2011. godine razjašnjava učinak mediteranske prehrane na metabolički sindrom i njegove odrednice. U ovom je radu pokazan smanjen rizik oboljevanja od metaboličkog sindroma ukoliko se

pridržava obrazaca mediteranske prehrane. Nadalje, pokazano je kako ovakav način prehrane ima bolje učinke na pojedine parametre u bolesnika s već razvijenim metaboličkim sindromom, kao što je smanjenje opsega struka, povećanje razine HDL-a, smanjenje razine triglicerida i povećanih vrijednosti arterijskoga tlaka. Autori su donijeli zaključak kako je mediteranska prehrana važna za primarnu i sekundarnu prevenciju metaboličkoga sindroma i njegovih pojedinih odrednica (40).

Martinez-Gonzalez i suradnici u kohortnoj su studiji (41) proučavali utjecaj mediteranske prehrane na inzulinsku rezistenciju. Kroz četiri godine opservacije nedijabetičara, ispitanici koji su se u najvećem postotku pridržavali režima prehrane, sve su vrijeme imali najmanji rizik razvoja dijabetesa, u usporedbi sa skupinom ispitanika niske adherencije. Također je primijećen povoljan učinak na endotelnu funkciju. Fuentes i suradnici su mjerenjem sposobnosti arterija za vazodilataciju posredovanu protokom (engl. *flow-mediated dilatation*) i razine NO-a u ispitanika s visokim koncentracijama kolesterola prikazali da su vrijednosti veće, tj. rezultati bolji, u slučaju pridržavanja režima mediteranske prehrane (42). Poboljšanje endotelne funkcije primijećeno je i u pretilih pacijenata. To se objašnjava ispravljanjem redoks ravnoteže zbog povećanja razine NO-a i antioksidansa koji se unose ovim režimom prehrane.

Uz konzumaciju maslinovog ulja, izvora polifenola i antioksidansa, pokazano je smanjenje oksidacijom uzrokovano oštećenja DNA te povećanje omjera glutationa i oksidiranog glutationa za 7% (43).

Mediteranski način prehrane smanjuje i krvni tlak Nakon godinu dana kontroliranog pokusa u kojem su ispitanici svakodnevno pridržavali pravila mediteranske prehrane, najviše uz porast unosa orašastih plodova, maslinovog ulja i umjerenu konzumaciju vina, došlo je do značajnog smanjenja sistoličkog i dijastoličkog tlaka u odnosu na kontrolnu skupinu. U usporedbi s kontrolnom skupinom, pokazan je povoljan učinak na augmentacijski indeks, odnosno brzinu pulsnoga vala kao pokazatelja arterijske elastičnosti (44).

2. CILJ ISTRAŽIVANJA

Ciljevi ovoga istraživanja bili su sljedeći:

a) Ispitati utječe li umjerena konzumacija vina na parametre arterijske elastičnosti u kontrolnim uvjetima.

b) Ispitati kako se nakon intervencije udisanja 100 %-nog normobaričnog kisika mijenjaju parametri arterijske elastičnosti u ovisnosti o umjerenoj konzumaciji vina tijekom tri tjedna.

c) Ispitati postoji li razlika u učincima konzumacije dviju različitih vrsta vina, crvenoga, koje je siromašnije polifenolima, i crnoga, koje je bogatije polifenolima, na parametre arterijske elastičnosti u kontrolnim uvjetima i nakon intervencije hiperoksijom.

Hipoteze su:

a) Umjerena konzumacija vina poboljšava hemodinamiku u kontrolnim uvjetima.

b) Ispitanici pokazuju manje pogoršanje arterijske elastičnosti uzrokovano intervencijom udisanja 100 %-nog normobaričnog kisika nakon umjerene konzumacije vina.

c) Vino bogatije polifenolima ostvaruje snažniji zaštitni učinak na hemodinamiku u odnosu na vino koje u svom sadržaju ima manje polifenola.

3.MATERIJALI I METODE

3.1. Kriteriji uključenja i dizajn studije

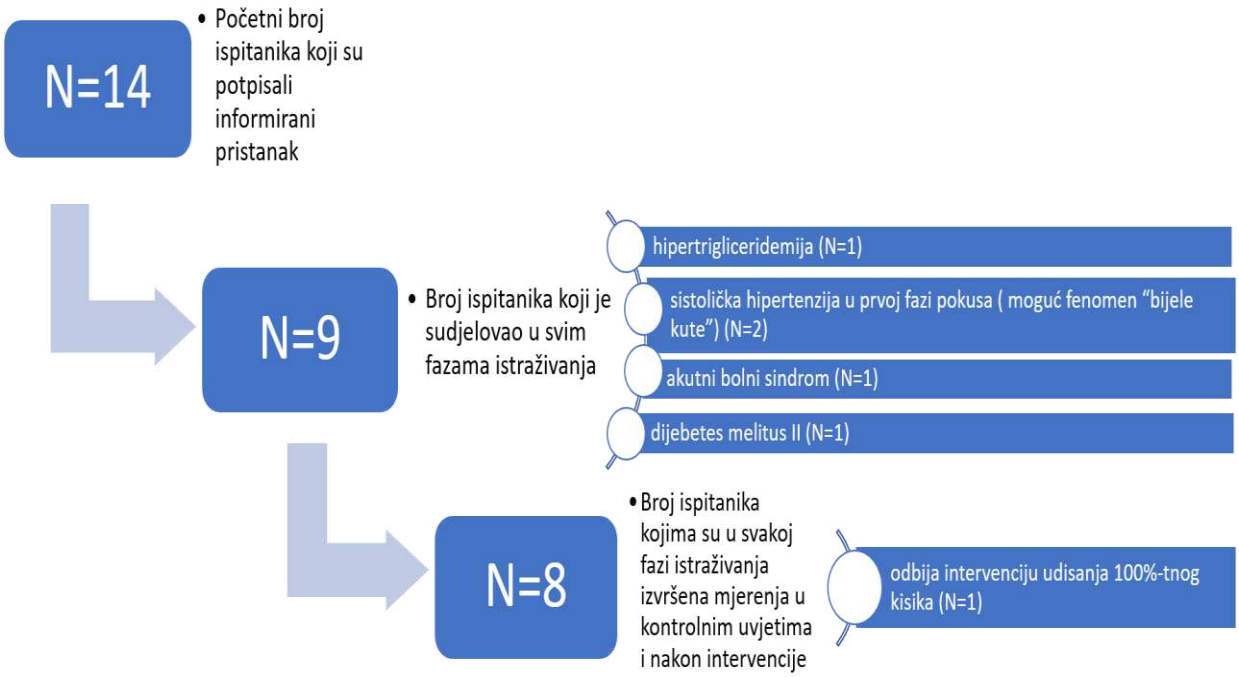
Istraživanje je provedeno u Laboratoriju za eksperimentalnu farmakologiju Zavoda za temeljnu kliničku farmakologiju. U kliničko ispitivanje bilo je uključeno ukupno 14 ispitanika, muškog spola, u dobi od 44 do 55 godina. Ostali kriteriji uključenja detaljno su navedeni u Tablici 1.

Tablica 1. Kriteriji uključenja u studiju na zdravim ispitanicima

Spol	muški
Zdravstveni status	zdrav, normalnih vrijednosti arterijskog tlaka i GUK, bez kroničnih bolesti, bez znakova akutne i kronične upale
Dob	40-55 godina
Pušenje	nepušač
Konzumiranje lijekova*	ne konzumira nikakve lijekove
Informirani pristanak	pročitan, objašnjen i potpisan

*Napomena: u slučaju potrebe za primjenom bilo kakvoga lijeka tijekom deset tjedana koliko je ukupno trajala studija, ispitanici su morali odmah obavijestiti glavnoga istraživača.

Od početnih 14 ispitanika koji su potpisali informirali pristanak, broj se smanjio na 9 ispitanika koji su pili vino, odnosno 8, koji su pili vino i bili podvrgnuti intervenciji udisanja 100%-nog normobaričnog kisika iz razloga prikazanih na Slici 4.

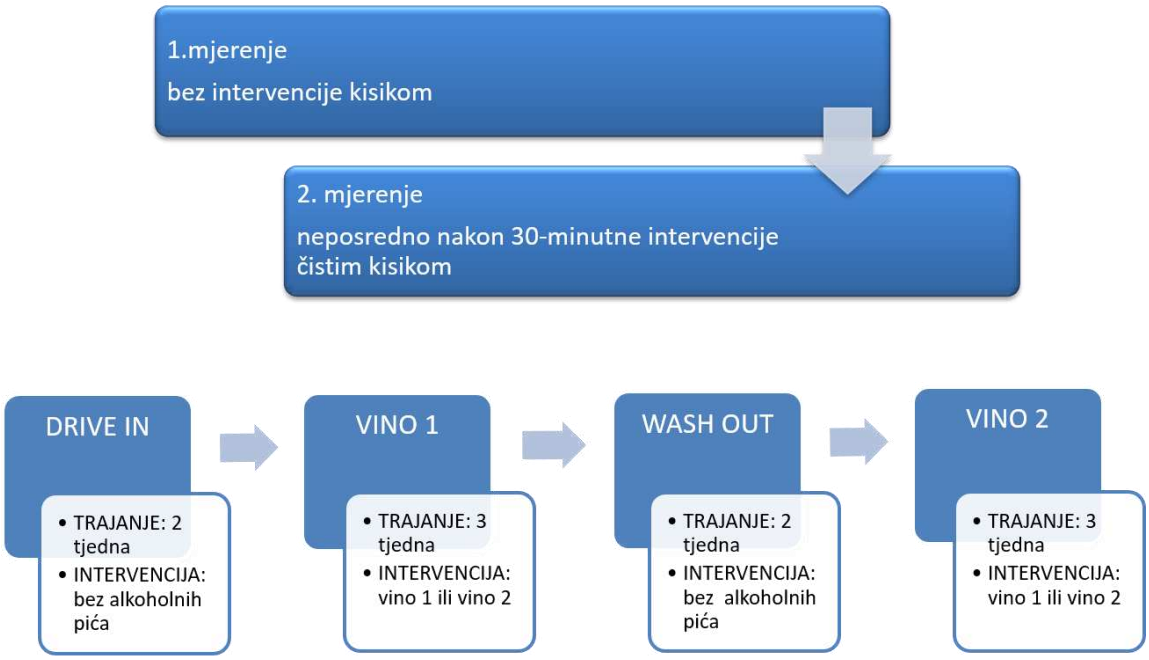


Slika 4. Prikaz broja ispitanika i razloga njihovog dodatnog isključivanja iz studije.

Prema metodi razvrstavanja provedeno kliničko ispitivanje bilo je randomizirano, i to ukriženoga dizajna (engl. *crossover*). Ispitanici su bili nasumičnim odabirom randomizirani u dvije skupine, od kojih je jedna kao prvu intervenciju imala konzumaciju crvenog vina, a druga crnog vina. U drugom 'vinskom' periodu konzumiralo se vino obrnuto od onoga koje je bilo prva intervencija. Budući da su i ispitanici i ispitivači znali što je intervencija (crno/crveno vino), ispitivanje je provedeno bez ikakvog zaslijepljenja (engl. *open-label*). Studija je trajala ukupno deset tjedana, a cijeli protokol detaljno je prikazan na Slici 5. Prva faza, u trajanju od dva tjedna, bila je "Period bez vina 1" (engl. *drive in*) u kojoj ispitanici nisu smjeli konzumirati ikakva alkoholna pića. Nakon toga uslijedila je faza od ukupno tri tjedna, nazvana "Vino 1", u

kojoj je dio ispitanika morao konzumirati, sukladno danim uputama, crveno vino, a preostali ispitanici crno vino. Treća faza bila je "Period bez vina 2" (engl. *wash out*), također u trajanju od dva tjedna, zamišljen kao period eliminacije intervencije, odnosno vina, iz organizma, i kada ispitanici ponovno nisu smjeli konzumirati ikakva alkoholna pića. I konačno, četvrta faza, nazvana "Vino 2", u trajanju od ukupno tri tjedna, bila je faza u kojoj su ispitanici trebali konzumirati vino obrnuto od onoga u fazi "Vino 1". Po završetku svake od ukupno četiri faze, ispitanici su natašte dolazili u Laboratorij za eksperimentalnu farmakologiju na Medicinskom fakultetu u Splitu, gdje su se odvijala potrebna mjerenja. Ispitanicima se niz parametara navedenih u nastavku mjerio u dvije vremenske točke na dan mjerenja: 1) prije udisanja kisika, i 2) neposredno nakon 30-minutnog udisanja kisika.

.



Slika 5. Grafički prikaz ispitivanja utjecaja vina na intervenciju kisikom s realnim vremenskim razmacima

Mjereni parametri :

1. sistolički ($P_{sist.}$) i dijastolički ($P_{diast.}$) tlak
2. srčani ritam (engl. *heart rate*, HR)
3. tlak pulsa (engl. *pulse pressure*, PP)
4. središni tlak pulsa (engl. *central pulse pressure*, cPP)
5. središnji sistolički tlak ($cP_{sist.}$)
6. periferni augmentacijski indeks (bAIx)
7. središnji augmentacijski indeks(aAIx)
8. brzina pulsnog vala (PWV)

Mjerenja su vršena dva ili tri puta u svakoj vremenskoj točki, a cijeli je postupak trajao tri sata, na što su ispitanici bili upućeni. Za potrebe ovog diplomskog rada prikazani su samo odabrane, a ne svi dobiveni rezultati.

Svi ispitanici su dobrovoljno pristupili istraživanju nakon što su sve metode i postupci bili prezentirani i objašnjeni (Prilog 1). Njihovi su identiteti zaštićeni, a pristup dokumentaciji mogu imati predstavnici Etičkog povjerenstva Medicinskog fakulteta. Sva mjerenja su izvedena od strane istraživačkog tima s Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu, uz projektno vodstvo prof.dr.sc. Mladena Bobana. Naziv projekta je: „Biološki učinci vina: utjecaj vinifikacijske tehnologije, dealkoholizacije i starenja vina“. Studiju je financirala Hrvatska zaklada za znanost (HRZZ), a pregledalo je i odobrilo Etičko povjerenstvo Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu. Utvrđeno je kako je predmetno istraživanje u skladu s odredbama Etičkog kodeksa koje reguliraju istraživanja na ljudima u znanstvenom, istraživačkom i stručnom radu, kao i etičkim načelima Helsinške deklaracije. Istraživanje se provodi u skladu i sa svim ostalim primjenjivim smjernicama, uključujući Osnovnu dobru kliničku praksu (Prilog 2).

3.2. Pokusna vina

Ispitivana vina dobivena su od iste sorte grožđa (*Plavac mali*) uzgojenog na istom području i pobranom iste godine (2015). Nadalje, proizvedena su vinifikacijskim postupkom koji je rezultirao vrlo sličnim sadržajem alkohola (14,7 vol% i 14,3 vol% za crno i crveno vino), pri čemu je kod crvenog vina grožđani sok odmah odvojen od biljnog materijala (kao u

proizvodnji bijeloga vina), a kod crnog je vina kontakt grožđanog soka s biljnim materijalom bio produžen na sedam dana. To je rezultiralo razlikama u sadržaju polifenola: crno vino bilo je bogatije polifenolima (3210 mg GAE/L), a crveno je vino imalo trostruko manji polifenolni sadržaj (1074 mg GAE/L). Tijekom dviju faza pijenja vina od ukupno šest tjedna, ispitanici su svaki dan pili 300 mililitara vina dnevno, raspoređeno prema individualnoj želji ispitanika. Važno je bilo držati se količine i kontinuiteta pijenja, a preporuka je bila rasporediti preporučenu količinu uz ručak i večeru. Vino se preuzimalo prilikom mjerenja na Medicinskom fakultetu u Splitu, a ispitanici su po završetku konzumacijskog perioda imali obvezu vratiti prazne staklene boce.

3.3. Postupci

3.3.1. Uzimanje anamnestičkih podataka i antropometrijsko mjerenje

Liječnik je uzimao anamnestičke podatke od pacijenta postavljajući mu pitanja. Ispitanicima su mjereni najprije tjelesna masa i visina, potom opseg nadlaktice, vrata, struka i bokova. Svi su podatci zapisani na obrasce i označeni unaprijed dodijeljenim šiframa za svakog pojedinog ispitanika.

3.3.2. Ispitivanje prehrambenih navika ispitanika

Svaki ispitanik je samostalno ispunio prehrambeni upitnik na početku ispitivanja s ciljem prikupljanja potrebnih podataka o uobičajenom unosu hrane i pića, a koji su važni za interpretaciju rezultata. Osim toga, u dvije faze konzumacije vina („Vino 1“ i „Vino 2“), ispitanici su morali za izabrana tri uzastopna dana voditi svoj dnevnik prehrane (Prilog 3). Preporuka ispitinicima bila je da se hrane uobičajeno, a naš cilj da uspoređujući popunjene obrasce eliminiramo utjecaj prehrane na dobivene rezultate. Ovi su rezultati još u obradi te neće biti prikazani u diplomskom radu.

3.3.3. Mjerenje arterijskog tlaka

Arterijski tlak mjeren je digitalnim tlakomjerom za nadlakticu (Omron HBP-1300-E, Omron Healthcare Co.,Ltd. Kyoto, Japan) Ispitanici su bili u ležećem položaju, leđima položenim na podlogu i u mirovanju 15 minuta. Nakon kratkog ugodnog razgovora i

upućivanja u sljedeće korake, ispitanici su zamoljeni da ne razgovaraju kako bi se mjerenje obavilo u tišini, a dobivene vrijednost bila što ispravnije. Tlak je mjeren na standardnom mjestu za mjerenje vrijednosti krvnog tlaka, na goloj nadlaktici uz manžetu prislonjenu na brahijalnu arteriju. Mjerenja su izvedena dva puta te se srednja vrijednost uzimala za daljnju analizu. Ukoliko su postojala velika odstupanja u vrijednostima, tad se radilo i treće mjerenje. Dvije su vrste manžete koje su se mogle upotrebljavati, br. 1 i br. 2, ovisno o opsegu nadlaktice ispitanika. Nakon mjerenja krvnog tlaka, slijedilo je mjerenje arterijske elastičnosti.

3.3.4. Periodično uzimanje krvi

U tri navrata (na početku, nakon disanja kisika te 30 minuta nakon prestanka disanja kisika) uzorkovano je otprilike 50 ml krvi, odnosno ukupno otprilike 150 ml (što je višestruko manje od količine krvi koja se uzima prilikom dobrovoljnog davanja krvi), s ciljem određivanja biokemijskih parametara. Rezultati biokemijskih parametara također neće biti prikazani u ovom diplomskom radu.

3.3.5. Mjerenje hemodinamskih parametara i parametara arterijske elastičnosti

Mjerenje arterijske elastičnosti provodio je doktor medicine (ispitivač u studiji) obučen za rad s oscilometrijskim uređajem Arteriographom. Riječ je o neinvazivnoj metodi mjerenja. Nakon relaksacije u ležećem položaju, mjerenje započinje. Mjerenja su ponavljana dva puta ukoliko nije bilo većih odstupanja. Trajala su oko 2-3 minute, a poštivao se preporučeni vremenski razmak od pet minuta između mjerenja. Od pokazatelja arterijske elastičnosti mjerio se na ovaj način središnji sistolički tlak, augmentacijski indeks i brzina pulsnoga vala.

3.3.5.1. *Arteriograph*

Arteriograph (TensioMed, Budimpešta, Mađarska) je uređaj koji mjeri promjene arterijskog krvnog tlaka u vremenu. On ispituje arterijsku životnu dob, odnosno sukladno izmjerenim parametrima elastičnosti krvnih žila, na ekranu se grafički prikaže u koju dobnu skupinu spada ispitanik, odnosno koliko su 'stare' njegove arterije. Pulsni val, koji se stvara kada srce prilikom sistole ubacuje krv u aortu, putuje arterijskim stablom. Val će brže proći što je stijenka arterije kruća. U kasnijim godinama očekuje se da će vrijeme putovanja pulsnoga

vala biti kraće, odnosno da će arterijska elastičnost biti smanjena. Najznačajniji mjerni rezultati dobiveni računalnom obradom jesu brzina pulsnoga vala (PWV) i augmentacijski indeks (AIx).

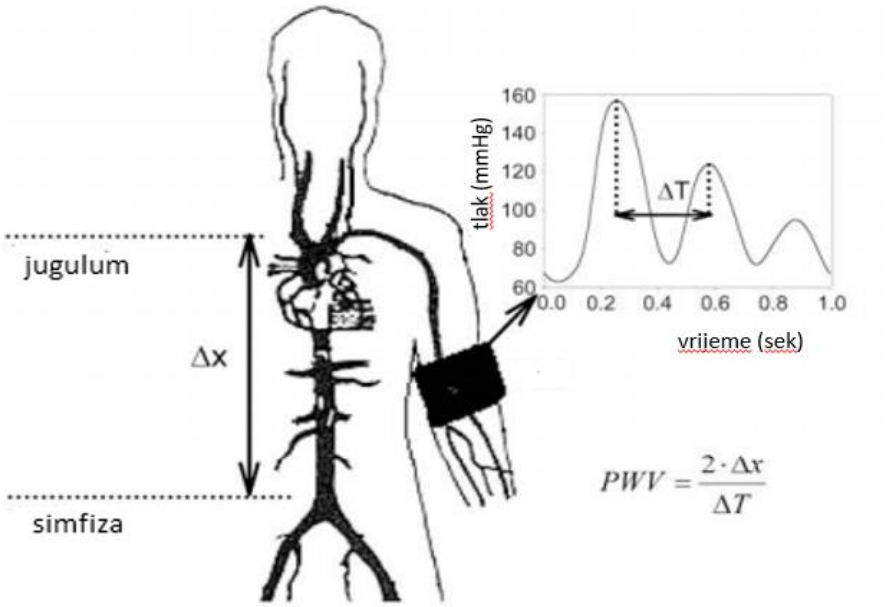


Slika 6. Arteriograph, uređaj korišten u ispitivanju. *(Izvor: https://www.tensiomed.com/)*

Uređaj radi na principu oscilometrije koja se temelji na fluktuaciji tlaka u okludiranoj arteriji ispod napuhane manžete spojene na piezoelektrični senzor koji registrira signale izmjerenog tlaka. Mjerenje se započinje stavljanjem manžete na desnu nadlakticu, točnije iznad brahijalne arterije. Arteriograph najprije mjeri sistolički i dijastolički tlak, a nakon toga se manžeta napuše na suprasistoličku vrijednost od 35 mmHg iznad vrijednosti sistoličkog tlaka i služi kao senzor za registriranje pulzatilnih promjena na okludiranoj brahijalnoj arteriji (45).

Prvi zabilježeni signal odgovara promjeni tlaka koja nastaje zbog sistoličkog izbacivanja krvi iz lijeve klijetke u aortu, a drugi signal potječe od valne refleksije nastale u donjim dijelovima tijela. Vrijeme koje prođe između prvog vala i reflektiranog vala označava se kao „vrijeme povratka“, odnosno vrijeme koje je potrebno da val prijeđe put od luka aorte do mjesta refleksije, bifurkacije ilijakalne arterije. Udaljenost od luka aorte do ilijakalne bifurkacije može se aproksimirati mjerenjem udaljenosti između sternalnog jugulума i pubične simfize. Pomoću nje se računa brzina pulsnoga vala dok softver iz izmjerenih perifernih (brahijalnih) vrijednosti

AIx-a i sistoličkog tlaka računa središnji (aortni) AIx i središnji sistolički tlak ($cP_{Sist.}$) bez primjene transferne funkcije (46). Osim što je potrebno poznavati princip rada i rukovanja uređajem te dobro tumačiti rezultate, metoda kao takva jest jednostavna i neinvazivna.



Slika 7. Koncept rada uređaja Arteriograph. *(Izvor: Segers P et al. Limitations and pitfalls of non invasive measurement of arterial pressure wave reflections and pulse wavw velocity. Artery Res 2009, 3: 79-88.)*

3.3.6. Udisanje kisika

Tijekom 30 minuta ispitanici su udisali čisti (100%-ni) kisik pomoću balon-neizdisajne maske u sobnim uvjetima i normalnom atmosferskom tlaku. Nosnice su bile zatvorene postavljanjem posebne štipaljke, a na ustima je postavljena disaljka spojena s dovodom čistog kisika.



Slika 8. Ispitanik u ležećem položaju, sa maskom za kisik tijekom tridesetminutne intervencije udisanja 100%-tnog normobaričnog kisika.

3.7. Statistička analiza

Vrijednosti svih mjerenih parametara izražene su kao srednje vrijednosti, tj. aritmetička sredina±standardna devijacija (SD).

Usporedba vrijednosti arterijskog tlaka i parametara arterijske elastičnosti između onih u kontrolnim uvjetima i nakon intervencije udisanja kisika u istoj vremenskoj fazi tijekom pokusa učinjena je primjenom dvosmjernog ANOVA testa za ponovljena mjerenja (engl. *two way – repeated measures ANOVA*) i *post-hoc* Tukey testa. Isti statistički test korišten je za evaluaciju učinaka umjerene konzumacije crnog ili crvenog vina, tj. usporedbu vrijednosti arterijskog tlaka i parametara arterijske elastičnosti u različitim vremenskim fazama, ali u istim pokusnim skupinama (kontrolni uvjeti ili intervencija udisanja kisika) tijekom pokusa.

Postavljene su se hipoteze testirale s razinom značajnosti $P < 0,05$ koristeći GraphPrism 6 (GraphPad Software, San Diego, CA, SAD).

4. REZULTATI

Tablica 2. Prikaz antropometrijskih mjerenja ispitanika

Mjerena vrijednost	Aritmetička sredina ± SD
Dob (god)	48±6
Tjelesna masa (kg)	93±10
Visina (cm)	185±4
Opseg vrata (cm)	42±3
Opseg nadlaktice (cm)	35±2
Opseg struka (cm)	103±9
Opseg bokova (cm)	108±5

Konzumacija vina nije dovela do promjena arterijskog tlaka u kontrolnim uvjetima, što je prikazano u Tablici 3 na sljedećoj stranici (P = 0,77 za periferni sistolički, P = 0,59 za periferni dijastolički i P = 0,17 za središnji sistolički tlak).

Udisanje kisika u svakoj je fazi pokusa izazvalo očekivani porast arterijskog tlaka.

Promatrajući samo periode bez konzumacije ikakvoga alkoholnoga pića (faza 1, *drive in* i faza 3 pokusa, *wash out*), udisanje kisika izazvalo je porast perifernih arterijskih tlakova, i to sistoličkoga za 6% i 8% (P = 0,02), a dijastoličkoga za 7% i 9% (P = 0,04), u odnosu na mjerenje u kontrolnim uvjetima u istoj fazi pokusa.

Promjena središnjega sistoličkoga tlaka bila je još izraženija i statistički značajnija: udisanje kisika izazvalo je porast središnjega sistoličkog tlaka za 11% i 9 % u fazi 1 i fazi 3 pokusa (P = 0,007) u odnosu na mjerenje u kontrolnim uvjetima u istoj fazi pokusa.

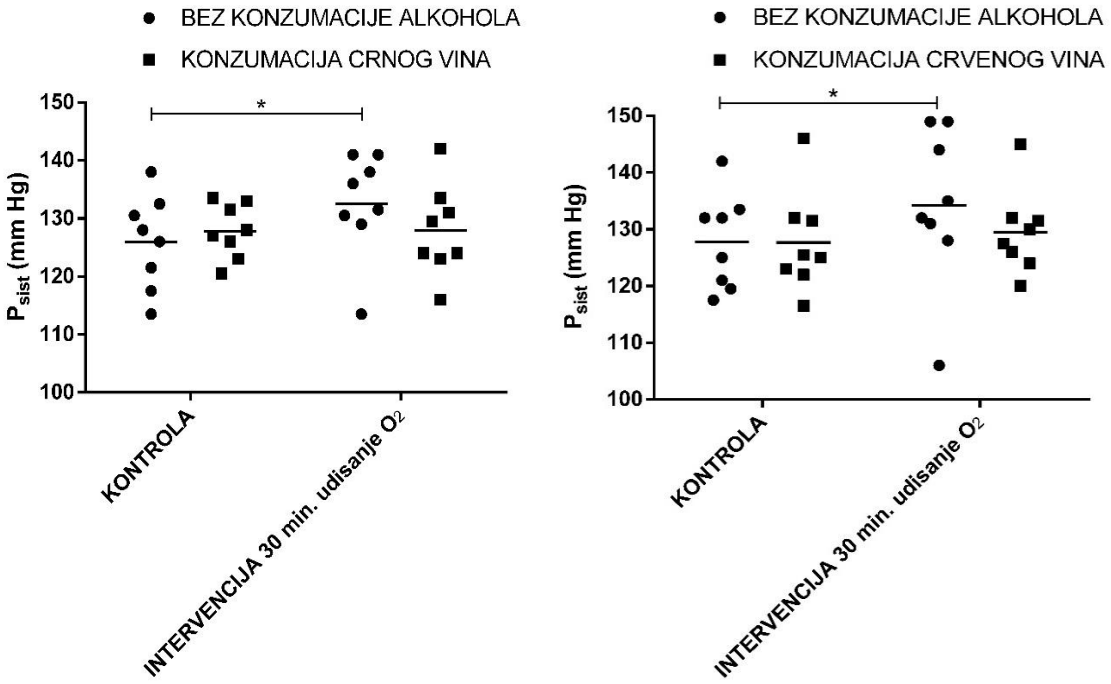
.

Tablica 3. Vrijednosti perifernog sistoličkog, perifernog dijastoličkog i središnjeg sistoličkog tlaka u kontrolnim uvjetima i nakon intervencije udisanja kisika

	Faza pokusa							
Mjereni parametar	FAZA 1 Period bez konzumacije ikakvih alkoholnih pića 1 (d*rive in*)		FAZA 2 Period konzumacije vina 1 (crno ili crveno)		FAZA 3 Period bez konzumacije ikakvih alkoholnih pića 2 (*wash out*)		FAZA 4 Period konzumacije vina 2 (crveno ili crno)	
	kontrola	intervencija udisanja kisika	kontrola	intervencija udisanja kisika	kontrola	intervencija udisanja kisika	kontrola	intervencija udisanja kisika
Sistolički arterijski tlak (mm Hg)	126±8	133±14*	126±9	128±8	124±10	134±10*	126±7	129±6
Dijastolički arterijski tlak (mm Hg)	77±8	84±14*	76±10	79±8	76±9	81±9*	76±8	79±6
Središnji sistolički tlak (mm Hg)	120±10	133±18*	120±11	126±10	117±12	128±17*	118±9	127±11

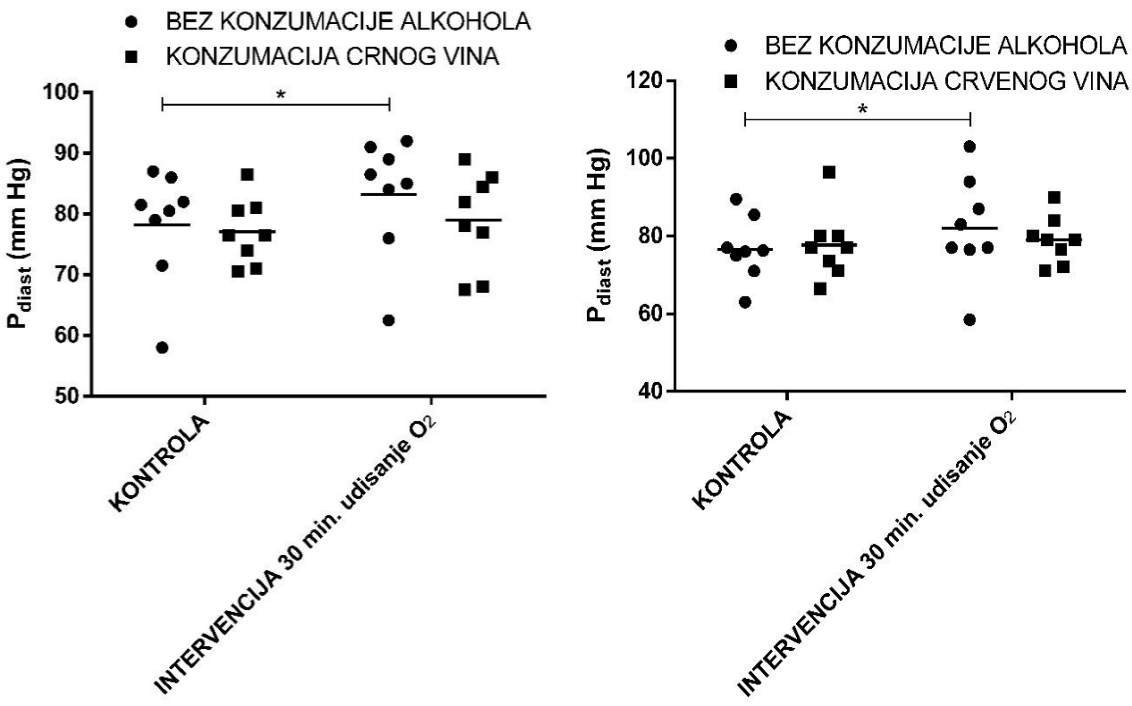
Podatci su izraženi kao aritmetička sredina±SD,
*dvosmjerna ANOVA za ponovljena mjerenja s *post-hoc* Tukey testom, $P < 0,05$

Nakon konzumacije vina, porast tlakova uzrokovan intervencijom udisanja kisika bio je manji (rezultati za sistolički tlak, Slika 9, rezultati za dijastolički tlak, Slika 10), što je izraženije nakon konzumacije vina s većim sadržajem polifenola (prikaz A na obje slike). Prosječni porast sistoličkog i dijastoličkog arterijskog tlaka nakon udisanja kisika bez konzumacije vina bio je 7 mm Hg, a nakon konzumacije crnog, polifenolima bogatijeg vina, i crvenog, polifenolima siromašnijeg vina, višestruko manji, tj. 1,5 mm Hg za sistolički (P = 0,51), a 4 mm Hg za dijastolički tlak (P = 0,26) uz crno vino i 3,5 mm Hg za sistolički (P = 0,18), a 3 mm Hg za dijastolički tlak (P = 0,51) uz crveno vino.



A B

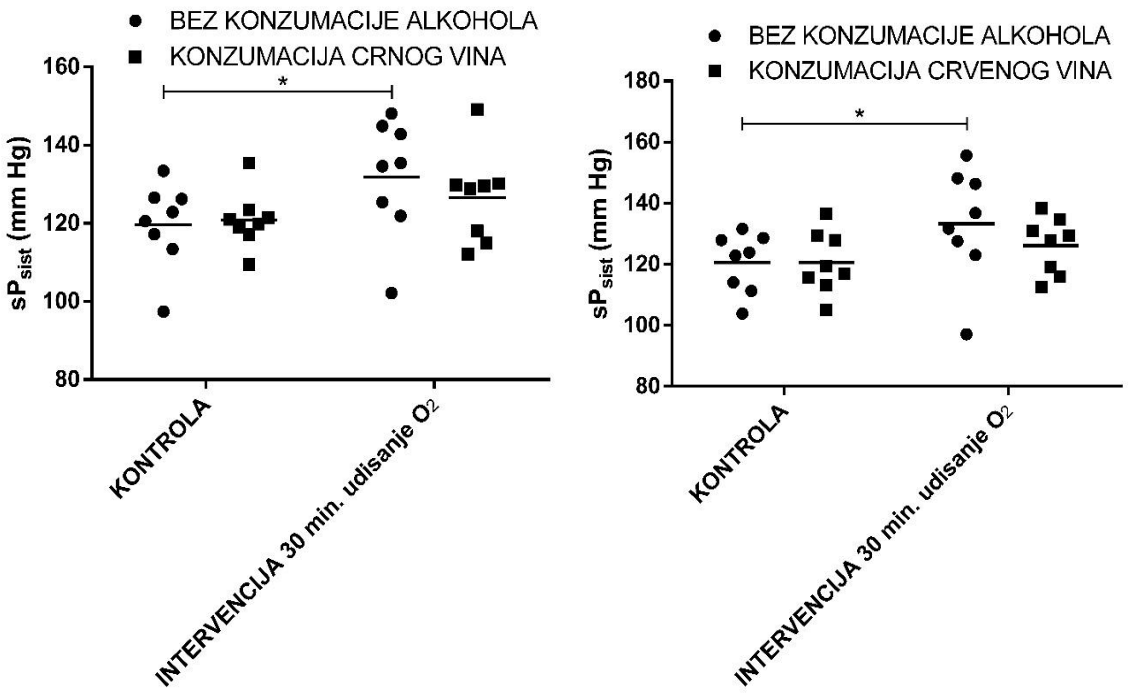
Slika 9. Periferni sistolički tlak nakon konzumacije crnog (A) i crvenog (B) vina u kontrolnim uvjetima i nakon intervencije udisanja 100%-tnog kisika.
Svaki ispitanik prikazan je zasebno, a različite oznake za istog ispitanika označuju različite faze pokusa u kojima se ili ne konzumira alkoholno piće ili konzumira jedno od ispitivanih pokusnih vina. Vodoravna crta u grafičkom prikazu označuje aritmetičku sredinu.
* dvosmjerna ANOVA za ponovljena mjerenja s *post-hoc* Tukey testom, P < 0,05



A B

Slika 10. Periferni dijastolički tlak nakon konzumacije crnog (A) i crvenog (B) vina u kontrolnim uvjetima i nakon intervencije udisanja 100%-tnog kisika.
Svaki ispitanik prikazan je zasebno, a različite oznake za istog ispitanika označuju različite faze pokusa u kojima se ili ne konzumira alkoholno piće ili konzumira jedno od ispitivanih pokusnih vina. Vodoravna crta u grafičkom prikazu označuje aritmetičku sredinu.
* dvosmjerna ANOVA za ponovljena mjerenja s *post-hoc* Tukey testom, $P < 0,05$

Promjena središnjeg sistoličkog tlaka slijedila je isti trend (Slika 11). Udisanje kisika u svih je ispitanika izazvalo porast u periodima bez konzumacije vina (prosječna vrijednost porasta je 13 mm Hg), a nakon konzumacije vina porast središnjeg sistoličkog tlaka bio je približno dvostruko manji: 127±12 mm Hg uz konzumaciju crnog vina u odnosu na 132±15 mm Hg bez konzumacije alkohola tijekom intervencije udisanja kisika ($P = 0,50$), a 126±9 mm Hg uz konzumaciju crvenog vina u odnosu na 133±18 mm Hg bez konzumacije alkohola tijekom intervencije udisanja kisika ($P = 0,11$). U promjeni središnjeg sistoličkog tlaka nije bilo razlike obzirom na vrstu konzumiranog vina ($P = 0,62$).



A B

Slika 11. Središnji sistolički tlak nakon konzumacije crnog (A) i crvenog (B) vina u kontrolnim uvjetima i nakon intervencije udisanja 100%-tnog kisika.
Svaki ispitanik prikazan je zasebno, a različite oznake za istog ispitanika označuju različite faze pokusa u kojima se ili ne konzumira alkoholno piće ili konzumira jedno od ispitivanih pokusnih vina. Vodoravna crta u grafičkom prikazu označuje aritmetičku sredinu.
* dvosmjerna ANOVA za ponovljena mjerenja s *post-hoc* Tukey testom, $P < 0,05$

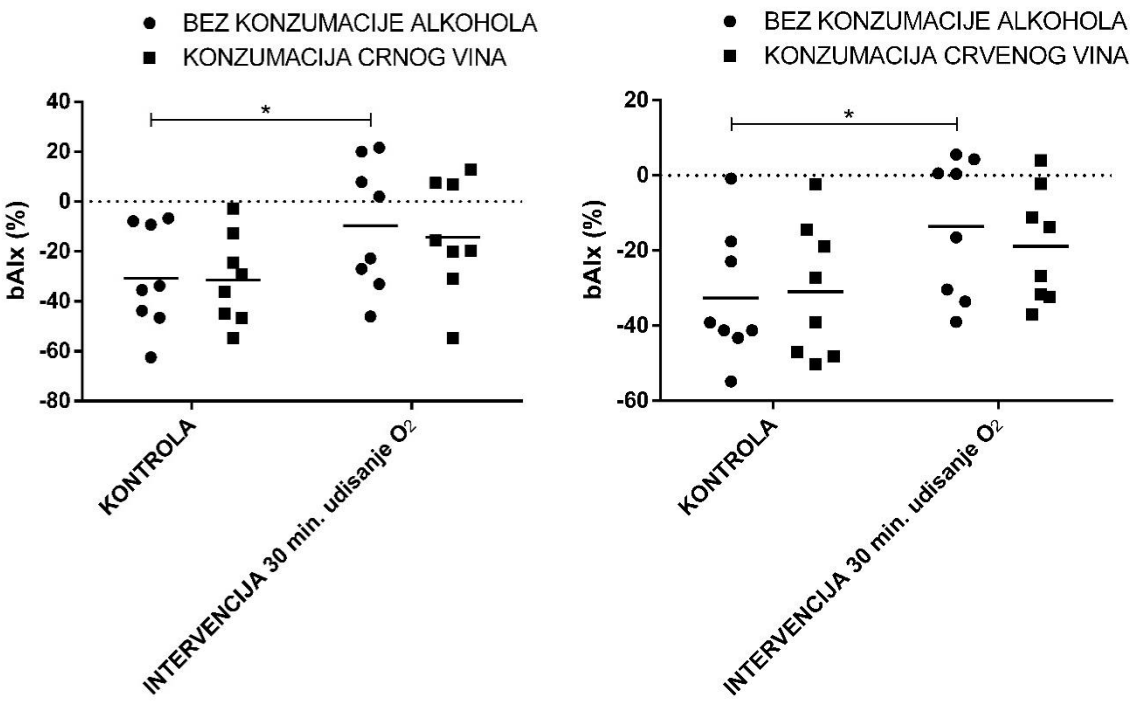
Promjene perifernog i središnjeg augmentacijskog indeksa ukazuju također na mogući protektivni učinak konzumacije vina, osobito onoga bogatijeg polifenolima, ali samo nakon intervencije udisanja kisikom. Naime, u kontrolnim uvjetima nije bilo razlike u ovim parametrima nakon tri tjedna konzumacije vina (Tablica 4).

Tablica 4. Vrijednosti perifernog i središnjeg augmentacijskog indeksa u kontrolnim uvjetima i nakon intervencije udisanja kisika.

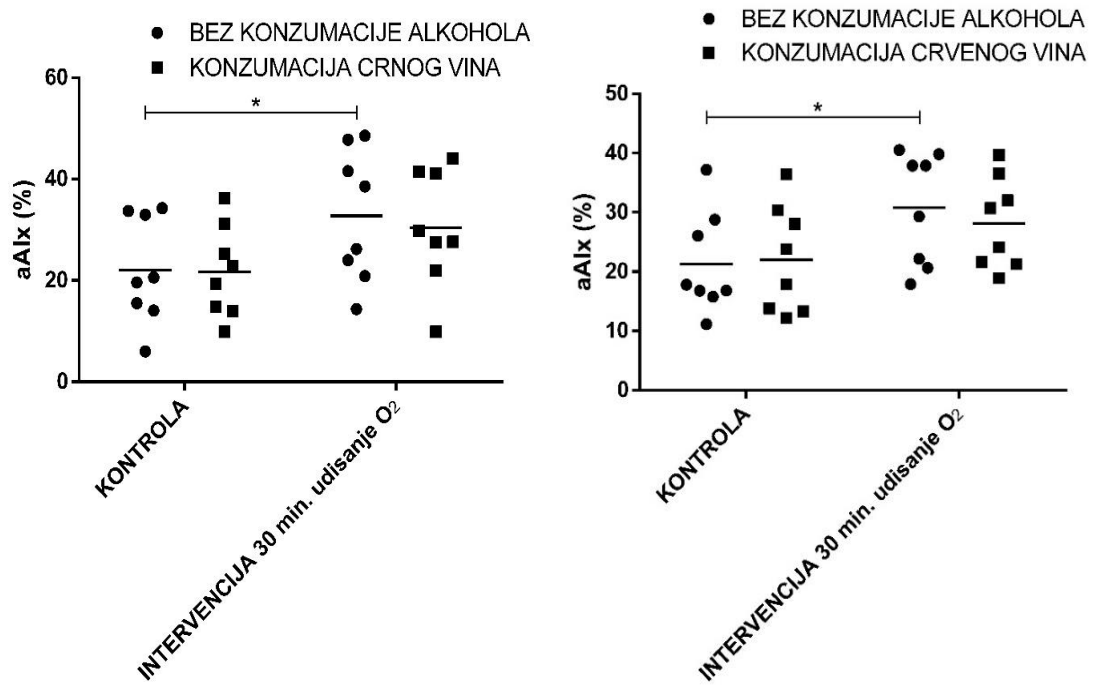
	Faza pokusa							
Mjereni parametar	FAZA 1 Period bez konzumacije ikakvih alkoholnih pića 1 (d*rive in*)		FAZA 2 Period konzumacije vina 1 (crno ili crveno)		FAZA 3 Period bez konzumacije ikakvih alkoholnih pića 2 (*wash out*)		FAZA 4 Period konzumacije vina 2 (crveno ili crno)	
	kontrola	intervencija udisanja kisika	Kontrola	intervencija udisanja kisika	kontrola	intervencija udisanja kisika	Kontrola	intervencija udisanja kisika
Periferni augmentacijski indeks (%)	-30,2±17.7	-9,8±21,4*	-29,7±15,0	-16,1±15,0	-33,2±18,2	-13,2±23,6*	-33,2±18,4	-17,0±23,2
Središnji augmentacijski indeks (%)	22,5±8.7	32,0±10,8*	22,6±7,6	29,5±7,6	20,8±9,2	30,8±11,9*	20,8±9,3	29,0±11,8

Podatci su izraženi kao aritmetička sredina±SD.
* dvosmjerna ANOVA za ponovljena mjerenja s *post-hoc* Tukey testom, P<0,05

Međutim nakon udisanja kisika u svih je ispitanika došlo do pogoršanja arterijske elastičnosti. Periferni i središnji augmentacijski indeksi porasli su za oko 30% (P = 0,003 za periferni i P = 0,001 za središnji AIx, u odnosu na vrijednosti u kontrolnim uvjetima, Tablica 4). Nakon konzumacije crnog, polifenolima bogatijeg vina, i crvenog, polifenolima siromašnijeg vina vrijednosti su augmentacijskih indeksa bile manje: uz konzumaciju crnog vina -14,3±22,8 % i 30,4±11,6 % u odnosu na -9,7±25,8 % i 32,7±13,0 % bez konzumacije alkohola tijekom intervencije udisanja kisika za periferni (P = 0,73) i središnji (P = 0,61) AIx; a uz konzumaciju crvenog vina -18,9±15,2 % i 28,1±7,7 % u odnosu na -13,6±18,6 % i 30,8±9,4 % bez konzumacije alkohola tijekom intervencije udisanja kisika za periferni (P = 0,77) i središnji AIx (P = 0,40). U promjeni augmentacijskih indeksa nije bilo razlike uzimajući u obzir vrstu konzumiranog vina (P = 0,85 za periferni i P = 0,81 za središnji AIx).



A B



A B

Slika 12. Periferni i središnji i augmentacijski indeks nakon konzumacije crnog (A) i crvenog (B) vina u kontrolnim uvjetima i nakon intervencije udisanja 100%-tnog kisika.
Svaki ispitanik prikazan je zasebno, a različite oznake za istog ispitanika označuju različite faze pokusa u kojima se ili ne konzumira alkoholno piće ili konzumira jedno od ispitivanih pokusnih vina. Vodoravna crta u grafičkom prikazu označuje aritmetičku sredinu.
* dvosmjerna ANOVA za ponovljena mjerenja s *post-hoc* Tukey testom, $P < 0,05$

Brzina pulsnoga vala nije se značajnije promijenila tijekom ovoga istraživanja. Iako postoji trend porasta u brzini pulsnoga vala nakon udisanja kisika, promjene nisu statistički značajne ($P = 0,08$ u odnosu na vrijednosti u kontrolnim uvjetima). U slučaju ovog parametra, međutim, učinci konzumacije crnog i crvenog vina nisu isti. Naime, nakon konzumacije crnog vina, smanjuje se porast brzine pulsnoga vala uzrokovan hiperoksijom (7,8±1,2 m/s u odnosu na 8,1±1,6 m/s bez konzumacije alkohola tijekom intervencije udisanja kisika, $P = 0,13$) a nakon konzumacije crvenoga vina ovaj učinak izostaje (7,7±1,0 m/s u odnosu na 7,2±0,4 m/s bez konzumacije alkohola tijekom intervencije udisanja kisika, $P = 0,09$).



A B

Slika 13. Brzina pulsnoga vala nakon konzumacije crnog (A) i crvenog (B) vina u kontrolnim uvjetima i nakon intervencije udisanja 100%-tnog kisika.
Svaki ispitanik prikazan je zasebno, a različite oznake za istog ispitanika označuju različite faze pokusa u kojima se ili ne konzumira alkoholno piće ili konzumira jedno od ispitivanih pokusnih vina. Vodoravna crta u grafičkom prikazu označuje aritmetičku sredinu.
* dvosmjerna ANOVA za ponovljena mjerenja s *post-hoc* Tukey testom, $P < 0,05$

5. RASPRAVA

Ovaj je diplomski rad pokazao da u naizgled zdravih muškaraca u dobi od 44 do 55 godina umjerena konzumacija crnog ili crvenog vina, 300 ml dnevno uz obrok tijekom tri tjedna, ne mijenja arterijski tlak u kontrolnim uvjetima. Sličan rezultat pokazan je i u studiji usporedivog eksperimentalnog dizajna, koje je, međutim, uključila nešto starije ispitanike s visokim kardiovaskularnim rizikom (33) koji su po tri tjedna uz obrok konzumirali crno vino, dealkoholizirano crno vino ili džin, s *wash out* periodima između konzumacija pojedinog napitka. I u ovoj je studiji konzumacija crnog vina bila bez učinaka na periferni arterijski tlak, dok je istovremeno konzumacija dealkoholiziranog crnog vina izazvala pad tlaka, sugerirajući presudnu ulogu polifenola kao modulatora krvožilne funkcije.

S druge strane, u studiji Bodtena i suradnika (47) konzumacija vinskih fenola (u obliku kapsuliranog ekstrakta) također nije izazvala promjene perifernoga niti središnjega arterijskoga tlaka. Ova je studija provedena na ispitanicima koji su prema vrijednostima početnih arterijskih tlakova najsličniji našima, tj. spadaju u rang visoko-normalnih vrijednosti, a autori su zaključili kako vinski fenoli pozitivno utječu na kardiovaskularnu funkciju samo u ispitanika s endotelnom disfunkcijom.

U našem su istraživanju vrijednosti sistoličkog arterijskoga tlaka za nekoliko mm Hg više od preporučenih normotenzivnih vrijednosti (124 i 126 mm Hg, Tablica 3) što bi, uz normalne vrijednosti parametara arterijske elastičnosti i unatoč nepostojanju jasnih znakova vaskularne disfunkcije, moglo ukazivati na minimalnu fiziološku rezervu te povećanu 'ranjivost' vaskularnog sustava u ovih ispitanika. Ovi su ispitanici time možda i osjetljivi na farmakološku ili ne-farmakološku intervenciju s ciljem poboljšanja funkcije ili prevencije daljnjeg vaskularnog oštećenja. Stoga se u svakoj fazi pokusa uz mjerenja u kontroliranim uvjetima izvršila i intervencija u kojoj su ispitanici tijekom 30 minuta udisali normobarični O_2. Ova intervencija uzrokovala je hiperoksiju koja je uz oksidativni stres i sustavnu vazokonstrikciju uzrokovala porast tlakova, osobito središnjeg sistoličkog tlaka i pogoršanje arterijske elastičnosti, tj. akutnu i prolaznu hemodinamsku disfunkciju.

Kako je periferni arterijski tlak važan, ali prilično robustan pokazatelj krvožilne funkcije, u opisanom istraživanju pratili smo i promjene središnjeg arterijskog tlaka. Periferni sistolički tlak, mjeren obično na brahijalnoj arteriji, varira duž arterijskog stabla, a središnji, tj aortni sistolički tlak najčešće je, uz brojne inter-individualne razlike, niži u odnosu na brahijalni. Danas se smatra da je središnji sistolički tlak bolji pokazatelj kardiovaskularnog rizika te je potrebno usmjeriti terapijske intervencije upravo na njegovo poboljšavanje, tim više što,

primjerice, neki antihipertenzivi ostvaruju suprotne učinke na periferni i središnji sistolički tlak (48).

U našem istraživanju konzumacija niti crnog (121±7 mm Hg u odnosu na 120±11 mm Hg bez konzumacije) niti crvenog vina (ista vrijednost od 120±10 mm Hg bez i s konzumacijom vina) nije izazvala promjene središnjeg sistoličkog tlaka (Slika 11). Karatzi i suradnici izvijestili su o smanjenju središnjeg sistoličkog tlaka u bolesnika s koronarnom bolesti nakon konzumacije crnog ili dealkoholiziranog vina (49). U ovoj je studiji, međutim, vino konzumirano samo jednom, a mjerenja izvršena neposredno nakon jednokratne konzumacije, a uključeni su ispitanici bili narušenog kardiovaskularnog zdravlja, što ograničava mogućnost usporedbe s našim rezultatima.

Dodatni pokazatelj važnosti središnjeg sistoličkog tlaka kao pokazatelja vaskularne funkcije je njegov veći i statistički značajniji porast nakon udisanja O_2 (13 mm Hg u odnosu na kontrolne uvjete), u usporedbi s perifernim sistoličkim tlakom (7 mm Hg u odnosu na kontrolne uvjete).

Iako je važnost arterijske elastičnosti kao pokazatelja vaskularnog zdravlja prepoznata već od 19. stoljeća (50), smjernice Europskog društva za hipertenziju/kardiologiju (engl. *European Society of Cardiology / European Society of Hypertension Guidelines*) tek su nedavno u procjenu kardiovaskularnog rizika uključile i brzinu karotidno-femoralnog vala (engl. *pulse wave valocity*, PWV) kao najvažnijeg pokazatelja arterijske elastičnosti (51).

Neizravan, ali važan parametar arterijske elastičnosti jest augmentacijski indeks, središnji, aortni (aAIx) i periferni, u našem istraživanju brahijalni (bAIx), koji su zapravo pokazatelji refleksije pulsnoga vala. Središnji AIx također se smatra nezavisnim prediktorom kardiovaskularnog mortaliteta (52). Referentne se vrijednosti za ovaj parametar uvijek vezuju za dob ispitanika i još uvijek istražuju (53, 54). Povećane vrijednosti nastaju pri smanjenju arterijske elastičnosti odnosno pojave ukrućivanja arterija (engl. *arterial stiffness*) i odraz su prisutne augmentacije. Porast središnjeg tlaka zbog preuranjene i snažnije refleksije odlaznog pulsnog vala povećava srčano tlačno opterećenja, a istovremeno smanjuje koronarnu perfuziju.

Naizgled zdravi ispitanici uključeni u naše istraživanje imali su normalne vrijednosti aAIx-a u kontrolnim uvjetima (22,5±8,7 %), a umjerena konzumacija vina nije imala učinka niti na aAIx, niti na ostala dva parametra arterijske elastičnosti, bez obzira radi li se o konzumaciji crnog ili crvenog vina (Slika 13, Tablica 4). Suprotno tome, akutna konzumacija crnog i dealkoholiziranog crnog vina dovela je do pada i PWV i AIx-a u istraživanju koje je provedeno na zdravim, nešto mlađim, ženskim i muškim ispitanicima (55). Osim što je u navedenoj studiji

vino konzumirano jednokratno, dodatan razlog nepodudarnosti rezultata je i uključenost žena u generativnoj životnoj dobi i različitog hormonskog statusa u studiju, što je značajno moglo utjecati na sveukupne rezultate. Pokazano je, naime, da se arterijska elastičnost značajno mijenja tijekom menstrualnog ciklusa (56).

Strukturalne promjene u stjenkama veliki arterija koje se događaju sa starenjem i uz prisustvo kardiovaskularnih rizika, primarno utječu na arterijsku elastičnost. Potrebno je dulje vremena kako bi se promjene u strukturi dogodile i postale mjerljive u vidu parametra brzine pulsnog vala. Stoga, najveći broj studija koji je istraživao učinke jednokratne ili kronične konzumacije vina uopće ne izvješćuje o ovom parametru (17, 18, 49, 57). U našem je istraživanju nakon vazokonstrikcije inducirane hiperoksijom došlo do pogoršanja arterijske elastičnosti i porasta aAIx-a (32,7±10,8 %), ali ne i do porasta brzine pulsnoga vala.

Promjene u vazomotornom tonusu arterija također utječu na parametre arterijske elastičnosti koji ovim mehanizmom neizravno ovise i o sposobnosti endotela da proizvodi vazodilatacijske čimbenike. Kao što je vidljivo iz naših rezultata, postoji tendencija da konzumacija vina smanjuje hiperoksijom uzrokovano pogoršanje arterijske elastičnosti. Vino je snažan izravan endotel-ovisan vazodilatator (58) čiji je učinak *in vitro* vezan uz povećanu indukciju enzima eNOS (59), a njegovom konzumacijom raste koncentracija NO-a u plazmi ispitanika (60). Nadalje, vino je i moćni *in vitro* antioksidans (58) koji može bar donekle smanjiti oksidativni stres uvjetovan udisanjem O_2 (17, 18). Jedan od predloženih mehanizama *in vivo* antioksidacijskog učinka konzumacije vina je i smanjena aktivnost prooksidativnih enzima, primjerice superoksid-dismutaze (61). Opisani se učinci primarno povezuju s polifenolnim sadržajem vina.

Uloga antioksidansa kao zaštitnih čimbenika koji mogu smanjiti pogoršanje arterijske elastičnosti uzrokovano udisanjem O_2 pokazano je u studiji Vučinovića i suradnika. Konzumacija napitka bogatog antioksidansima (koktel s vitaminima C i E te α-lipoičnom kiselinom) u ovoj je studiji smanjila pogoršanje arterijske elastičnosti za otprilike 50% što je usporedivo s konzumacijom vina u našem istraživanju (16).

Ulogu polifenola u mogućem utjecaju umjerene konzumacije vina testirali smo u našoj studiji tako da su isti ispitanici konzumirali dvije vrste vina s *wash out* periodom između. Ispitivana vina dobivena su od iste sorte grožđa (*Plavac mali*) uzgojenog na istom području i pobrano iste godine (2015). Nadalje, proizvedena su vinifikacijskim postupkom koji je rezultirao vrlo sličnim sadržajem alkohola (14,7 vol % i 14,3 vol% za crno i crveno vino), pri čemu je kod

crvenog vina grožđani sok odmah odvojen od biljnog materijala (kao u proizvodnji bijeloga vina), a kod crnog je vina kontakt grožđanog soka s biljnim materijalom bio produžen na sedam dana. To je rezultiralo razlikama u sadržaju polifenola: crno vino bilo je bogatije polifenolima (3210 mg GAE/L), a crveno je vino imalo trostruko manji polifenolni sadržaj (1074 mg GAE/L). Unatoč postojećem trendu, u opisanom istraživanju nije dokazan statistički povoljniji učinak konzumacije vina s većim sadržajem polifenola nakon udisanja O_2 niti na arterijski tlak niti na parametre arterijske elastičnosti. Slični rezultati pokazani su u studiji Papamichaela i suradnika u kojoj je akutna konzumacija crnog vina uz maslinovo ulje, pokazala tendenciju boljeg hemodinamskog učinka u usporedbi s kombinacijom maslinovog ulja i bijelog vina (62).

Naša studija ima određena ograničenja. Glavno je ograničenje studije relativno kratka konzumacija vina koja otežava mogućnost zaključivanja o utjecaju svakodnevne umjerene konzumacije vina na kardiovaskularno zdravlje. Međutim, vrlo je zahtjevno održati dobru adherenciju ispitanika i motivirati ih na dulje istraživanje. Nadalje, model udisanja O_2 s ne-izdisajnom maskom kao intervencija nije bio praćen odgovarajućim laboratorijskim testovima praćenja parcijalnih tlakova O_2 i CO_2 u krvi, niti zasićenosti hemoglobina. Da se na ovaj način ipak postiže hiperoksija pokazano je u prethodnim istraživanjima, koja su izvršena u laboratoriju Zavoda za temeljnu i kliničku farmakologiju, s istom eksperimentalnom opremom i prema istom protokolu (16-18).

U budućnosti se planira provesti istraživanje o učinku umjerene konzumacije vina u ispitanika sa šećernom bolesti tipa 2, bez intervencije udisanja O_2.

Može se zaključiti kako je i dalje potrebno istraživati kardiovaskularne učinke umjerene konzumacije vina, kako u zdravih tako i u bolesnih ispitanika. Zaključci postojećih studija teško su međusobno usporedivi, tako da se u planiranju budućih istraživanja treba vrlo pažljivo osmisliti dizajn istraživanja. Umjerena konzumacija vina uz obrok sastavni je dio mediteranske prehrane i predstavlja jednostavnu, ne-farmakološku intervenciju kojom se može unaprijediti arterijska elastičnost i doprinijeti zdravlju kardiovaskularnog sustava.

6. ZAKLJUČCI

1. U kontrolnim uvjetima konzumacija vina ne utječe na hemodinamiku: niti na arterijski krvni tlak, niti na i parametre arterijske elastičnosti.

2. Unatoč opaženom trendu, vino nije pokazalo statistički značajno poboljšanje arterijske elastičnosti nakon hiperoksijom uzrokovanog oksidativnog stresa.

3. Unatoč opaženom trendu, crno vino, bogatije polifenolima, nije ostvarilo statistički različite učinke na parametre arterijske elastičnosti u odnosu na crveno vino koje u svom sadržaju ima manje polifenola.

7. POPIS CITIRANE LITERATURE

1. Guyton AC, Hall JE. Medicinska fiziologija. 11th ed. Zagreb: Medicinska naklada; 2006.
2. Krmpotić-Nemanić J, Marušić A. Anatomija čovjeka. 2nd, corrected ed. Zagreb: Medicinska naklada; 2007.
3. Lu CW, Lee CJ, Hou JS, Wu DA, Hsu BG. Positive correlation of serum leptin levels and peripheral arterial stiffness in patients with type 2 diabetes. Ci ji yi xue za zhi = Tzu-chi medical journal. 2018;30(1):10-4. Epub 2018/04/13.
4. Manivel R, Ravanan P, Meenakshisundram C, Dhanaprakasam N, Sundramoorthy SA, Sreekumar S, et al. Study to Predict Vascular Dysfunctions in High Risk Young Adults- An Immediate Non-Invasive Investigation to Prevent Early Vascular Ageing. Journal of clinical and diagnostic research : JCDR. 2015;9(7):CC01-3. Epub 2015/09/24.
5. Vuković J. Zaštitno djelovanje mokraćne kisline na oksidacijski stres i elastičnost arterijske stijenke: Medicinski fakultet Split; 2009.
6. Samson SL, Garber AJ. Metabolic syndrome. Endocrinology and metabolism clinics of North America. 2014;43(1):1-23. Epub 2014/03/04.
7. Jeong HS, Kim S, Hong SJ, Choi SC, Choi JH, Kim JH, et al. Black Raspberry Extract Increased Circulating Endothelial Progenitor Cells and Improved Arterial Stiffness in Patients with Metabolic Syndrome: A Randomized Controlled Trial. Journal of medicinal food. 2016;19(4):346-52. Epub 2016/02/19.
8. Katzung BG. Temeljna i klinička farmakologija. 11th ed. Zagreb: Medicinska naklada; 2011.
9. Wilhelm B, Klein J, Friedrich C, Forst S, Pfutzner A, Kann PH, et al. Increased arterial augmentation and augmentation index as surrogate parameters for arteriosclerosis in subjects with diabetes mellitus and nondiabetic subjects with cardiovascular disease. Journal of diabetes science and technology. 2007;1(2):260-3. Epub 2007/03/01.
10. Cosenso-Martin LN, Giollo-Junior LT, Martineli DD, Cesarino CB, Nakazone MA, Cipullo JP, et al. Twelve-week randomized study to compare the effect of vildagliptin vs. glibenclamide both added-on to metformin on endothelium function in patients with type 2 diabetes and hypertension. Diabetology & metabolic syndrome. 2015;7:70. Epub 2015/08/28.
11. OXY. Liječnje primjenom hiperbarične oksigenacije. [cited 2019. 16.10.]; Available from: http://oxy.hr/savjeti-doktora/lijecenje/sto-je-to-hiperbaricna-oksigenoterapija-hbot.
12. Munko T, Skelin Uglik N, Komerički M. Liječenje kisikom u kući. Zagreb: DZVZ; 2015 [cited 2019 16.10.]. Available from: http://dzvz.hr/dokumenti/Lijecenje-kisikom-u-kuci.pdf.
13. Bennett MH, Feldmeier J, Smee R, Milross C. Hyperbaric oxygenation for tumour sensitisation to radiotherapy. The Cochrane database of systematic reviews. 2012(4):CD005007. Epub 2012/04/20.
14. Levett D, Bennett MH, Millar I. Adjunctive hyperbaric oxygen for necrotizing fasciitis. The Cochrane database of systematic reviews. 2015;1:CD007937. Epub 2015/04/17.
15. Modun D, Krnic M, Vukovic J, Kokic V, Kukoc-Modun L, Tsikas D, et al. Plasma nitrite concentration decreases after hyperoxia-induced oxidative stress in healthy humans. Clinical physiology and functional imaging. 2012;32(5):404-8. Epub 2012/08/04.
16. Vucinovic Z, Duplancic D, Seselja-Perisin A, Kukoc-Modun L, Gunjaca G, Radman M, et al. Acute application of antioxidants protects against hyperoxia-induced reduction of plasma nitrite concentration. Clinical physiology and functional imaging. 2015;35(1):76-80. Epub 2014/05/28.
17. Vukovic J, Modun D, Budimir D, Sutlovic D, Salamunic I, Zaja I, et al. Acute, food-induced moderate elevation of plasma uric acid protects against hyperoxia-induced oxidative stress and increase in arterial stiffness in healthy humans. Atherosclerosis. 2009;207(1):255-60. Epub 2009/05/22.
18. Krnic M, Modun D, Budimir D, Gunjaca G, Jajic I, Vukovic J, et al. Comparison of acute effects of red wine, beer and vodka against hyperoxia-induced oxidative stress and increase in arterial stiffness in healthy humans. Atherosclerosis. 2011;218(2):530-5. Epub 2011/08/02.
19. Napoli R, Cozzolino D, Guardasole V, Angelini V, Zarra E, Matarazzo M, et al. Red wine consumption improves insulin resistance but not endothelial function in type 2 diabetic patients. Metabolism: clinical and experimental. 2005;54(3):306-13. Epub 2005/03/01.

20. Renaud S, de Lorgeril M. Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease. Lancet. 1992;339(8808):1523-6. Epub 1992/06/20.
21. Stein JH, Keevil JG, Wiebe DA, Aeschlimann S, Folts JD. Purple grape juice improves endothelial function and reduces the susceptibility of LDL cholesterol to oxidation in patients with coronary artery disease. Circulation. 1999;100(10):1050-5. Epub 1999/09/08.
22. Waterhouse AL. Wine phenolics. Annals of the New York Academy of Sciences. 2002;957:21-36. Epub 2002/06/21.
23. Fitzpatrick DF, Hirschfield SL, Coffey RG. Endothelium-dependent vasorelaxing activity of wine and other grape products. The American journal of physiology. 1993;265(2 Pt 2):H774-8. Epub 1993/08/01.
24. Dal S, Sigrist S. The Protective Effect of Antioxidants Consumption on Diabetes and Vascular Complications. Diseases. 2016;4(3). Epub 2016/07/11.
25. Rauf A, Imran M, Butt MS, Nadeem M, Peters DG, Mubarak MS. Resveratrol as an anti-cancer agent: A review. Critical reviews in food science and nutrition. 2018;58(9):1428-47. Epub 2016/12/22.
26. Wallerath T, Poleo D, Li H, Forstermann U. Red wine increases the expression of human endothelial nitric oxide synthase: a mechanism that may contribute to its beneficial cardiovascular effects. Journal of the American College of Cardiology. 2003;41(3):471-8. Epub 2003/02/11.
27. Ruf JC. Alcohol, wine and platelet function. Biological research. 2004;37(2):209-15. Epub 2004/10/01.
28. Caimi G, Carollo C, Lo Presti R. Diabetes mellitus: oxidative stress and wine. Current medical research and opinion. 2003;19(7):581-6. Epub 2003/11/11.
29. Rimm EB, Chan J, Stampfer MJ, Colditz GA, Willett WC. Prospective study of cigarette smoking, alcohol use, and the risk of diabetes in men. BMJ. 1995;310(6979):555-9. Epub 1995/03/04.
30. Estruch R, Sacanella E, Badia E, Antunez E, Nicolas JM, Fernandez-Sola J, et al. Different effects of red wine and gin consumption on inflammatory biomarkers of atherosclerosis: a prospective randomized crossover trial. Effects of wine on inflammatory markers. Atherosclerosis. 2004;175(1):117-23. Epub 2004/06/10.
31. Badia E, Sacanella E, Fernandez-Sola J, Nicolas JM, Antunez E, Rotilio D, et al. Decreased tumor necrosis factor-induced adhesion of human monocytes to endothelial cells after moderate alcohol consumption. The American journal of clinical nutrition. 2004;80(1):225-30. Epub 2004/06/24.
32. Imhof A, Blagieva R, Marx N, Koenig W. Drinking modulates monocyte migration in healthy subjects: a randomised intervention study of water, ethanol, red wine and beer with or without alcohol. Diabetes & vascular disease research. 2008;5(1):48-53. Epub 2008/04/10.
33. Chiva-Blanch G, Urpi-Sarda M, Llorach R, Rotches-Ribalta M, Guillen M, Casas R, et al. Differential effects of polyphenols and alcohol of red wine on the expression of adhesion molecules and inflammatory cytokines related to atherosclerosis: a randomized clinical trial. The American journal of clinical nutrition. 2012;95(2):326-34. Epub 2011/12/30.
34. Hvidtfeldt UA, Tolstrup JS, Jakobsen MU, Heitmann BL, Gronbaek M, O'Reilly E, et al. Alcohol intake and risk of coronary heart disease in younger, middle-aged, and older adults. Circulation. 2010;121(14):1589-97. Epub 2010/03/31.
35. Sacanella E, Vazquez-Agell M, Mena MP, Antunez E, Fernandez-Sola J, Nicolas JM, et al. Down-regulation of adhesion molecules and other inflammatory biomarkers after moderate wine consumption in healthy women: a randomized trial. The American journal of clinical nutrition. 2007;86(5):1463-9. Epub 2007/11/10.
36. Williamson G, Manach C. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. II. Review of 93 intervention studies. The American journal of clinical nutrition. 2005;81(1 Suppl):243S-55S. Epub 2005/01/11.
37. Arranz S, Chiva-Blanch G, Valderas-Martinez P, Medina-Remon A, Lamuela-Raventos RM, Estruch R. Wine, beer, alcohol and polyphenols on cardiovascular disease and cancer. Nutrients. 2012;4(7):759-81. Epub 2012/08/02.

38. van Bussel BCT, Henry RMA, Schalkwijk CG, Dekker JM, Nijpels G, Feskens EJM, et al. Alcohol and red wine consumption, but not fruit, vegetables, fish or dairy products, are associated with less endothelial dysfunction and less low-grade inflammation: the Hoorn Study. European journal of nutrition. 2018;57(4):1409-19. Epub 2017/03/30.
39. Shen J, Wilmot KA, Ghasemzadeh N, Molloy DL, Burkman G, Mekonnen G, et al. Mediterranean Dietary Patterns and Cardiovascular Health. Annual review of nutrition. 2015;35:425-49. Epub 2015/05/15.
40. Kastorini CM, Milionis HJ, Esposito K, Giugliano D, Goudevenos JA, Panagiotakos DB. The effect of Mediterranean diet on metabolic syndrome and its components: a meta-analysis of 50 studies and 534,906 individuals. Journal of the American College of Cardiology. 2011;57(11):1299-313. Epub 2011/03/12.
41. Martinez-Gonzalez MA, de la Fuente-Arrillaga C, Nunez-Cordoba JM, Basterra-Gortari FJ, Beunza JJ, Vazquez Z, et al. Adherence to Mediterranean diet and risk of developing diabetes: prospective cohort study. BMJ. 2008;336(7657):1348-51. Epub 2008/05/31.
42. Fuentes F, Lopez-Miranda J, Sanchez E, Sanchez F, Paez J, Paz-Rojas E, et al. Mediterranean and low-fat diets improve endothelial function in hypercholesterolemic men. Annals of internal medicine. 2001;134(12):1115-9. Epub 2001/06/20.
43. Dai J, Jones DP, Goldberg J, Ziegler TR, Bostick RM, Wilson PW, et al. Association between adherence to the Mediterranean diet and oxidative stress. The American journal of clinical nutrition. 2008;88(5):1364-70. Epub 2008/11/11.
44. Domenech M, Roman P, Lapetra J, Garcia de la Corte FJ, Sala-Vila A, de la Torre R, et al. Mediterranean diet reduces 24-hour ambulatory blood pressure, blood glucose, and lipids: one-year randomized, clinical trial. Hypertension. 2014;64(1):69-76. Epub 2014/05/07.
45. Rabben SI, Stergiopulos N, Hellevik LR, Smiseth OA, Slordahl S, Urheim S, et al. An ultrasound-based method for determining pulse wave velocity in superficial arteries. Journal of biomechanics. 2004;37(10):1615-22. Epub 2004/09/01.
46. Kips JG, Rietzschel ER, De Buyzere ML, Westerhof BE, Gillebert TC, Van Bortel LM, et al. Evaluation of noninvasive methods to assess wave reflection and pulse transit time from the pressure waveform alone. Hypertension. 2009;53(2):142-9. Epub 2008/12/17.
47. Botden IP, Draijer R, Westerhof BE, Rutten JH, Langendonk JG, Sijbrands EJ, et al. Red wine polyphenols do not lower peripheral or central blood pressure in high normal blood pressure and hypertension. American journal of hypertension. 2012;25(6):718-23. Epub 2012/03/17.
48. McEniery CM, Cockcroft JR, Roman MJ, Franklin SS, Wilkinson IB. Central blood pressure: current evidence and clinical importance. European heart journal. 2014;35(26):1719-25. Epub 2014/01/25.
49. Karatzi KN, Papamichael CM, Karatzis EN, Papaioannou TG, Aznaouridis KA, Katsichti PP, et al. Red wine acutely induces favorable effects on wave reflections and central pressures in coronary artery disease patients. American journal of hypertension. 2005;18(9 Pt 1):1161-7. Epub 2005/09/27.
50. Adji A, O'Rourke MF, Namasivayam M. Arterial stiffness, its assessment, prognostic value, and implications for treatment. American journal of hypertension. 2011;24(1):5-17. Epub 2010/10/14.
51. Williams B, Mancia G, Spiering W, Agabiti Rosei E, Azizi M, Burnier M, et al. 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension: The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Cardiology and the European Society of Hypertension: The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Cardiology and the European Society of Hypertension. Journal of hypertension. 2018;36(10):1953-2041. Epub 2018/09/21.
52. Laurent S, Cockcroft J, Van Bortel L, Boutouyrie P, Giannattasio C, Hayoz D, et al. Expert consensus document on arterial stiffness: methodological issues and clinical applications. European heart journal. 2006;27(21):2588-605. Epub 2006/09/27.
53. Diaz A, Zocalo Y, Bia D, Cabrera Fischer E. Reference Intervals of Central Aortic Blood Pressure and Augmentation Index Assessed with an Oscillometric Device in Healthy Children, Adolescents, and

Young Adults from Argentina. International journal of hypertension. 2018;2018:1469651. Epub 2018/06/01.
54. Janner JH, Godtfredsen NS, Ladelund S, Vestbo J, Prescott E. Aortic augmentation index: reference values in a large unselected population by means of the SphygmoCor device. American journal of hypertension. 2010;23(2):180-5. Epub 2009/12/05.
55. Mahmud A, Feely J. Divergent effect of acute and chronic alcohol on arterial stiffness. American journal of hypertension. 2002;15(3):240-3. Epub 2002/04/10.
56. M M, Ta S. Effect of Different Phases of Menstrual Cycle on Reflection Index, Stiffness index and Pulse wave velocity in Healthy subjects. Journal of clinical and diagnostic research : JCDR. 2014;8(9):BC01-4. Epub 2014/11/12.
57. Naissides M, Pal S, Mamo JC, James AP, Dhaliwal S. The effect of chronic consumption of red wine polyphenols on vascular function in postmenopausal women. European journal of clinical nutrition. 2006;60(6):740-5. Epub 2006/02/03.
58. Mudnic I, Budimir D, Modun D, Gunjaca G, Generalic I, Skroza D, et al. Antioxidant and vasodilatory effects of blackberry and grape wines. Journal of medicinal food. 2012;15(3):315-21. Epub 2011/11/16.
59. Leikert JF, Rathel TR, Wohlfart P, Cheynier V, Vollmar AM, Dirsch VM. Red wine polyphenols enhance endothelial nitric oxide synthase expression and subsequent nitric oxide release from endothelial cells. Circulation. 2002;106(13):1614-7. Epub 2002/09/25.
60. Chiva-Blanch G, Urpi-Sarda M, Ros E, Arranz S, Valderas-Martinez P, Casas R, et al. Dealcoholized red wine decreases systolic and diastolic blood pressure and increases plasma nitric oxide: short communication. Circulation research. 2012;111(8):1065-8. Epub 2012/09/08.
61. Estruch R, Martinez-Gonzalez MA, Corella D, Basora-Gallisa J, Ruiz-Gutierrez V, Covas MI, et al. Effects of dietary fibre intake on risk factors for cardiovascular disease in subjects at high risk. Journal of epidemiology and community health. 2009;63(7):582-8. Epub 2009/03/18.
62. Papamichael CM, Karatzi KN, Papaioannou TG, Karatzis EN, Katsichti P, Sideris V, et al. Acute combined effects of olive oil and wine on pressure wave reflections: another beneficial influence of the Mediterranean diet antioxidants? Journal of hypertension. 2008;26(2):223-9. Epub 2008/01/15.

8. SAŽETAK

Uvod i cilj: Udisanje normobaričnog kisika koristi se kao terapija u različitim bolestima. Kako se često koristi empirijski, bolesnici mogu biti izloženi značajnim periodima hiperoksije što rezultira oksidativnim stresom, vazokonstrikcijom i pogoršanjem arterijske elastičnosti. S druge strane, brojne su studije pokazale da umjerena konzumacija vina smanjuje rizik obolijevanja i smrtnosti od kardiovaskularnih bolesti, koje se vezuju uz vazokonstrikciju i oksidativni stres. Stoga je cilj istraživanja bio istražiti učinke umjerene konzumacije crnog i crvenog vina na parametre arterijske elastičnosti i krvni tlak prije i poslije hiperoksije.

Materijali i metode: U randomizirano ukriženo ispitivanje uključeni su naizgled zdravi ispitanici, muškog spola, dobi od 44 do 55 godina, koji nisu bili liječeni lijekovima (N = 9). Studija je trajala deset tjedana; dva tjedna bez konzumacije ikakvih alkoholna pića (*drive in*), tri tjedna konzumacije crnog ili crvenog vina, zatim ponovno dva tjedna bez konzumacije ikakvih alkoholna pića (*wash out*), i tri tjedna konzumacije drugog, crvenog ili crnog vina. Tijekom tri tjedna ispitanici su konzumirali 300 ml crnog ili crvenog vina sorte *Plavac mali* uz obrok. Hemodinamski parametri, krvni tlak i arterijska elastičnost mjereni su uređajem *Arteriograph* (TensioMed TM, Budimpešta, Mađarska). Mjerenja su vršena na kraju svakog perioda u kontrolnim uvjetima i nakon 30 minutnog udisanja 100%-tnog normobaričnog kisika.

Rezultati: Konzumacija vina nije dovela do promjena arterijskog tlaka u kontrolnim uvjetima. Udisanje kisika u svakoj je fazi pokusa izazvalo porast arterijskog tlaka, perifernog sistoličkog i dijastoličkog za oko 7 mm Hg, a središnjeg sistoličkog za 13 mm Hg. Periferni i središnji augmentacijski indeksi porasli su za oko 30% nakon intervencije kisikom. Nakon konzumacije vina taj je porast bio je manji, što je izraženije nakon konzumacije vina s većim sadržajem polifenola. Nakon intervencije kisikom uz konzumaciju vina porast središnjeg sistoličkog tlaka bio je približno dvostruko manji kao i vrijednosti AIx-a.

Zaključak: U kontrolnim uvjetima umjerena konzumacija vina ne utječe na ispitivane hemodinamske parametre. Udisanjem kisika pogoršava se arterijska elastičnost. Tijekom hiperoksije umjerenom konzumacijom vina, osobito onoga bogatijega polifenolima, postoji trend smanjenog pogoršanja arterijske elastičnosti.

9. SUMMARY

Diploma Thesis Title: The effects of normobaric oxygen breathing on arterial stiffness parameters

Introduction and objectives: Oxygen is used in the treatment of diverse medical conditions. Since it is often administered empirically, patients may be exposed to significant periods of hyperoxia. As a result, vasoconstriction and acute increase of arterial stiffness occur. Several studies have shown that moderate wine consumption reduces the risk of coronary heart disease, a disease related to vasoconstriction and oxidative stress. Our aim was to examine effects of three weeks' moderate consumption of red and rosé wine on arterial stiffness and blood pressure before and after acute hyperoxia.

Material and methods: Apparently healthy male volunteers, age 44-55, non-treated with any chronic therapy, were recruited for randomized cross-sectional consumption trial (N = 9). The study lasted ten weeks; two weeks without any alcoholic beverages (drive in), followed by three weeks of red or rosé wine, then again two weeks without any alcoholic beverages (wash out) and finally three weeks of another rosé or red wine. During wine consumption periods, the participants consumed 300 ml/day of each wine (*Plavac mali*). Haemodynamic parameters, blood pressure and arterial stiffness parameters were measured with an *Arteriograph* device (TensioMed TM, Budapest, Hungary). Measurements were performed at four time points, before and after each wine intervention, in control conditions and after 30 min of normobaric 100% O_2 breathing period.

Results: Wine consumption did not induce any change in blood pressure in control conditions. O_2 breathing at each stage of the experiment caused an increase in arterial pressure, peripheral systolic and diastolic by about 7 mm Hg and central systolic by 13 mm Hg. Central and peripheral augmentation index increased by around 30% after the intervention by O_2 breathing. After consumption of wine, this increase was less pronounced, which is more evident after consumption of wine with higher polyphenol content. O_2 breathing intervention during wine consumption period resulted with the increase in central systolic pressure and AIx which were approximately twice as low in comparison to non-wine period.

Conclusion: Under control conditions, moderate wine consumption did not affect the hemodynamic parameters tested. O_2 breathing intervention impairs arterial stiffness. During hyperoxia, moderate consumption of wine, especially those rich in polyphenols, has a trend of decreased worsening of arterial stiffness.

10. ŽIVOTOPIS

Osobni podatci:

Ime i prezime: Anđela Đelalija

Datum i mjesto rođenja: 30.7.1995., Šibenik, Šibensko-kninska županija, Hrvatska

Državljanstvo: hrvatsko

Adresa: Donje Polje 12, Cesta Šibenik-Split, 22 000 Šibenik

Elektronička pošta: andela.delalija@gmail.com

Školovanje:

2002. - 2010. Osnovna škola "Vidici" Šibenik, Republika Hrvatska

2010. - 2014. Gimnazija "Antuna Vrančića" Šibenik, Republika Hrvatska

2014. - 2019. Integrirani preddiplomski i diplomski studij Farmacija, Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu i Kemijsko-tehnološki fakultet Sveučilišta u Splitu

Dodatna edukacija:

Kolovoz 2018. – dvotjedna stručna praksa na Farmaceutskom institutu u Varšavi, Poljska u sklopu SEP programa

Veljača-kolovoz 2019. – Stručno osposobljavanje u Ljekarnama Splitsko-dalmatinske županije

Kolovoz 2019. – volontiranje na Ljetnoj školi Kliničke farmacije, Medicinski fakultet Split

Slobodne aktivnosti:

2007.-2013. – članica plesne udruge "Sjene", Šibenik

Znanja i vještine:

Vozač B kategorije

Rad na računalu: Microsoft Office, Esculap 2000, EndNote

Poznavanje stranih jezika: Engleski: tečno

Talijanski: osnovno

Njemački: osnovno

11. PRILOZI

Prilog 1. Informirani pristanak ispitanika

SUGLASNOST ZA SUDJELOVANJE

1. Potvrđujem da sam _____(datum) u Splitu pročitao/pročitala ovu obavijest za gore navedeno znanstveno istraživanje te sam imao/imala priliku postavljati pitanja.
2. Razumijem da je moje sudjelovanje dobrovoljno te se mogu povući u bilo koje vrijeme, bez navođenja razloga i bez ikakvih posljedica po zdravstvenom ili pravnom pitanju.
3. Razumijem da mojoj medicinskoj dokumentaciji imaju pristup odgovorni pojedinci, tj. glavni istraživač i njegovi suradnici, članovi Etičkog povjerenstva ustanove u kojoj se istraživanje obavlja te članovi Etičkog povjerenstva koje je odobrilo ovo znanstveno istraživanje. Dajem dozvolu tim pojedincima za pristup mojoj medicinskoj dokumentaciji.
4. Pristajem da moj obiteljski liječnik bude upoznat s mojim sudjelovanjem u navedenom znanstvenom istraživanju.
5. Želim sudjelovati u navedenom znanstvenom istraživanju.

Ime i prezime ispitanika: (tiskanim slovima)_____

Potpis: _____

Datum:_____

Osoba koja je vodila postupak obavijesti za ispitanika i suglasnost za sudjelovanje:

Glavni istraživač na projektu:

Potpis: _____

Ime i prezime (tiskanim slovima) : MLADEN BOBAN

Datum:_____

Prilog 2: Mišljenje Etičkog povjerenstva povodom prijave studije

MEDICINSKI FAKULTET
SVEUČILIŠTA U SPLITU
Etičko povjerenstvo
Split, 06. prosinca 2013.

Klasa: 003-08/13-03/0003
Ur. br: 2181-198-03-04-13-0042

MIŠLJENJE

Etičkog povjerenstva povodom prijave istraživanja:

Biološki učinci vina: utjecaj vinifikacijske tehnologije, dealkoholizacije, starenja i termičke obrade vina

I. Zaprimljen je zahtjev prof. dr. sc. Mladena Bobana, dr. med., za odobrenje znanstvenog istraživanja pod nazivom: **Biološki učinci vina: utjecaj vinifikacijske tehnologije, dealkoholizacije, starenja i termičke obrade vina** – provedba znanstvenog istraživanja na ljudima i životinjama.
Predviđeno je da ovo istraživanje započne u travnju 2014. godine (po odobrenju Hrvatske zaklade za znanost, HRZZ) i da traje četiri (4) godine. Dio istraživanja za koje se traži dozvola Etičkog povjerenstva Medicinskog fakulteta, provoditi će se u prostorijama Zavoda za temeljnu i kliničku farmakologiju i Laboratorija za eksperimentalnu farmakologiju Medicinskog fakulteta u Splitu, Zavoda za anatomiju, histologiju i embriologiju Medicinskog fakulteta u Splitu, Katedre za medicinsku kemiju i biokemiju Medicinskog fakulteta u Splitu, Katedre za mikrobiologiju Medicinskog fakulteta/KBC u Splitu, te u Laboratoriju za klinička ispitivanja Medicinskog fakulteta u Splitu.

II. Etičko povjerenstvo Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu je na svom sastanku održanom 04. prosinca 2013. godine, prilikom raspravljanja o ovom predmetu, uzelo u obzir da je omjer rizika i koristi na strani koristi za ispitanika. Također je uzeta u obzir izjava da će identitet ispitanika (zdravog ili pacijenta) uvijek ostati anoniman. Opisani protokoli za rad sa pokusnim životinjama već su višestruko odobreni od Etičkog povjerenstva Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu (sjednice održane u studenom 2001., u rujnu 2005., u veljači 2006., te u svibnju 2011. god.), a priložene su i dozvole Ministarstva poljoprivrede, šumarstva i vodnog gospodarstva Republike Hrvatske za opisane protokole.

III. Sukladno odredbi članka 16. Etičkog kodeksa Medicinskog fakulteta u Splitu Povjerenstvo je zauzelo stajalište kako je predmetno istraživanje **u skladu s odredbama Etičkog kodeksa** koje reguliraju istraživanja na ljudima i životinjama u znanstvenom, istraživačkom i stručnom radu i etičkim načelima Helsinške deklaracije.

IV. Mišljenje je doneseno jednoglasno.

Predsjednik Povjerenstva:

Prof. dr. sc. Miroslav Šimunić

Dostaviti:
- prof. dr. sc Mladen Boban, dr. med. x2
- Arhiv Etičkog povjerenstva Fakulteta
- Arhiv Fakulteta

Prilog 3. Primjer dnevnika prehrane kojeg su ispitanici ispunjavali

DNEVNIK PREHRANE

Datum: ___/___/_____

Ime i prezime: **Period ispitivanja:**

Molim Vas da označite koji je dan u tjednu: Pon Uto Sri Čet Pet Sub Ned

Napomene:_____

_____

Obrok	Hrana/piće	Opis hrane/pića (okvirna količina,sastojci...)	Količina konzumirane hrane/pića u gramima ili mL	Vino (vrsta, količina)
Doručak				
Međuobrok				
Ručak				
Međuobrok				
Večera				
Večernji zalogaj				

Unos vode tijekom dana:



Tjelesna akivnost: