

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU  
MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK

Martina Kos

POVEZANOST JUVENILNE ESENCIJALNE ARTERIJSKE HIPERTENZIJE I BILJEGA  
VASKULARNE REAKTIVNOSTI U SUSTAVNOJ I MOŽDANOJ CIRKULACIJI

Doktorska disertacija

Osijek, 2023.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU  
MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK

Martina Kos

POVEZANOST JUVENILNE ESENCIJALNE ARTERIJSKE HIPERTENZIJE I BILJEGA  
VASKULARNE REAKTIVNOSTI U SUSTAVNOJ I MOŽDANOJ CIRKULACIJI

Doktorska disertacija

Osijek, 2023.

Mentorica rada: izv. prof. dr. sc. Ivana Jukić, dr. med.

Komentorica rada: izv. prof. prim. dr. sc. Silvija Pušeljić, dr. med.

Rad ima 84 stranice.

## Predgovor radu

*Nema dovoljno snažnih riječi kojima bih zahvalila svojoj mentorici i kolegici, prije svega istinskoj prijateljici izv. prof. dr.sc. Ivani Jukić na kontinuiranom angažmanu, izuzetnoj stručnosti i podršci u izradi moje doktorske disertacije. Hvala joj jer je sinonim za pravu mentoricu i stručnjakinju.*

*Hvala mojoj komentorici, izv. prof. dr.sc. Silviji Pušeljić što je, osim iznimna liječnica, prije svega veliki čovjek i uvijek tu i spremna pomoći u bilo kojem trenutku.*

*Zahvaljujem cijeloj Katedri za fiziologiju Medicinskog fakulteta u Osijeku, prvenstveno prof. dr.sc. Ines Drenjančević na velikodušnoj pomoći, sugestijama i angažmanu na mojem znanstvenom doktorskom putu.*

*Također bih zahvalila osoblju Klinike za pedijatriju KBC-a Osijek, a najviše Zavodu za pedijatrijsku neurologiju, endokrinologiju, genetiku uz bolesti metabolizma i reumatologiju, svim liječnicima, a pogotovo medicinskim sestrama, na svakoj epruveti krvi, organizacijskim sposobnostima i angažmanu općenito.*

*Hvala mojim najbližim kolegicama, neuropedijatricama, koje su bile velika profesionalna pomoć i podrška za vrijeme mojeg angažmana oko izrade disertacije.*

*Na kraju bih zahvalila svojoj obitelji, majci Snježani i ocu Ivanu te bratu Dariju što su me pratili kroz ovaj trnovit put školovanja.*

*Hvala najdražima – suprugu Daliboru, sinovima Viti i Vidu na velikoj ljubavi i što su bili i jesu bezuvjetan „vjetar u leđa“ kada je najteže.*

*Najveće hvala ide baki Pavici i djedu Tomislavu koji, nažalost, više nije s nama, ali bi ga moj uspjeh veselio najviše od svega. Bez njih, definitivno, ne bih bila gdje jesam.*

*Doktorat posvećujem baki Pavici i djedu Tomi. Hvala vam na svemu! Volim vas!*

*Ovo je istraživanje financirano iz sredstava Institucijskih znanstveno-istraživačkih projekata Medicinskog fakulteta Osijek, IP-9-MEFOS-2021 pod nazivom „Utjecaj juvenilne esencijalne arterijske hipertenzije na vaskularnu reaktivnost u sistemskej cirkulaciji“ i IP-17-MEFOS-2022 „Utjecaj juvenilne esencijalne arterijske hipertenzije na vaskularnu reaktivnost u cerebralnoj cirkulaciji“, voditeljice izv.prof.dr.sc. Ivane Jukić, dr.med.*

## SADRŽAJ

1. UVOD .....	1
1.1. Endotelna funkcija .....	1
1.1.1. Procjena endotelne (dis)funkcije .....	3
1.2. Definicija i podjela arterijske hipertenzije .....	5
1.3. Arterijska hipertenzija kod djece .....	6
1.4. Najvažniji čimbenici rizika za razvoj arterijske hipertenzije kod djece .....	8
1.4.1. Povećan unos soli .....	8
1.4.2. Debljina .....	10
1.5. Hipertenzija i vaskularna funkcija .....	12
2. HIPOTEZA .....	16
3. CILJEVI .....	17
4. ISPITANICI I METODE .....	18
4.1. Ustroj studije i ispitanici .....	18
4.2. Antropometrijska i hemodinamska mjerenja te analiza venske krvi i 24-satnog urina .....	20
4.3. Sastav tijela i tjelesnih tekućina .....	21
4.4. Procjena prehrambenih navika .....	21
4.5. Procjena varijabilnosti srčanog ritma .....	21
4.6. Vaskularna mjerenja .....	23
4.6.1. Mjerenje vaskularne reaktivnosti u mikrocirkulaciji kože podlaktice .....	23
4.6.2. Mjerenje protokom posredovane vazodilatacije brahijalne arterije .....	23
4.6.3. Procjena moždane hemodinamike .....	24
4.7. Određivanje biomarkera oksidacijskog stresa i antioksidacijske obrane u serumu .....	26
4.8. Statističke metode .....	26
5. REZULTATI .....	27
5.1. Antropometrijski, hemodinamski i biokemijski parametri .....	28

5.2. Sastav tijela i tjelesnih tekućina .....	31
5.3. Procjena dnevnog unosa hrane .....	32
5.4. Procjena varijabilnosti srčanog ritma .....	33
5.5. Mikrovaskularna reaktivnost kože podlaktice .....	34
5.6. Makrovaskularna endotelna vazodilatacija .....	36
5.7. Procjena moždane cirkulacije kod zdravih ispitanika i oboljelih od esencijalne arterijske hipertenzije .....	37
5.8. Serumski biomarkeri oksidacijskog stresa i antioksidacijske obrane te biljega endotelne aktivacije .....	39
5.9. Povezanost između krvnog tlaka i endotelnog mikro- i makrovaskularnog odgovora te biomarkera oksidacijskog stresa 8-izo PGF <sub>2</sub> α .....	39
6. RASPRAVA .....	42
6.1. Povezanost pretilosti, unosa soli te prehrambenih navika s arterijskom hipertenzijom u pedijatrijskoj populaciji .....	42
6.2. Učinci juvenilne esencijalne arterijske hipertenzije na mikro- i makrovaskularnu funkciju te moždanu hemodinamiku .....	46
6.3. Učinci juvenilne esencijalne arterijske hipertenzije na parametre upale i RAAS sustav .....	50
7. ZAKLJUČCI .....	54
8. SAŽETAK .....	55
9. SUMMARY .....	57
10. LITERATURA .....	59
11. ŽIVOTOPIS .....	79
12. PRILOZI .....	84

## POPIS POKRATA

8-izo-PGF2 $\alpha$	8-izo-prostaglandin F2 $\alpha$
20-HETE	20-hidroksieikosatetraenoična kiselina
AB	bazilarna arterija (lat. <i>arteria basillaris</i> )
ACh	acetilkolin (engl. <i>acetylcholine</i> )
AChID	acetilkolinom inducirana dilatacija (engl. <i>acetylcholine induced dilatation</i> )
ACM	srednja moždana arterija (lat. <i>arteria cerebri media</i> )
AH	arterijska hipertenzija
ANG II	angiotenzin II
ANS	autonomni živčani sustav
AT1	angiotenzinski receptor tip 1
AUC	površina ispod krivulje (engl. <i>area under curve</i> )
BMI	indeks tjelesne mase (engl. <i>body mass index</i> )
BP	krvni tlak (engl. <i>blood pressure</i> )
c.	centila
cAMP	ciklički adenzin-monofosfat
cIMT	debljina intima-medije karotidne arterije (engl. <i>carotid intima media thickness</i> )
COX	ciklooksigenaza (engl. <i>cyclooxygenase</i> )
COX-1	ciklooksigenaza 1 (engl. <i>cyclooxygenase 1</i> )
COX-2	ciklooksigenaza 2 (engl. <i>cyclooxygenase 2</i> )
CRASH	Hrvatska akcija o soli i zdravlju (engl. <i>Croatia Action on Salt and Health</i> )
CRP	C-reaktivni protein
DBP	dijastolički krvni tlak (engl. <i>diastolic blood pressure</i> )
ECW%	izvanstanična voda (engl. <i>extracellular water</i> )
ED	endotelna disfunkcija
EDCF	vazokonstriktijski čimbenici podrijetlom iz endotela (engl. <i>endothelial-derived constricting factors</i> )
EDHF	čimbenici hiperpolarizacije podrijetlom iz endotela (engl. <i>endothelial-derived hyperpolarizing factors</i> )
EDRF	čimbenici relaksacije podrijetlom iz endotela (engl. <i>endothelial-derived relaxing factors</i> )
EETs	epoksieikosatrienoična kiselina



EHUH	epidemiologija hipertenzije u Hrvatskoj
EKG	elektrokardiografija
ELISA	enzimski imunosorbentni test (engl. <i>enzyme - linked immunosorbent assay</i> )
eNOS	endotelna sintaza dušikova oksida (engl. <i>endothelial nitric oxide synthase</i> )
ESH	Europsko društvo za hipertenziju (engl. <i>European Society of Hypertension</i> )
ET-1	endotelin – 1
Fat%	masa masti, postotak (engl. <i>fat mass</i> )
FFM%	udio mase bez masti (engl. <i>fat free mass</i> )
FFQ	Upitnik o učestalosti uzimanja hrane (engl. <i>Food Frequency Questionnaire</i> )
FMD	protokom posredovana dilatacija (engl. <i>Flow-mediated dilatation</i> )
FRAP	sposobnost plazme da reducira željezo (engl. <i>ferric reducing antioxidant</i> )
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	vodikov peroksid (engl. <i>hydrogen peroxide</i> )
HDL	lipoprotein visoke gustoće (engl. <i>high-density lipoprotein</i> )
HF	visoka frekvencija (engl. <i>high frequency</i> )
HR	broj srčanih otkucaja (engl. <i>heart rate</i> )
HRV	varijabilnost srčanog ritma (engl. <i>heart rate variability</i> )
HT	hipertenzivni ispitanici
iNOS	inducibilna sintaza dušikova oksida (engl. <i>inducible nitric oxide synthase</i> )
ISH	Međunarodno društvo za hipertenziju (engl. <i>International Society of Hypertension</i> )
KV	kardiovaskularni (engl. <i>cardiovascular</i> )
LD	<i>laser doppler</i>
LDF	<i>laser doppler floumetar</i> (engl. <i>laser doppler flowmetar</i> )
LDL	lipoprotein niske gustoće (engl. <i>low-density lipoprotein</i> )
LF	snaga u niskofrekventnom području
Ln	prirodni logaritam
LTH	lokalna toplinska hiperemija
MAP	srednji arterijski tlak (engl. <i>mean arterial pressure</i> )
Na/K	omjer natrija i kalija
NaCl	natrijev klorid
NADP	nikotinamid adenin dinukleotid
NADPH	nikotinamid adenin dinukleotid fosfat
NO	dušikov oksid (engl. <i>nitric oxide</i> )
NOS	sintaza dušikova oksida (engl. <i>nitric oxide synthase</i> )

NT	normotenzivni ispitanici
PGF2 $\alpha$	prostaglandin F2 alfa
PGI2	prostaciklin
pNN50%	broj NN50 podijeljen s ukupnim brojem svih Nn intervala
PORH	poslijeokluzivna reaktivna hiperemija (engl. <i>postocclusive reactive hyperemia</i> )
PWV	brzina širenja pulsno vala (engl. <i>pulse-wave velocity</i> )
RAAS	renin-angiotenzin-aldosteron sustav
RI	indeks otpora (engl. <i>resitancy index</i> )
RMR	stopa metabolizma u mirovanju (engl. <i>resting metabolic rate</i> )
RMSSD	srednja vrijednost kvadrata uzastopnih otkucaja srca (engl. <i>root mean square of successive RR interval difference</i> )
ROS	reaktivni kisikovi spojevi (engl. <i>reactive oxygen species</i> )
RR	RR-interval
SBP	sistolčki arterijski tlak (engl. <i>systolic blood pressure</i> )
SDNN	standardna devijacija NN intervala (engl. <i>standard deviation of normal to normal interbeat interval</i> )
SNP	natrij nitroprusid (engl. <i>sodium nitroprusside</i> )
SNPID	dilatacija inducirana natrijevim nitroprusidom
SZO	Svjetska zdravstvena organizacija
TBARS	reaktivne tvari tiobarbituratne kiseline (engl. <i>thiobarbituric Acid Reactive Substances</i> )
TBW%	ukupna tjelesna voda (engl. <i>total body water</i> )
TCD	transkranijski <i>color doppler</i> (engl. <i>transcranial color Doppler</i> )
TM	tjelesna masa
TV	tjelesna visina
TXA <sub>2</sub>	tromboksan A <sub>2</sub>
VLf	vrlo niska frekvencija (engl. <i>very low frequency</i> )
WHR	omjer struk-bokovi (engl. <i>waist-to-hip ratio</i> )

## POPIS TABLICA

<b>Tablica 1.1.</b> Klasifikacija arterijske hipertenzije kod djece i adolescenata .....	7
<b>Tablica 5.1.</b> Obilježja ispitanika .....	27
<b>Tablica 5.2.</b> Antropometrijski i hemodinamski parametri ispitanika .....	28
<b>Tablica 5.3.</b> Biokemijska analiza venske krvi i 24-satnog urina ispitanika.....	30
<b>Tablica 5.4.</b> Sastav tijela i tjelesnih tekućina ispitanika .....	31
<b>Tablica 5.5.</b> Dnevni unos hrane procijenjen EPIC-Norfolk upitnikom o učestalosti unosa hrane (FFQ) .....	32
<b>Tablica 5.6.</b> Procjena varijabilnosti srčanog ritma ispitanika .....	33
<b>Tablica 5.7.</b> Procjena moždane hemodinamike ispitanika.....	38
<b>Tablica 5.8.</b> Serumske vrijednosti biomarkera oksidacijskog stresa (TBARS i 8-izo-PGF2 $\alpha$ ), antioksidacijskog kapaciteta (FRAP) i biljega endotelne aktivacije (endokana) .....	39
<b>Tablica 5.9.</b> Povezanost sistoličkog, dijastoličkog i srednjeg arterijskog tlaka s endotelnim mikro- i makrovaskularnim odgovorom i biomarkerom oksidacijskog stresa 8-izo PGF2 $\alpha$ ....	40
<b>Tablica 5.10.</b> Povezanost biomarkera oksidacijskog stresa 8-izo PGF2 $\alpha$ s endotelnim mikro- i makrovaskularnim odgovorom .....	41
<b>Tablica 5.11.</b> Povezanost sistoličkog, dijastoličkog i srednjeg arterijskog tlaka s markerima upale.....	41

## POPIS SLIKA

<b>Slika 4.1.</b> Ustroj studije .....	19
<b>Slika 4.2.</b> TCD snimanje. ....	24
<b>Slika 4.3.</b> Prikaz zajedničke karotidne arterije. ....	25
<b>Slika 5.1.</b> Vazodilatacija ovisna o endotelu u mikrocirkulaciji kože podlaktice kod zdrave djece s urednim vrijednostima krvnog tlaka i djece s esencijalnom arterijskom hipertenzijom .....	35
<b>Slika 5.2.</b> Vazodilatacija neovisna o endotelu u mikrocirkulaciji kože podlaktice kod zdrave djece s urednim vrijednostima krvnog tlaka i djece s esencijalnom arterijskom hipertenzijom .....	36
<b>Slika 5.3.</b> Makrovaskularna o endotelu ovisna vazodilatacija brahijalne arterije zdrave djece s urednim vrijednostima krvnog tlaka i djece s esencijalnom arterijskom hipertenzijom .....	37

## 1. UVOD

### 1.1. Endotelna funkcija

Endotel, koji je nekad smatran tek jednostavnom selektivno propusnom barijerom između stijenki krvnih žila i krvi, iznimno je dinamičan, temeljni homeostatski organ regulacije vaskularnog tonusa i strukture. Osim kontrole vaskularnog tonusa i krvnog protoka, neke od najvažnijih funkcija endotela jesu i inhibicija agregacije trombocita te sprječavanje pretjerane koagulacije [1].

U fiziološkim uvjetima endotelne stanice imaju sposobnost sintetizirati i otpuštati brojne vazoaktivne tvari kojima posreduje kontrolu vaskularnog tonusa, a najvažniji među njima jest dušikov oksid (NO) [2]. NO nastaje iz aminokiseline L-arginina djelovanjem enzima endotelne sintaze dušikova oksida (eNOS, engl. *endothelial nitric oxide synthase*) u odgovoru na različite fiziološke poticaje poput žilnog stresa (engl. *shear stress*) ili farmakoloških supstanci (acetilkolin, bradikinin) [3, 4]. Endotelnom stimulacijom pojačano se stvara i oslobađa NO koji difuzijom u okolna tkiva i stanica ostvaruje kardiovaskularnu (KV) zaštitnu ulogu opuštanjem vaskularnih glatkih mišićnih stanica i posljedičnom vazodilatacijom. Osim toga, NO sprječava adheziju leukocita i njihovu migraciju u arterijsku stijenku, sprječava proliferaciju vaskularnih glatkih mišićnih stanica, adheziju i agregaciju trombocita [2, 5]. Ostali su endotelni čimbenici relaksacije (engl. *endothelium-derived relaxing factors*, EDRF) prostaciklin (PGI<sub>2</sub>) te endotelni hiperpolarizirajući čimbenik (engl. *endothelium-derived hyperpolarizing factor*, EDHF) [1]. PGI<sub>2</sub> nastaje iz arahidonske kiseline prvenstveno kao produkt djelovanja enzima ciklooksigenaza-1 (COX-1), dok novija istraživanja pokazuju kako enzim ciklooksigenaza-2 (COX-2) nema značajniju ulogu u proizvodnji PGI<sub>2</sub> in vivo. U odnosu na NO, nije značajan za održavanje bazalnog vaskularnog tonusa arterija, a otpušta se na poticaj različitih agonista. Značajnu ulogu ima i kao inhibitor djelovanja trombocita povišenjem unutarstaničnih razina cikličkog adenozin monofosfata (cAMP) [6, 7].

Najvažnije su molekule i posrednici koji djeluju kao EDHF u različitim tkivima kalijevi ioni (K<sup>+</sup>), metaboliti CPY450 poput epoksieikosatrienoične kiseline (EETs), produkti lipooksigenaze, vodikov peroksid (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), cAMP. Regulacija vaskularne reaktivnosti posredovana EDHF-om definirana je kao o endotelu ovisan odgovor, a brojne humane i animalne studije pokazuju da je učinak EDHF-a najizraženiji u stanjima u kojima je inhibirano djelovanje NO-a i PGI<sub>2</sub> [8–11].

S druge strane, endotel otpušta čimbenike koji mogu izazvati i vazokonstrikciju (endotelni čimbenici kontrakcije, EDCF, engl. *endothelium-derived constricting factors*), a kojima pripadaju endotelin-1 (ET-1), tromboksan (TXA<sub>2</sub>), metabolit CYP450 20-hidroksieikosatetraenoična kiselina (20-HETE) te prostaglandin F2 alfa (PGF2α) [1]. U održavanju homeostaze u zdravim krvnim žilama mora postojati ravnoteža između proizvodnje i otpuštanja endotelnih čimbenika dilatacije i konstrikcije. Neupitna je uloga endotelnih vazoaktivnih tvari u održavanju fiziološke ravnoteže i normalne funkcije krvnih žila iako su mnogobrojna pitanja o njihovoj konačnoj ulozi u vaskularnom zdravlju i bolesti još uvijek otvorena.

Endotelna disfunkcija (ED) patološko je stanje oštećenoga endotela, odnosno njegove poremećene funkcije koju određuje vazokonstriktorski, protrombotski i proupalni fenotip. ED se obično odnosi na smanjenu proizvodnju i/ili biorasploživost vazodilatatora NO te neravnotežu između endotelnih vazodilatacijskih i vazokonstriktorskih metabolita što rezultira oštećenim mehanizmima vaskularne relaksacije. To je stanje u kojem endotel prolazi kroz funkcionalne i strukturne promjene te gubi svoju zaštitnu ulogu postajući proaterosklerotičana [2]. Pojačana razgradnja vazodilatatora NO reaktivnim vrstama kisika (ROS, engl. *reactive oxygen species*) najčešći je uzrok njegove smanjene biorasploživosti [2, 5]. U uvjetima značajno smanjene biodostupnosti NO-a, endotel i dalje održava vazodilataciju aktiviranjem proizvodnje i otpuštanjem kompenzacijskih čimbenika, a to su prvenstveno prostanoidi (prostaciklin) i drugi hiperpolarizacijski čimbenici koji potiču iz endotela (EDHF). S druge strane, endotelna je disfunkcija praćena pojačanim stvaranjem vazokonstriktorskim medijatora, uključujući endotelin-1(ET-1) i tromboksan A2 [5] što čini abnormalnu vaskularnu reaktivnost značajkom endotelne disfunkcije. Od ostalih patofizioloških posljedica razvoja endotelne disfunkcije, značajna je povećana propusnost endotela za makromolekule s posljedičnom promjenom oblika endotelnih stanica i stvaranjem međustaničnih pukotina, zatim povećan izražaj topljivih staničnih adhezijskih molekula, nakupljanje monocita/makrofaga u intimi krvnih žila, povećana proliferacija vaskularnih glatkih mišićnih stanica te poremećaj hemostatske ravnoteže određen pojačanim stvaranjem trombina te agregacijom i adhezijom trombocita [12, 13]. Sukladno tomu, endotelna disfunkcija, koju određuje nedostatak NO-a i aktivacija vazokonstrikcije ovisne o endotelu, uključena je u patogenezu KV bolesti, uključujući aterosklerozu i hipertenziju [5, 14].

Nadalje, povećan oksidacijski stres ima važnu ulogu u patogenezi arterijske hipertenzije [15], a označava stanje u kojem je koncentracija ROS-a prolazno ili kronično uvećana što uzrokuje

oštećenje staničnog metabolizma i staničnih komponenti. Inače, ROS su produkti normalnog staničnog metabolizma čiji je glavni izvor molekularni kisik. To su izrazito reaktivni kemijski oblici jer se nespareni elektroni nastoje spojiti tvoreći stabilne elektronske veze te, da bi postigli ravnotežu, narušavaju stabilnost drugih molekula u okolini i pokreću lančanu reakciju. Stalno se proizvode u svakoj stanici tijekom normalnih metaboličkih procesa. Kada njihova proizvodnja nadmaši mehanizme antioksidacijske obrane, nastaju štetni učinci [15]. Tijekom evolucije organizam se prilagodio na aerobne uvjete života, a kao odgovor na stvaranje slobodnih radikala u isto vrijeme dolazi i do stvaranja zaštitnih antioksidacijskih mehanizama obrane. Tim se mehanizmom organizam brani od štetnog djelovanja i nekontroliranog stvaranja ROS-a tijekom metaboličkih procesa održavajući ih u niskim koncentracijama te bi oksidacijski stres trebao biti meta za liječenje smanjenjem stvaranja oksidansa ili pojačavanjem antioksidansa.

### **1.1.1. Procjena endotelne (dis)funkcije**

Regulacija endotelne funkcije u velikoj je mjeri specifična za područje i razlikuje se u različitim organima i tkivima, a unutar istog vaskularnog područja uvelike ovisi o veličini krvnih žila, odnosno postoje razlike između velikih arterija (makrocirkulacija) i arteriola (mikrocirkulacija). Stoga je moguće da je procjena endotelne funkcije primjenom sustavnih cirkulacijskih biomarkera nepouzdana. NO je plin s vrlo kratkim vijekom poluživota, vrlo brzo se mijenja pa je njegova kvantifikacija gotovo nemoguća. Upravo zbog toga biološka raspoloživost NO-a procjenjuje se na temelju lokalnog vazodilatacijskog učinka nakon stimulacije endotela specifičnim vanjskim mehaničkim i farmakološkim podražajima, odnosno s pomoću testova vaskularne reaktivnosti [16]. Konkretno, u različitim vaskularnim područjima vazodilatacija ovisna o endotelu može se procijeniti najčešće primjenom farmakoloških (acetilkolin (ACh), bradikinin, tvar P) ili mehaničkih (povećanje sile smicanja) stimulansa [16, 17].

Pristupi za procjenu endotelne funkcije osmišljeni su kako bi pružili uvid u vaskularnu/endotelnu funkciju u različitim vaskularnim područjima i različitim tipovima krvnih žila (u mikrocirkulaciji, odnosno makrocirkulaciji). Ranije upotrijebljene metode bile su invazivnije (npr. intrakoronarna infuzija acetilkolina), a kasnije razvijene tehnike koje su bile manje invazivne usredotočile su se na perifernu cirkulaciju (cirkulaciju podlaktice) kao surogat za koronarne arterije [18]. Očekivano, sve te metode imaju svoje prednosti i prihvaćena ograničenja. U posljednja dva desetljeća pozornost se usmjerava na koronarnu mikrocirkulaciju

kao moguće mjesto anatomskih i funkcionalnih abnormalnosti ključnih za razvoj i progresiju konačne ishemije miokarda te je funkcionalna procjena endotelne funkcije koronarne mikrocirkulacije postala izazov. Glavna prednost invazivnih metoda poput koronarne angiografije jest mjerenje endotelne funkcije izravno u tom klinički važnom vaskularnom području, no zbog svoje invazivnosti i ograničenosti populacije u kojoj se ta mjerenja mogu stvarno izvesti [16, 19], nisu metoda izbora.

S druge strane, zbog svoje lake dostupnosti koža predstavlja idealno mjesto za proučavanje periferne mikrocirkulacije što je predloženo kao prikladan marker sistemske mikrovaskularne funkcije u različitim bolestima, uključujući hipertenziju, pretilost i dijabetes [20]. Stoga je posljednjih godina razvijen niz jednostavnih i neinvazivnih metoda za procjenu periferne mikrocirkulacije. Laserska doppler (LD) tehnika temelji se na procjeni brzine protoka u mikrocirkulaciji kože s pomoću refleksije laserske zrake od eritrocita u mikrocirkulaciji i promjeni njezine valne duljine (Dopplerov efekt) [21]. Računalni softver određuje veličinu protoka što je više indeks perfuzije kože (fluks) nego izravna mjera protoka krvi kroz kožu. Prva razvijena tehnika bila je laser-dopplerska floumetrija (LDF) koja mjeri protok krvi u jednoj točki, dakle u malom volumenu, ali s visokom frekvencijom uzorkovanja. Osim mjerenja protoka u samo jednoj točki, glavno je ograničenje te tehnike njezina prostorna varijabilnost zbog regionalne heterogenosti perfuzije kože [22]. No pokazalo se da se to ograničenje može lako otkloniti ako se označi mjesto postavljanja laserske sonde te se ona uvijek postavi na to isto označeno mjesto, posebice ako se metoda koristi u ponavljajućim mjerenjima. Kasnije je razvijen laser-doplerski prikaz koji daje dvodimenzionalnu sliku mikrovaskularne perfuzije kože koristeći se istim načelom kao LDF, a budući da se tom metodom procjenjuje protok na većoj površini od LDF-a, smanjena je prostorna varijabilnost, ali je teško zabilježiti brze promjene u protoku krvi [98]. Obje se tehnike obično koriste za procjenu mikrovaskularne reaktivnosti kao odgovora na različite podražaje uključujući iontoforezu vazoaktivnih lijekova, poslijeokluzivnu reaktivnu hiperemiju (PORH) te toplinske izazove (zagrijavanje ili hlađenje kože) [23].

S druge strane, zlatni je standard za procjenu makrovaskularne endotelne funkcije protokom posredovana vazodilatacija (engl. *flow-mediated dilation*, FMD) brahijalne arterije [18]. Tom neinvazivnom in vivo metodom procjenjuje se sposobnost endotela da odgovori na određeni podražaj (reaktivna hiperemija). Okluzija se izazove napuhivanjem manžete postavljene na podlakticu čime se zaustavlja anterogradni protok krvi i stvara ishemija nakon koje posljedično otpuštanjem manžete dolazi do vazodilatacije, odnosno javlja se reaktivna hiperemija u



brahijalnoj arteriji. Tom se metodom ultrazvučno snima arterija u stanju mirovanju, odnosno bazalnom stanju i tijekom reaktivne hiperemije koja slijedi nakon 5-minutne vaskularne okluzije, a FMD se izražava kao udio razlike između tih dvaju izmjerenih promjera [24]. U svrhu procjene vazodilatacije neovisne o endotelu koristi se 1 potisak NTG spreja sublingvalno (0,4 mg), a rezultat se dobije s pomoću prosjeka s najvećim srednjim vrijednostima dobivenim nakon primjene NTG [25]. Periferna endotelna funkcija procijenjena FMD-om povezana je s vaskularnom funkcijom koronarne arterije [26], dok je oslabljen FMD jedna od ranih manifestacija vaskularne bolesti i može biti važan pokazatelj endotelne ozljede [27].

## 1.2. Definicija i podjela arterijske hipertenzije

Arterijska hipertenzija (AH) u odraslih definira se kao vrijednost sistoličkog arterijskog tlaka  $\geq 140$  mmHg i/ili vrijednost dijastoličkog arterijskog tlaka  $\geq 90$  mmHg izmjerena u mirovanju u liječničkoj ordinaciji [28]. Kao posljedica rasta i starenja svjetske populacije broj osoba s arterijskom hipertenzijom značajno se povećao posljednjih desetljeća [29], a arterijska hipertenzija smatra se vodećim čimbenikom rizika za razvoj kardiovaskularnih (KV) bolesti i snažno je povezana s KV morbiditetom i mortalitetom [30]. Svjetska zdravstvena organizacija (SZO) izvijestila je o tome da hipertenzija predstavlja velik javnozdravstveni problem jer od nje godišnje umire približno 10 milijuna ljudi [31, 32]. U Europskoj uniji broj smrtnih slučajeva uzrokovanih KV bolestima godišnje iznosi više od dva milijuna što čini gotovo 50 % ukupnog mortaliteta [33, 34], a procjenjuje se da će taj udio još više rasti s obzirom na sve veću učestalost sjedilačkog načina života i trenutačno prisutnu epidemiju pretilosti [28].

Prema etiologiji, arterijska hipertenzija dijeli se na primarnu i sekundarnu. Primarna ili esencijalna hipertenzija jest poligenska i višečimbenična bolest koja nastaje kao posljedica interakcije različitih gena i okolinskih čimbenika [35] poput niske porođajne mase, zastoja u rastu, pretilosti, upalnih procesa te kronične izloženosti stresu [36]. Ako se u podlozi arterijske hipertenzije nalazi neka primarna bolest, tada je riječ o sekundarnoj arterijskoj hipertenziji [37]. Najčešći uzroci sekundarne hipertenzije u odraslih jesu parenhimska ili vaskularna bubrežna bolest, a od endokrinih bolesti povezanih sa sekundarnom hipertenzijom najčešća je primarni hiperaldosteronizam, zatim bolesti štitnjače, hiperkortizolizam i feokromocitom. Najčešći su uzroci sekundarne hipertenzije u djece i adolescenata bubrežna parenhimska ili vaskularna bolest, koarktacija aorte te neke endokrinološke bolesti (feokromocitom, hipertireoza, Cushingov sindrom, hiperaldosteronizam). Poseban je entitet hipertenzija bijele kute pri kojoj je arterijski tlak povišen samo u liječničkoj ordinaciji, dok je u kućnim uvjetima uredan. Postoji

i tzv. maskirana hipertenzija kod koje je tlak u liječničkoj ordinaciji uredan, a u ostalim okolnostima povišen [38].

### **1.3. Arterijska hipertenzija kod djece**

Još ne tako davno hipertenzija u djece i adolescenata smatrana je kliničkim problemom manjeg značaja od hipertenzivnog stanja u odraslih. Razlog je tomu uvjerenje kako fiziološko povećanje krvnog tlaka (BP) povezano s rastom i starenjem može ometati (i često dovesti u pitanje) dijagnozu stanja visokog krvnog tlaka te uvjerenje da je povišenje krvnog tlaka u djece rijetko i manje opasno nego u odraslih zbog uvriježenog mišljenja da je djetinjstvo stanje koje odražuju niski kardiovaskularni rizici [39]. Međutim, iako se nekada smatrala bolešću odrasle dobi, naše znanje o važnosti krvnog tlaka kod djece i adolescenata znatno se povećalo u posljednjim dvama desetljećima. Epidemiološke su studije pokazale da prevalencija hipertenzivnog stanja u djece nije beznačajna, osobito kada je usporedno prisutno i stanje prekomjerne tjelesne mase ili pretilosti, a osim toga, uvjerljivi podatci pružaju dokaze da visok krvni tlak može uzrokovati i/ili biti povezan s povišenim kardiovaskularnim rizikom i kod djece [39].

Esencijalna arterijska hipertenzija i u pedijatrijskoj populaciji čini važan javnozdravstveni problem povezan s povećanim rizikom od oštećenja ciljnih organa u djece i adolescenata [40]. Epidemiološka istraživanja upozoravaju na porast apsolutnih vrijednosti arterijskog tlaka u djece kao i na porast prevalencije hipertenzije u djece i adolescenata koja je posljednjih godina u porastu pa u djece od 8 do 18 godina iznosi 2 – 3,6 %, a u adolescenata od 18 godina oko 10 % [41]. Oduvijek se smatralo da je hipertenzija u dječjoj dobi rijetka i da je u pravilu sekundarna, uzrokovana najčešće bolešću bubrega. Međutim, svjedočimo promijenjenoj slici hipertenzije u djece: primarna (esencijalna) hipertenzija, koja se do nedavno smatrala bolesti odrasle dobi, također je prisutna i u djece i u adolescenata te predstavlja jednu od najčešćih kroničnih bolesti u adolescentskoj dobi [42, 43]. Osim toga, poznato je da povišen krvni tlak u adolescentnoj dobi u velikoj mjeri može prerasti u pravu hipertenziju u odrasloj dobi [44] što povećava dugoročni rizik od subkliničke ateroskleroze i prerane smrti u odrasloj dobi [45–47]. Stoga rano otkrivanje osoba s povišenim krvnim tlakom i usvajanje učinkovitih mjera za snižavanje razine krvnog tlaka može biti važna strategija za smanjenje rizika od KV bolesti i smrtnosti u odrasloj dobi.

Prve smjernice o kontroli krvnog tlaka u toj dobnoj skupini objavljene su 1997. godine [48] jer ranije nije postojala dosljedna definicija hipertenzija u pedijatrijskoj populaciji, a mjerenje

krvnog tlaka nije se provodilo u asimptomatske djece i adolescenata [48]. Iako je povezanost između krvnog tlaka i KV bolesti dobro utvrđena u odraslih, ta povezanost u djece i adolescenata nije dobro definirana jer je razvoj KV komplikacija rezultat interakcije različitih čimbenika rizika i dobi. Slijedom toga, definicija referentnih vrijednosti u pedijatrijskoj populaciji temelji se na percentilnoj distribuciji vrijednosti krvnog tlaka.

Prema najnovijim smjernicama Europskog društva za hipertenziju (ESH, *European Society of Hypertension*) i Međunarodnog društva za hipertenziju (ISH, *International Society of Hypertension*) iz 2023. godine [49], preporučuje se definirati hipertenziju prema percentilnoj distribuciji te se hipertenzijom u djece smatraju vrijednosti sistoličkog i/ili dijastoličkog arterijskog tlaka  $\geq 95.$  percentile za dob, spol i tjelesnu visinu izmjerene u trima odvojenim mjerenjima. Vrijednosti  $< 90.$  percentile smatramo normotenzijom, vrijednosti od 90 do 95. percentile prehipertenzijom. Hipertenzijom I. stupnja smatramo vrijednosti sistoličkog i/ili dijastoličkog tlaka  $\geq 95.$  do 99. percentile + 5 mmHg, a hipertenzijom II. stupnja  $> 99.$  percentile +5 mmHg.

Prema istim smjernicama [49], hipertenzija u adolescenata u dobi  $\geq 16$  godina klasificira se kao u odraslih. Normotenzijom smatramo vrijednosti sistoličkog i/ili dijastoličkog tlaka  $< 130/85$  mmHg, a hipertenzijom vrijednosti  $\geq 130/85$  mmHg, odnosno vrijednosti 130 – 139/85 – 90 mmHg smatramo prehipertenzijom ili visoko normalnim tlakom, a vrijednosti  $\geq 140/90$  mmHg hipertenzijom.

Iako je riječ o višečimbeničnim uzrocima pojave arterijske hipertenzije (prekomjeran unos soli, manjak tjelesne aktivnosti, stres), sigurno je da njezinu nastanku kod djece značajno doprinosi epidemija debljine koja se dogodila u posljednjem desetljeću. S obzirom na to da je primarna hipertenzija već u dječjoj dobi nerijetko povezana sa subkliničkim oštećenjima ciljnih organa, metaboličkim i imunološkim promjenama u organizmu, ne smatramo ju jednostavnim hemodinamskim problemom, već prvim stadijem u razvoju kardiovaskularnih bolesti.

**Tablica 1.1. Klasifikacija arterijske hipertenzije kod djece i adolescenata**

<b>Kategorija</b>	<b>0-15 godina SBP i/ili DBP (centili)</b>	<b><math>\geq 16</math> godina SBP i/ili DBP (mmHg)</b>
Normalan krvni tlak	$< 90.c.$	$< 130/80$
Visoko normalan krvni tlak	$\geq 90.$ do $< 95. c.$	130 - 139/85 - 89
Hipertenzija	$\geq 95.c.$	$\geq 140/90$
Hipertenzija I. stupnja	95.c. do 99.c. + 5 mmHg	140 - 159/90 - 99
Hipertenzija II. stupnja	$> 99.c.$ + 5 mmHg	160 - 179/100 - 109

SBP - sistolički krvni tlak; DBP- dijastolički krvni tlak; c - centili

## 1.4. Najvažniji čimbenici rizika za razvoj arterijske hipertenzije kod djece

### 1.4.1. Povećan unos soli

Povećan unos kuhinjske soli globalno je prihvaćen kao glavna odrednica povišenog krvnog tlaka i arterijske hipertenzije [50, 51] te je povezan s različitim ishodima KV bolesti [52, 53]. Upravo se zbog toga povećan unos kuhinjske soli smatra glavnim preventabilnim uzrokom morbiditeta i mortaliteta [28]. Povezanost prekomjernog unosa soli i povišenog BP te porasta broja oboljelih od arterijske hipertenzije dokazana je i u pedijatrijskoj populaciji [54–56] što je važno istaknuti jer je poznato da je esencijalna hipertenzija u djetinjstvu povezana s nastankom arterijske hipertenzijom u odrasloj dobi [57].

Prema smjernicama Svjetske zdravstvene organizacije, preporučeni dnevni unos natrija za odrasle osobe iznosi 2 g/dan, a ta količina odgovara 5 g soli dnevno [58]. Međutim, velik broj provedenih studija upućuje na to da je gotovo u većini država svijeta dnevni unos kuhinjske soli značajno veći od preporučenog, a kreće se između 6 i 12 g soli na dan [59, 60]. Alarmantni su rezultati istraživanja provedenog 2008. godine u Republici Hrvatskoj (engl. *Croatian Action on Salt and Health* (CRASH)) koji su pokazali da je prosječan dnevni unos kuhinjske soli u našoj populaciji bio 11,6 g soli što je više nego dvostruko od preporučenog unosa prema Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji [61]. Potaknuti tim istraživanjem, Hrvatski zavod za javno zdravstvo i Ministarstvo zdravstva predstavili su strateški plan u cilju smanjenja dnevnog unosa soli za 4 % svake godine [62], a podaci iz 2019. godine pokazali su da se prosječan dnevni unos soli u Hrvatskoj smanjio za 1,6 g soli u posljednjih 12 godina [63].

Povećan unos kuhinjske soli smatra se dobro utvrđenim čimbenikom rizika za razvoj arterijske hipertenzije, bez obzira na tjelesnu težinu, spol i dob, iako točni etiopatogenetski mehanizmi koji dovode do razvoja arterijske hipertenzije i njezine povezanosti s prekomjernim unosom soli još nisu u potpunosti razjašnjeni. Hipertenzija se može pojaviti ako je mehanizam tlačne natriureze poremećen, a promjene krvnog tlaka s različitim unosom soli u prehrani razlikuju se od pojedinca do pojedinca. Osjetljivost na sol definira se kao razlika u srednjem arterijskom tlaku između prehrane s niskim i visokim udjelom natrija, > 10 %. Nedavno su Bigazziet i sur. [64] pokazali je da genetski polimorfizmi, prethodno povezani s hipertenzijom osjetljivom na sol u odraslih, imaju utjecaj na vrijednosti krvnog tlaka i izlučivanje natrija u populaciji adolescenata što upućuje na mogućnost oštećenja fizioloških sustava za nadzor natrija već u mladoj dobi. Dugo se vremena smatralo da je glavna poveznica između natrija i arterijske hipertenzije povećanje izvanstaničnog volumena zbog osmotskog učinka natrija, osobito kod

osoba osjetljivih na sol. Međutim, taj je mehanizam doveden u pitanje otkrićem da se natrij može najbolje pohraniti u tijelu u neosmolarnom obliku [65]. Nedavno je postavljena hipoteza da sol može utjecati na krvni tlak putem različitih i složenijih mehanizama. Pretjeran unos soli uzrokovao bi promjene u fiziološkim sustavima koji reguliraju rad srca, krvožilnog sustava i/ili bubrega. U prisutnosti hipertenzije, posebno kod pretilih osoba, postoji povećana aktivnost simpatičkog živčanog sustava [66]. Ta autonomna promjena prisutna je već u pedijatrijskoj dobi; zapravo, veća simpatička modulacija i niža parasimpatička modulacija opisane su i kod hipertenzivne djece [67] i kod adolescenata [68]. Aktivacija simpatičkog živčanog sustava, s jedne strane, dovodi do povećanja reapsorpcije natrija na razini proksimalnog tubula, a s druge strane stimulira tamošnji angiotenzinski aldosteronski sustav (RAAS) koji, zauzvrat, povećava i distalnu reapsorpciju natrija i simpatičku aktivnost putem angiotenzina II. Osim toga, čini se da su različiti genetski, hormonski i neuroendokrini čimbenici uključeni u razvoj arterijske hipertenzije osjetljive na natrij [69].

Suckling i sur. sugerirali su da konzumacija hrane s visokim udjelom natrija dovodi do prolaznog povećanja koncentracije natrija u plazmi što bi moglo imati toksične učinke na krvožilni sustav [70]. Koncentracija natrija u plazmi može utjecati na krvni tlak modificiranjem „krutosti“ endotelnih stanica. Veća „krutost“ endotelnih stanica dovela bi do smanjenja aktivnosti endotelne sintaze dušikova oksida (eNOS) i povećanja vaskularne rezistencije, s posljedičnim povećanjem krvnog tlaka. To bi stanje moglo, zauzvrat, izazvati mikrovaskularno remodeliranje i sistemsko proupalno stanje koje dovodi do mikrovaskularne endotelne upale, anatomskog remodeliranja i funkcionalnih abnormalnosti [54].

Prekomjeren unos kuhinjske soli predstavlja velik javnozdravstveni problem i u pedijatrijskoj populaciji te je nekoliko studija pokazalo korelaciju između visokog unosa soli i povišenih vrijednosti krvnog tlaka i prevalencije hipertenzije u pedijatrijskoj populaciji [71, 72]. Nedavne metaanalize pokazale su da je unos natrija povezan s vrijednostima krvnog tlaka kod djece i adolescenata. Osamnaest studija koje su analizirale vrijednosti unosa natrija i krvnog tlaka pokazale su da se za svaki dodatni gram dnevnog unosa natrija sistolički krvni tlak povećao za 0,8 mmHg i dijastolički krvni tlak za 0,7 mmHg. Ta je povezanost bila snažnija među djecom s prekomjernom težinom i niskim unosom kalija [55]. U prilog hipotezi da visok unos soli povećava krvni tlak u djece, metaanaliza provedena prije nekoliko godina, koja je uključivala 10 studija u djece i adolescenata, pokazala je da smanjen unos soli uzrokuje smanjenje krvnog tlaka (SBP za 1,17 mmHg, a DBP za 1,29 mmHg), pružajući snažnu podršku važnosti smanjenja unosa soli u prehrani u pedijatrijskoj dobi [73]. Budući da se krvni tlak prati od

djetinjstva do odrasle dobi, ta otkrića sugeriraju da smanjenje unosa natrija tijekom djetinjstva i adolescencije može sniziti krvni tlak i spriječiti razvoj hipertenzije kasnije tijekom života.

#### 1.4.2. Debljina

Drugi važan čimbenik koji značajno utječe na vrijednost arterijskog tlaka na individualnoj i populacijskoj razini jest debljina. Posljednjih desetljeća, osim porasta arterijske hipertenzije, u djece i adolescenata bilježi se i značajan porast učestalosti debljine te ona postaje jedan od vodećih javnozdravstvenih, ali i medicinskih problema. U svim zemljama Europe zabilježen je zabrinjavajući broj djece s prekomjernom tjelesnom masom i debljinom te se procjenjuje da je više od 340 milijuna djece i adolescenata u dobi od 5 do 19 godina pretilo ili ima prekomjernu tjelesnu težinu [74]. Predviđa se da će do 2025. godine u svijetu biti dvije milijarde prekomjerno teških i pretilih osoba. Nažalost, i Hrvatska slijedi svjetske negativne trendove te zauzima visoko peto mjesto s ostalim zemljama mediteranske regije Europe [75].

Naša nacionalna studija EHUH („Epidemiologija hipertenzije u Hrvatskoj“) pokazala je da gotovo 70 % ispitanika čiji je BMI (BMI, engl. *Body mass index*) veći od 30 kg/m<sup>2</sup> ima i arterijsku hipertenziju [76], dok su studije rađene na populaciji učenika drugih i trećih razreda osnovne škole pokazale da je pretilost glavni čimbenik rizika za razvitak arterijske hipertenzije već u toj dobi. Rezultati Europske inicijative za praćenje debljine u djece (2018. – 2022.) prikazuju zabrinjavajući udio djece s prekomjernom tjelesnom masom i debljinom. Ukupno gledano, gotovo svako treće dijete europske regije SZO-a (29 %) ima prekomjernu tjelesnu masu i debljinu, a u Hrvatskoj su prekomjerna tjelesna masa i debljina prisutne u 34,9 % djece [77].

Prema smjernicama Pedijatrijskog endokrinološkog društva [78], za procjenu stupnja pretilosti u djece i adolescenata starijih od dvije godine rabe se standardizirane centilne krivulje indeksa tjelesne mase (engl. *body mass index*, BMI). BMI se dobije dijeljenjem tjelesne mase u kilogramima s kvadratom visine u metrima:  $ITM = TM \text{ (kg)} / TV \text{ (m)}^2$ . Prekomjerna tjelesna masa definira se kada je  $ITM > 85$ . centila, a pretilost kada je  $ITM > 95$ . centila za dob i spol prema revidiranim centilnim krivuljama [79].

Brojne studije upućuju na povezanost debljine i hipertenzije u djece te naglašavaju povećanu prevalenciju hipertenzije u djece s prekomjernom tjelesnom masom i upravo je debljina jedan od glavnih čimbenika rizika za razvoj arterijske hipertenzije kod djece [41]. Osim arterijske hipertenzije, uz pretilost u djetinjstvu vezan je povećan rizik od razvoja brojnih drugih zdravstvenih problema poput dislipidemije, šećerne bolesti tipa 2 i hipertrofije lijeve klijetke

što sve povećava rizik za kardiovaskularne bolesti u odrasloj dobi [80]. Osim toga, pretila djeca često se suočavaju s poteškoćama u vezi s niskim samopouzdanjem, socijalnom izolacijom i lošijom kvalitetom života. Navedeno je dokaz nužnosti prevencije i liječenja debljine u djece.

Pretilost u djece rezultat je složene interakcije genetskih, okolišnih, bihevioralnih i socioekonomskih čimbenika [81], a nezdrava prehrana, nedostatak tjelesne aktivnosti i nedovoljno sna sve su prisutniji čimbenici rizika. Rano prepoznavanje pretilosti i primjena mjera prevencije ključni su za suzbijanje tog problema. To uključuje promicanje uravnotežene prehrane, redovite tjelesne aktivnosti, smanjenje vremena provedenog ispred ekrana, edukaciju o zdravim životnim stilovima i podršku obitelji, škola i zajednice. Važno je istaknuti da borba protiv pretilosti u djece zahtijeva cjelovit pristup na globalnoj, nacionalnoj i individualnoj razini kako bi se stvorilo okruženje koje potiče zdrave životne navike i podržava dobrobit djece [82].

Postoji nekoliko mogućih patofizioloških putova koji objašnjavaju povezanost pretilosti s povišenim krvnim tlakom i hipertenzijom, a u čijem je središtu načelo koje se odnosi na disfunkcionalne adipocite i neurohormonsku aktivaciju simpatičkog živčanog sustava. Važno je naglasiti da adipociti ne služe samo kao skladište masti već su i aktivne endokrinološke stanice. Prekomjerna tjelesna masa i pretilost povezane su s većom masom masnog tkiva što uz ostale stanice uključuje adipocite, makrofage i fibroblaste [83]. Masno tkivo izlučuje različite hormone i citokine, poznate kao adipokini koji se pojačano luče u stanju pretilosti. Kada proupalni adipokini (npr. leptin, rezistin) nadvladaju protuupalne (tj. adiponektin) adipokine, ta neravnoteža dovodi do disfunkcije masnog tkiva i kroničnog upalnog stanja. Mnogi od tih adipokina uzrokuju povećanu aktivnost simpatičkog živčanog sustava, a humane su studije pokazale da je nedostatak leptina povezan s nižom aktivnošću simpatičkog živčanog sustava [84].

Aktivacija simpatičkog živčanog sustava može utjecati na sve organe, ali kod pretilosti čini se da preferirano utječe na renalnu vaskulaturu te je povećanje BMI-ja kod ljudi povezano s povećanim lučenjem noradrenalina [85]. Dakle, uz svoje izravne vazokonstriksijske učinke, povećana aktivnost simpatičkog živčanog sustava također dovodi do povišenog krvnog tlaka i hipertenzije povećanjem aktivnosti renin-angiotenzin-aldosteronskog sustava (RAAS). Aktivnost RAAS-a povećava BP izravno (vazokonstrikcija posredovana angiotenzinom II) i neizravno (reapsorpcija soli i vode posredovana angiotenzinom II i aldosteronom). Aktivnost RAAS-a dodatno se povećava s povećanjem masnog tkiva jer adipociti također luče hormone RAAS-a te čimbenike stimulacije mineralokortikoida [86]. Osim toga, pretilost je povezana i s

upalom (prisutna infiltracija makrofaga u masno tkivo) te povećanom razinom slobodnih masnih kiselina. Dislipidemija, posebno povišen LDL-kolesterol i trigliceridi te nizak HDL-kolesterol, često je komorbiditet pretilosti. Povišen kolesterol poznati je čimbenik rizika za KV bolesti čiji je doprinos povišenom krvnom tlaku i hipertenziji vrlo složen. Osim što uzrokuje aterosklerozu, povišen LDL-kolesterol izaziva kroničnu upalu, aktivira simpatički živčani sustav te povećava aktivnost RAAS sustava [84]. Povećan oksidacijski stres još je jedan važan čimbenik hipertenzije povezane s pretilošću koji također potiče aktivaciju simpatičkog živčanog sustava. U konačnici, kod pretilosti dolazi do potpune metaboličke disfunkcije što dovodi do oslabljene endotelne i vaskularne funkcije te hipertenzije kao klinički prepoznatljiva ishoda [87].

### **1.5. Hipertenzija i vaskularna funkcija**

Endotel je prepoznat kao glavna odrednica vaskularne (pato)fiziologije jer ima ključnu ulogu u regulaciji protoka krvi, krvnog tlaka i perfuzije tkiva stvaranjem različitih vazoaktivnih tvari [88]. Narušena ravnoteža između endotelnih vazodilacijskih i konstriktorskih medijatora dovodi do poremećene vaskularne relaksacije [89], stoga upravo procjena endotelnog odgovora na različite fiziološke podražaje predstavlja važan alat za proučavanje vaskularnog zdravlja [19]. Endotelna disfunkcija ima istaknutu ulogu u razvoju ateroskleroze i hipertenzije, a oslabljena vazodilatacija ovisna o endotelu smatra se početnim znakom funkcionalnih aterosklerotskih promjena koje prethode morfološkim promjenama [90–92]. Osim hipertenzije, disfunkcija endotela prisutna je u razvoju drugih kardiovaskularnih i metaboličkih bolesti, uključujući pretilost, dijabetes i bolest koronarnih arterija [1]. Stoga bi neinvazivna procjena endotelne disfunkcije mogla predstavljati vrijedan klinički pokazatelj ukupnog vaskularnog rizika [93].

Proučavanje vaskularne funkcije, uključujući endotelnu te funkciju glatkih mišića krvnih žila i krutosti arterija, koristi se u procjeni stadija KV bolesti. Primarna hipertenzija u djece nije bezopasna i može uzrokovati značajno oštećenje ciljnih organa koje se ponekad registrira već u trenutku postavljanja dijagnoze. Iako su općenito kardiovaskularne bolesti rijetke u djetinjstvu, oštećenje ciljnih organa značajan je rizik za razvoj KV događaja u odrasloj dobi. Povišen arterijski tlak može već u dječjoj i adolescentnoj dobi izazvati različite promjene na ciljnim organima poput povećanja debljine intima-medije karotidnih arterija (engl. *carotid intima-media thickness*, cIMT), povećane krutosti krvnih žila koja se očituje povećanom



brzinom širenja pulsog vala (engl. *pulse-wave velocity*, PWV) kroz arterijsku stijenku, zatim hipertrofije lijeve klijetke, oštećenja bubrega te promjena na očnoj pozadini [43, 94].

Dobro je poznato da je esencijalna hipertenzija u odrasloj dobi povezana s povećanom krutošću arterija, endotelnom disfunkcijom i oslabljenim vazodilatacijskim odgovorom mikrocirkulacije [95–98]. U svojem su istraživanju Farkas i sur. istraživali vazodilataciju ovisnu o endotelu u koži podlaktice pomoću laser-doplerske floumetrije (LDH) u pacijenata s esencijalnom hipertenzijom te normotenzivnih kontrolnih ispitanika [98]. Mikrovaskularni odgovor na PORH i primjenu ACh bio je značajno oslabljen u hipertenzivnih bolesnika u odnosu na normotenzivne kontrolne ispitanike, dok se odgovor na primjenu SNP-a nije razlikovao između skupina što upućuje na povezanost esencijalne hipertenzije s endotelnom disfunkcijom u mikrocirkulaciji kože podlaktice.

Osim oslabljenog odgovora mikrocirkulacije, hipertenziju određuje i smanjena o endotelu ovisna funkcija krvnih žila sustavne cirkulacije [99]. Protokom posredovana dilatacija (FMD) brahijalne arterije najčešće je korištena metoda za neinvazivnu procjenu endotelne funkcije kao mjere biorasploživosti dušikova oksida u odgovoru na povećan žilni stres [19]. Čini se da smanjenje netoproizvodnje NO-a nije značajno uključeno u smanjenje biorasploživosti NO-a u hipertenziji iako je u nekim oblicima eksperimentalne hipertenzije predložen nedostatak enzimskog supstrata L-arginina zbog pojačane aktivnosti vaskularne arginaze [100]. Unatoč tomu, čini se da je glavni uzrok endotelne disfunkcije u hipertenzivnih pojedinaca povezan s povećanom razgradnjom NO-a. Konkretno, dokazano je da je endotelna disfunkcija povezana s hipertenzijom posljedica povećane proizvodnje oksidacijskog stresa [101]. ROS, uglavnom superoksidni anioni, vrlo su reaktivni i uništavaju NO čime se smanjuje njegova biorasploživost i povećava proizvodnja peroksinitrita koji imaju nekoliko negativnih učinaka na vaskularnu funkciju i strukturu [102]. Podržavajući tu hipotezu, intraarterijska primjena visokih doza antioksidansa vitamina C u podlakticu pacijenata s esencijalnom hipertenzijom može akutno uspostaviti normalnu vazodilataciju ovisnu o endotelu i obnoviti biorasploživost NO [101]. U prisutnosti hipertenzije smanjena dostupnost NO djelomice se nadoknađuje aktivacijom alternativnih putova, uključujući proizvodnju i otpuštanje EDHF-a koji doprinose održavanju vazodilatacije ovisne o endotelu [103]. Nadalje, u razvoju endotelne disfunkcije u hipertenziji može doprinijeti i složen međuodnos između NO-a i endotelina (ET-1). Unatoč normalnim cirkulirajućim razinama ET-1, pacijenti s hipertenzijom pokazuju povećanu vazokonstriktornu aktivnost peptida u perifernoj cirkulaciji koja je usporedna sa smanjenom dostupnošću NO-a [104]. Na vaskularnoj razini, vežući se na svoje specifične receptore

uglavnom lokalizirane u glatkim mišićnim stanicama, ET-1 stimulira vaskularnu kontrakciju i hipertrofiju [105]. Osim na glatkim mišićnim stanicama, ET-1 se veže i na velik broj svojih receptora na endotelnim stanicama te posreduje u otpuštanju NO-a inhibirajući tako vazokonstrikciju i staničnu proliferaciju [105]. U prisutnosti endotelne disfunkcije aktivacija receptora na endotelnim stanicama nije u stanju povećati vazodilataciju posredovanu NO te je pojačan vazokonstrikcijski učinak ET-1 [105]. Taj je fenomen dodatno potaknut smanjenim inhibicijskim učinkom NO-a na proizvodnju i aktivnost ET-1 [103] te ukupna izmijenjena ravnoteža između tih dvaju sustava može dovesti do povećane vazokonstrikcijske i proliferativne aktivnosti endotelina-1.

U svrhu procjene povezanosti endotelne disfunkcije i oštećenja ciljnih organa, Xu i sur. proučavali su endotelnu funkciju u hipertenzivnih pacijenata te su zaključili da je FMD brahijalne arterije bio znatno oslabljen kod bolesnika s većim brojem oštećenih organa [106]. Osim u odraslih, slična zapažanja zabilježena su i u pedijatrijskoj populaciji s prisutnim KV rizičnim čimbenicima, uključujući hipertenziju [18, 107–109]. Međutim, malo je dostupnih podataka o funkcionalnim ili morfološkim promjenama krvožilja u djece s esencijalnom hipertenzijom, a dostupni podatci upućuju na promjene strukture arterijske stijenke i povećanu vaskularnu krutost [110, 111]. Budući da je ograničen broj studija o mikro- i makrovaskularnoj funkciji u juvenilnoj esencijalnoj arterijskoj hipertenziji, točni mehanizmi koji leže u pozadini endotelne disfunkcije još nisu u potpunosti razjašnjeni. Ono što je dobro dokumentirano jest rani početak ateroskleroze, prisutan već u dječjoj dobi, na koji utječu čimbenici rizika, uključujući hipertenziju [112], sugerirajući da je pronalazak pouzdane dijagnostičke metode za procjenu prvih ranih promjena krvnih žila od iznimne važnosti u razumijevanju patofiziološkog tijeka bolesti. Budući da je povećan oksidacijski stres važan korak koji dovodi do oslabljene vaskularne funkcije, svakako je nužno procijeniti njegovu ulogu u toj funkciji.

Osim procjene mikro- i makrovaskularne funkcije u arterijskoj hipertenziji, poželjno je istražiti njezin učinak i na moždanu cirkulaciju. Transkranijски *color doppler* (engl. *transcranial color Doppler*, TCD) omogućuje brza, neinvazivna mjerenja cerebrovaskularne funkcije u stvarnom vremenu. TCD je neinvazivna ultrazvučna metoda sa širokim spektrom uporabe: važan je alat u dijagnozi i liječenju vazospazma, otkrivanju intrakranijalnih arterijskih stenoza, procjeni moždanih udara i moždane smrti u adultnoj, ali i pedijatrijskoj populaciji [113]. U kontekstu hipertenzije kod djece TCD može pružiti važne informacije o vaskularnom statusu mozga i mogućim promjenama koje se mogu pojaviti uslijed povišenog krvnog tlaka. Nadalje, TCD

može otkriti promjene u strukturi i funkciji cerebralnih krvnih žila, uključujući suženja, proširenja ili promjene u protoku krvi, koje mogu upućivati na vaskularna izravna oštećenja ili komplikacije povezane s hipertenzijom. Istraživanja cerebralne hemodinamike kod hipertenzivnih bolesnika daju oprječne podatke; naime dok jedni naglašavaju smanjen cerebralni protok krvi kod kroničnih hipertenzivnih ispitanika osjetljivih na cerebralnu ishemiju [114], drugi upućuju na povećane brzine protoka u ranom stadiju hipertenzije i skoro normalne brzine, ali veći vaskularni otpor u kroničnoj arterijskoj hipertenziji [115]. Klinički i eksperimentalni dokazi nedvojbeno upućuju na to da stalno učinkovito liječenje arterijske hipertenzije smanjuje rizik od razvoja cerebrovaskularne bolesti [116, 117]. Međutim, još uvijek postoje kontroverze u vezi s moždanim protokom krvi u mladih pojedinaca ili ranih stadija hipertenzivnih pacijenata bez neuroloških deficita [115].

## **2. HIPOTEZA**

Esencijalna arterijska hipertenzija kod djece povezana je sa smanjenim biljezima sustavne i moždane vaskularne reaktivnosti, odnosno s endotelnom disfunkcijom, a povećana razina oksidacijskog stresa potencijalno je ključni događaj u njezinu nastanku.

### 3. CILJEVI

Glavni je cilj ove studije utvrditi učinak esencijalne arterijske hipertenzije kod djece na sustavnu mikro- i makrovaskularnu reaktivnost te moždanu vaskularnu funkciju kao i odrediti ulogu oksidacijskog stresa u navedenom vaskularnom odgovoru.

Specifični su ciljevi ovog istraživanja funkcionalnim vaskularnim metodama odrediti utjecaj arterijske hipertenzije kod djece na:

- a) vaskularnu reaktivnost i endotelnu funkciju mikrocirkulacije kože;
- b) protokom posredovanu vazodilataciju velikih provodnih krvnih žila – brahijalne arterije i
- c) cerebralnu vaskularnu funkciju.

Drugi su specifični ciljevi laboratorijskim i molekularnim metodama odrediti povezanost arterijske hipertenzije i potencijalno promijenjenih parametara:

- a) indeksom tjelesne mase te sastavom tijela i tjelesnih tekućina;
- b) biokemijskim parametrima (krvna slika, lipidogram, glukoza, fibrinogen);
- c) razinom aktivnosti renin angiotenzinskog sustava (RAS-a) te
- d) biljezima oksidacijskog stresa i endotelne aktivacije.

Primarni je ishod istraživanja odgovor mikrocirkulacije kože na primjenu acetilkolina iontoforezom (odgovor ovisan o endotelu).

## 4. ISPITANICI I METODE

### 4.1. Ustroj studije i ispitanici

Ova je studija ustrojena kao presječna opservacijska studija u kojoj su ukupno sudjelovala 52 ispitanika podijeljena u dvije studijske skupine: kontrolnu skupinu (NT skupina, N = 26), koju su činila zdrava djeca urednih vrijednosti krvnoga tlaka (normotenzivna djeca), i skupinu koju su činila djeca oboljela od esencijalne arterijske hipertenzije (HT skupina, N = 26) u dobi od 9 do 17 godina, oba spola. Ispitanici su bili regrutirani kroz svakodnevni rutinski rad ambulanti Klinike za pedijatriju KBC-a Osijek, Hrvatska. Najčešći razlog odlaska normotenzivne djece specijalistu pedijatrije bile su tenzijske glavobolje, dok su hipertenzivna djeca regrutirana tijekom redovitih kontrolnih posjeta pedijatrijskom nefrologu. Djecu su u studiju uključivali pedijatri prema zadanim uključnim, odnosno isključnim kriterijima. Arterijska je hipertenzija definirana kao vrijednost sistoličkog i/ili dijastoličkog tlaka jednaka ili veća od 95. percentile za dob, spol i tjelesnu visinu izmjerena u trima ili više odvojenih mjerenja, odnosno krvni tlak vrijednosti jednakih ili viših od 140/90 mmHg za adolescente u dobi od 16 godina i starije [118].

Ispitanicima koji uzimaju terapiju za liječenje arterije hipertenzije funkcionalna vaskularna mjerenja i uzorkovanja (24-satnog urina i venske krvi) obavljena su nakon dvotjednog razdoblja „ispiranja“ (tzv. „washout“ razdoblja) tijekom kojeg im je ukinuta antihipertenzivna terapija, a nakon provedenih mjerenja ispitanici su nastavili redovito uzimati terapiju. Sva funkcionalna mjerenja i uzorkovanja obavljena su u jutarnjim satima, natašte.

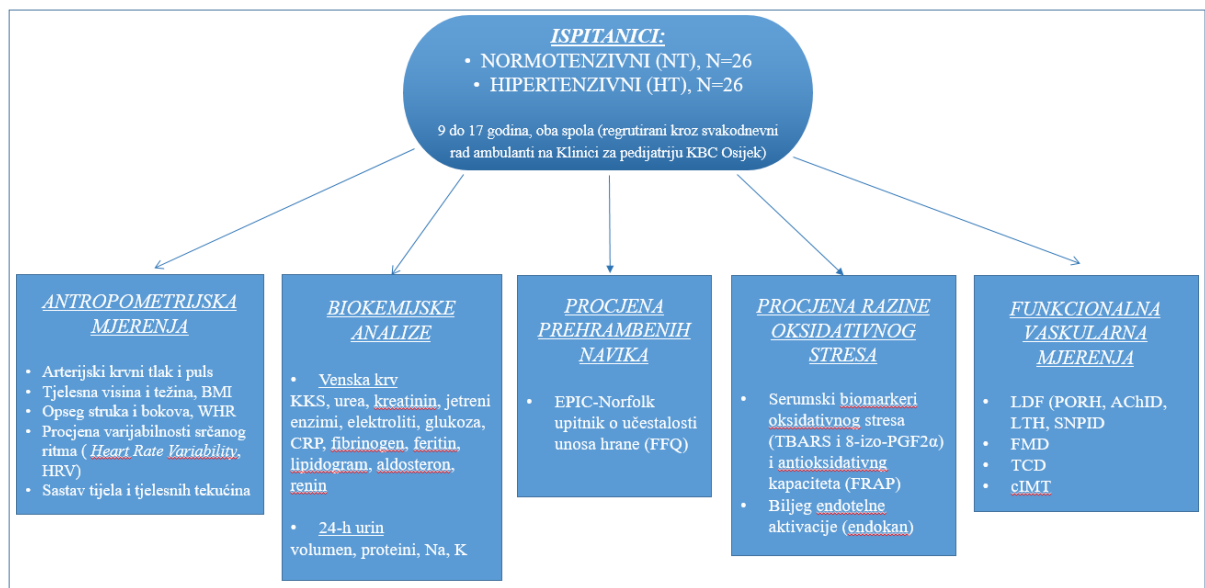
Isključni kriteriji za ulazak u studiju bili su postojanje sljedećih stanja (dokazano anamnestičkim podacima, kliničkom procjenom, odgovarajućim laboratorijskim i slikovnim pretragama):

- sekundarna arterijska hipertenzija (povezana s bubrežnim, renovaskularnim endokrinološkim, kardiološkim ili neurološkim bolestima)
- hipertenzija bijele kute
- maskirna hipertenzija
- nasljedne metaboličke bolesti i druge nasljedne sistemske bolesti
- autoimune bolesti ili sistemske bolesti s imunopatologijom
- neurodegenerativne bolesti

- uzimanje bilo kakvih lijekova koji mogu imati utjecaj na vaskularnu ili imunološku funkciju (monoklonska protutijela, imunosupresivna terapija, sustavni kortikosteroidi).

Protokol i svi postupci koji su se provodili u ovoj studiji usklađeni su sa svim važećim i primjenljivim smjernicama utvrđenim u posljednjoj reviziji Helsinške deklaracije, a sve postupke koji uključuju sudionike istraživačke studije odobrilo je Etičko povjerenstvo Medicinskoga fakulteta Sveučilišta u Osijeku (KLASA:602-04/21-08/07; URBROJ: 2158-61-07-21-06) i Etičko povjerenstvo KBC-a Osijek (BROJ: R1/6414/2021). Studija je registrirana na Clinical Trail pod nazivom Juvenilna esencijalna arterijska hipertenzija i vaskularna funkcija (NCT broj: NCT05109013). Ispitanici su bili isključivo volonteri bez kompenzacije za sudjelovanje u studiji. Svi roditelji/skrbnici ispitanika bili su detaljno upoznati sa svim postupcima kojima su djeca bila podvrgnuta tijekom studije te su za sudjelovanje u njoj dali pisani informirani pristanak. Svi su ispitanici mogli u bilo kojem trenutku odustati od sudjelovanja u istraživanju bez ikakvih posljedica. Identitet i osobni podatci ispitanika zaštićeni su, a svaki je ispitanik vođen pod posebno kreiranom šifrom ovisno o tome u kojoj se studijskoj skupini nalazio.

Sva funkcionalna vaskularna mjerenja i uzorkovanja (24-satnog urina i venske krvi) provedena su tijekom jednog studijskog posjeta Klinici za pedijatriju KBC-a Osijek u Laboratoriju za kliničku fiziologiju i fiziologiju sporta te Laboratoriju za molekularnu i kliničku imunologiju Katedre za fiziologiju i imunologiju Medicinskoga fakulteta Osijek.



**Slika 4.1.** Ustroj studije (izvor: izradila autorica)

#### 4.2. Antropometrijska i hemodinamska mjerenja te analiza venske krvi i 24-satnog urina

Svim ispitanicima izmjerene su visina (m) i masa (kg) kako bi se odredio indeks tjelesne mase [119] (engl. *body mass index*, BMI). Nadalje, izmjereni su opseg struka i bokova (cm) te određen omjer struka i bokova (engl. *waist-to-hip ratio*, WHR). Nakon 15 minuta odmora u sjedećem položaju ispitanicima je izmjeren sistolički i dijastolički BP te puls s pomoću automatiziranog oscilometrijskog sfigmomanometra (OMRON M3, OMRON Healthcare Inc., Osaka, Japan), a za konačne vrijednosti uzele su se srednje vrijednosti triju ponovljenih mjerenja. Srednji arterijski krvni (engl. *mean arterial pressure*, MAP) tlak određen je s pomoću vrijednosti sistoličkog i dijastoličkog BP, a prema sljedećoj formuli:  $MAP = [SBP + 2 \times (DBP)] / 3$ . Djeci s arterijskom hipertenzijom provedeno je 24-satno kontinuirano (automatsko) mjerenje arterijskog tlaka (KMAT, uređaj TONOPRINT V).

Nadalje, nakon 15 minuta mirovanja u sjedećem položaju ispitanicima je uzet uzorak venske krvi za određivanje kompletne krvne slike, lipidograma (ukupni kolesterol, kolesterol lipoproteina visoke gustoće (HDL), kolesterol lipoproteina niske gustoće (LDL) i trigliceridi), glukoze, fibrinogena, ureje, kreatinina, urata, elektrolita, željeza, transferina, jetrenih enzima, plazma reninske aktivnosti te aldosterona. Iz uzoraka seruma koji je odvojen od venske krvi, alikvotiran i pohranjen u hladnjaku na  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ , naknadno je u Laboratoriju za molekularnu i kliničku imunologiju Medicinskog fakulteta Osijek ELISA (engl. *enzyme-linked immunosorbent assay*) metodom određena koncentracija endokana, biljega endotelne aktivacije. Za kvantifikaciju endokana korišten je tvornički kit (ab213776 – Human ESM1 ELISA Kit, Abcam, Cambridge, UK) prema uputama proizvođača. Mjerenje intenziteta obojenja, odnosno apsorbance, rađeno je s pomoću spektrofotometra uz uporabu standardne krivulje (PR 3100 TSC Microplate Reader, BioRad Laboratories, Hercules, California).

Nadalje, svi su ispitanici prikupljali urin tijekom 24-satnog razdoblja prema ranije danim uputama [120] u predviđenu standardnu, steriliziranu bocu za prikupljanje urina te su ga donijeli na studijski posjet. Iz uzorka 24-satnog urina analizirano je izlučivanje natrija, kalija, ureje, kreatinina i proteina. Molarno izlučivanje natrija i kalija u 24-satnom urinu korišteno je za procjenu dnevnog unosa natrija i kalija u miligramima (mg) s pomoću odgovarajućih formula [ $1\text{ mmol} = 22,99\text{ mg}$  natrija ili  $39,10\text{ mg}$  kalija], a procijenjen je i dnevni unos soli na temelju 24-satnog izlučivanja natrija mokraćom [ $1\text{ g}$  soli (NaCl) =  $393,4\text{ mg}$  Na =  $17,1\text{ mmol}$  Na]. Na taj je način moguće izračunati unos soli:  $\text{sol (g/dan)} = 24\text{-h natrij u mokraći (mmol/24-h)} / 17,1$  [121].



Analize uzoraka venske krvi i 24-satnog urina rađene su u Kliničkom zavodu za laboratorijsku dijagnostiku KBC-a Osijek, Osijek, Hrvatska.

#### 4.3. Sastav tijela i tjelesnih tekućina

Za određivanje sastava tijela i tjelesnih tekućina korišten je prijenosni analizator impedancije s četirima elektrodama (Maltron Bioscan 920-II, Maltron International Ltd.; Rayleigh, Essex, UK). S pomoću pripadajućeg programa za analizu te uporabom empirijski izvedenih formula (originalni softver proizvođača) određen je udio nemasnog tkiva (%) (engl. *fat free mass* %, FFM %), udio masnog tkiva (%) (engl. *fat mass* %, FM %), gustoća tijela (kg/L) (engl. *body density*, BD), volumen plazme (engl. *plasma fluid*, PF), volumen intersticijske tekućine (engl. *interstitial fluid*, IF), udio svih tjelesnih tekućina (engl. *total body water* %, TBW %), udio izvanstanične tekućine (engl. *extracellular water* %, ECW %), udio unutarstanične tekućine (engl. *intracellular water* %, ICW %) te omjer ECW / ICW.

#### 4.4. Procjena prehrambenih navika

Podatci o prosječnom dnevnom ukupnom unosu energije i hrane dobiveni su validiranim EPIC-Norfolk upitnikom o učestalosti unosa hrane (EPIC-Norfolk food frequency questionnaire, FFQ; University of Cambridge; <https://www.epic-norfolk.org.uk/for-researchers/ffq/>). Upitnik osigurava podatke o učestalosti konzumiranja različitih namirnica kao i njihovoj količini. Za svakog ispitanika FFQ je korišten kako bi se procijenio prosječan unos hrane, odnosno prehrambenih namirnica tijekom prethodne godine. Upitnik se sastoji od popisa namirnica i standardnih veličina porcija za svaku. Popis namirnica sadrži deset kategorija: (1) meso i riba, (2) kruh i slani keksi, (3) žitarice, (4) krumpir, riža i tjestenina, (5) mliječni proizvodi i masti, (6) slatkiši i grickalice, (7) juhe, umaci i namazi, (8) pića, (9) voće i (10) povrće. Sudionici su zamoljeni da navedu učestalost konzumiranja određene količine svake namirnice tijekom prethodne godine na dnevnoj, tjednoj ili mjesečnoj bazi. U drugom dijelu upitnika nalaze se dodatna detaljna pitanja vezana uz određene namirnice, začine i dodatke prehrani upotrijebljene tijekom prošle godine. Kodirani podatci potom su analizirani s pomoću odgovarajućeg softvera, tj. FFQ EPIC alata za analizu (FETA) [122]. Rezultati su uključivali prosječne vrijednosti hranjivih tvari za prošlu godinu u preporučenim jedinicama.

#### 4.5. Procjena varijabilnosti srčanog ritma

Procjena varijabilnosti srčanog ritma (engl. *heart rate variability*, HRV) smatra se mjerom neurokardijalne funkcije koja se koristi za procjenu interakcija između srca i mozga te procjenu

aktivnosti autonomnog živčanog sustava [123]. Metoda se odnosi na analizu i mjerenje promjena u vremenskim intervalima između uzastopnih srčanih otkucaja iz EKG (elektrokardiografskog) zapisa, a sastoji se od triju glavnih odrednica: vremenskog područja, frekvencijskog raspona i nelinearne analize. Analiza vremenskog područja daje podatak o prosječnim vrijednostima varijacija za različite periode vremena, a njezini su glavni parametri SDNN – standardno odstupanje između otkucaja srca (engl. *standard deviation of normal-to-normal inter-beat interval*), RMSSD – kvadratno korijenje srednje vrijednosti kvadrata razlike između uzastopnih normalnih R-R intervala (engl. *root mean square of successive RR interval difference*) te pNN50 – broj uzastopnih normalnih R-R intervala koji se razlikuju više od 50 ms. SDNN je izravan prikaz varijabilnosti srčanog ritma koji prikazuje sveukupnu aktivnost autonomnog živčanog sustava, dok je RMSSD povezan s aktivnošću parasimpatikusa. Analiza frekvencijskog raspona računa se spektralnom analizom izraženom kao snaga u određenim frekvencijskim područjima, a obuhvaća: visoke frekvencije (HF; engl. *high frequency*), prikazuje parasimpatičku aktivnost; niske frekvencije (LF; engl. *low frequency*), aktivnost simpatikusa, te vrlo niske frekvencije (VLF; engl. *very low frequency*) što se smatra mjerom aktivnosti renin-angiotenzin-aldosteron sustava. Analizom frekvencijskog područja dobije se i podatak ukupne snage, mjere povezane sa SDNN-om, te omjer LF/HF koji prikazuje aktivnost autonomnog živčanog sustava [124]. Procjenom HRV-a mogu se dobiti informacije o međusobnom odnosu i stanju ravnoteže između simpatičke i parasimpatičke aktivnosti srca kao i o adaptivnim sposobnostima autonomnog živčanog sustava. Visoka HRV obično upućuje na dobru srčanu prilagodljivost, a smanjena HRV može upućivati na smanjenu fleksibilnost i povezanost s različitim zdravstvenim stanjima.

Za određivanje varijabilnosti srčanog ritma koristio se uređaj Heart Rhythm Scanner (Biocom 4000) kojim se bilježio EKG signal kroz pet minuta. Mjerenja su rađena nakon 10-minutnog mirovanja, a uvijek u ležećem položaju s rukama u položaju supinacije, elektrodama pričvršćenim na oba zapešća uz pomoć elastičnih traka. Dobiveni podatci obrađeni su originalnim programom istog proizvođača.

## 4.6. Vaskularna mjerenja

### 4.6.1. Mjerenje vaskularne reaktivnosti u mikrocirkulaciji kože podlaktice

S pomoću laser-doplerske floumetrije (LDF) (MoorVMS-LDF, Axminster, UK) mjeren je bazalni krvni protok u mikrocirkulaciji kože podlaktice te u odgovoru na različite fiziološke podražaje. Vazodilatacija ovisna o endotelu ispitana je mjerenjem mikrovaskularnog odgovora na 1-minutnu vaskularnu okluziju (poslijeokluzivna reaktivna hiperemija, PORH), na iontoforetsku primjenu acetilkolina (ACh) te u odgovoru na lokalno toplinsko zagrijavanje kože podlaktice (lokalna toplinska hiperemija, LTH). S druge strane, endotel neovisna vazodilatacija procijenjena je s pomoću iontoforetske primjene natrijeva nitroprusida.

Sva su se mjerenja provodila ujutro, nakon noćnog gladovanja, a prema standardiziranim protokolima koji su detaljno opisani u ranijim publikacijama naše istraživačke skupine [25, 125]. LDF mjerenja provedena su u prostoriji s kontroliranom temperaturom (23,5 °C +/-0,5 °C). Laser-doplerska sonda bila je pričvršćena na kožu volarne podlaktice, 13 – 15 cm od zapešća, te je nakon 5-minutnog mjerenja bazalnog protoka mjeren mikrovaskularni odgovor na navedene fiziološke podražaje. Primjenom originalnog softvera, koji je osigurao proizvođač (moorVMS-LDF, Moor instruments, Axminster, UK), mikrocirkulacijski protok izražen je u proizvoljnim perfuzijskim jedinicama (PU) izračunan kao površina ispod krivulje (AUC). PORH je izražen kao razlika između % promjene protoka tijekom reperfuzije i okluzije u odnosu na početnu vrijednost (R-O %), a dilatacija u odgovoru na ACh i SNP kao povećanje protoka nakon njihove primjene u usporedbi s početnim protokom. Odgovor na lokalno toplinsko zagrijavanje izražen je kao povećanje protoka tijekom zagrijavanja u usporedbi s bazalnim vrijednostima mikrovaskularnog protoka kože podlaktice.

### 4.6.2. Mjerenje protokom posredovane vazodilatacije brahijalne arterije

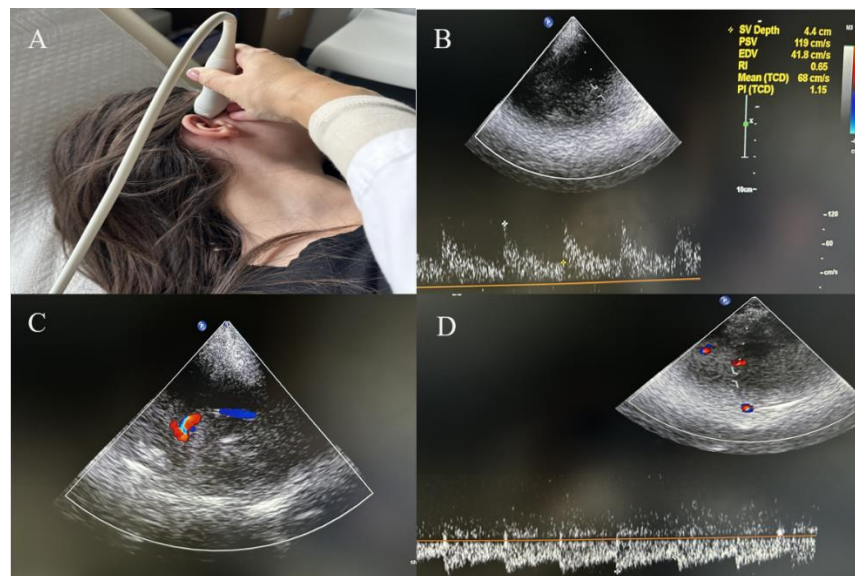
Protokom posredovana vazodilatacija (engl. *flow-mediated dilation*, FMD) brahijalne arterije metoda je koja *in vivo* mjeri arterijsku funkciju izraženu kao % dilatacije nakon razdoblja okluzije podlaktice. FMD se smatra zlatnim standardom za procjenu NO ovisne arterijske dilatacije [18]. Snimanje brahijalne arterije provodi se u uzdužnoj ravnini na približno 5 cm proksimalno od antekubitalne jame desne ruke korištenjem vaskularne linearne ultrazvučne sonde (Vivid™ iq, GE Health Care, Chicago, IL, SAD). Nakon mjerenja bazalnog protoka, mjeri se maksimalan promjer arterije tijekom faze dilatacije u odgovoru na 5-minutnu okluziju

podlaktice. Okluzija podlaktice provedena je s pomoću odgovarajuće manžete za krvni tlak postavljene na podlakticu, distalno od antekubitalne jame snimljene ruke.

FMD je izražen kao % promjene promjera arterije između bazalne vrijednosti i najveće srednje vrijednosti dobivene nakon otpuštanja okluzije podlaktice. Slike su digitalno snimljene s pomoću Brachial Imagery (Medical Imaging Applications, Iowa City, IA, SAD) i analizirane kao što je prethodno opisano [126].

#### 4.6.3. Procjena moždane hemodinamike

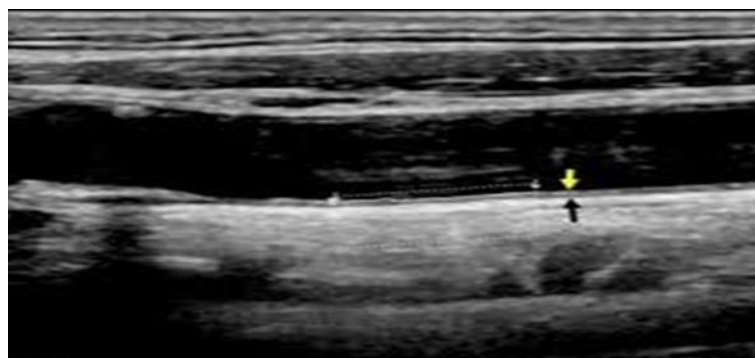
TCD ultrazvuk neinvazivna je tehnika koja se koristi za ispitivanje brzine protoka krvi kroz moždanu cirkulaciju, a u ovom istraživanju za procjenu moždane vaskularne funkcije upotrijebljen je ultrazvučni uređaj Philips EPIQ 7, Ultrasound te sektorska sonda frekvencije 5Hz. Mjerena je srednja brzina protoka (cm/s) kroz desnu i lijevu srednju moždanu arteriju (lat. *arteria cerebri media*, ACM) te bazilarnu arteriju (lat. *arteria basillaris*, AB) kao i njihov indeks otpora (RI). Fizikalno načelo rada TCD-a jest to da sonda emitira ultrazvučni signal kroz kost koji se nazad reflektira odbijajući se od eritrocita u krvnim žilama mozga što je u proporcionalnoj korelaciji s brzinom protoka. Razlika između poslanog i primljenog signala frekvencije predstavlja doplerski pomak, a moždani protok krvi ovisi o srednjoj brzini protoka krvi te o presjeku krvne žile [127].



**Slika 4.2. TCD snimanje.** Položaj ultrazvučne sonde na temporalnom akustičnom prozoru (A). TCD zapis na monitoru u stvarnome vremenu; u donjem je dijelu prikazan spektar brzina srednje moždane arterije (ACM) desno, a u desnom gornjem kutu prikazuju se automatski izračunani parametri (B). Prikaz srednje moždane arterije (ACM), M2 segment, prikaz na monitoru u stvarnom je vremenu (C). Prikaz bazilarne arterije (AB) i spektra brzina u stvarnom vremenu na monitoru (D). (izvor: izradila autorica)

Metoda mjerenja debljine intima-medije karotidne arterije (engl. *carotid intima media thickness*, cIMT) predstavlja vrlo pouzdanu neinvazivnu metodu koja je dobar rani pokazatelj razvoja subkliničke ateroskleroze. cIMT označava udaljenost između granica lumen-intima i medija-adventicija karotidne arterije koje su prikazane kao dvije usporedne, hiperehogene linije odvojene hipoehogenim područjem. Rane aterosklerotske promjene u arterijskoj stijenci primarno se nalaze u intimi, međutim standardni ultrazvučni aparati uglavnom nemaju takvu sposobnost rezolucije da pojedinačno mjere debljinu intime i medije [128].

Način je izvođenja pretrage jednostavan. Inicijalni korak podrazumijeva pronaći ravninu u kojoj se istovremeno mogu prikazati bifurkacija karotidne arterije, bulbus karotide te distalni odsječak zajedničke karotidne arterije. Ispitanici se postavljaju u supinacijski položaj s ekstenziranom vratom i glavom okrenutom kontralateralno od arterije koju želimo vizualizirati i analizirati. Segment koji označava zajedničku karotidnu arteriju trebao bi biti prikazan potpuno vodoravno na zaslonu uz dobro vidljiv uzorak dvostruke linije pri čemu obje stijenke moraju biti vizualizirane. Potrebno je koristiti linearnu sondu s frekvencijom minimalno 7 MHz za ultrazvučni pregled karotidnih arterija. Korištenjem niže frekvencije može doći do lažno viših vrijednosti mjerenog područja, a time i do lažnih rezultata. Uglavnom se kod ispitanika mogu vizualizirati karotidne arterije na dubini do 4 cm, no pojedinim pacijentima s debljim vratom ili s dublje smještenim arterijama potrebno je povećati dubinu mjerenja čime se rezolucija smanjuje. Budući da je zajednička karotidna arterija tubularne strukture i postavljena je okomito na ultrazvučne zrake, određivanje cIMT-a tog segmenta najviše je pouzdano, ali i mjesto gdje najrjeđe nastaju plakovi u odnosu na druge karotidne arterije. Stoga se upravo na tom mjestu cIMT mjeri jer je važno znati procijeniti izgled plaka u odnosu na stijenku krvne žile bez plaka [129].



**Slika 4.3. Prikaz zajedničke karotidne arterije.** Područje između dviju strelica označava debljinu intima-medije (cIMT). (izvor: izradila autorica)

#### 4.7. Određivanje biomarkera oksidacijskog stresa i antioksidacijske obrane u serumu

Mjereni biljezi oksidacijskog stresa bili su reaktivne tvari tiobarbituratne kiseline mjerenjem produkata lipidne peroksidacije (TBARS, engl. *Thiobarbituric Acid Reactive Substances*) i 8-izo-prostaglandin F2 $\alpha$  (8-izo-PGF2 $\alpha$ ), dok je antioksidacijski kapacitet određen s pomoću sposobnosti plazme za redukciju željeza (engl. *Ferric Reducing Ability of Plasma*, FRAP). TBARS i FRAP određeni su spektrofotometrijskom metodom, a 8-izo-PGF2 $\alpha$  komercijalno dostupnim ELISA kitom (MyBioSource, MBS700957, San Diego, CA, SAD) prema ranije detaljno opisanim protokolima [121, 130].

#### 4.8. Statističke metode

Kategorički (nominalni) podatci predstavljeni su apsolutnim i relativnim frekvencijama. Razlike među kategoričkim varijablama ispitane su Fisherovim egzaktnim testom. Numerički podatci prikazani su kao medijan i raspon. Za obradu podataka upotrijebljeni su neparametrijski testovi (Mann-Whitneyjev U test) te je napravljena analiza kovarijance (ANCOVA) prilagođena dobi, spolu, BMI-ju. Za procjenu povezanosti (korelacije) dva mjerena parametra koristio se Spearmanov test korelacije. Statistička je značajnost postavljena na  $P < 0,05$ . Za statističku analizu upotrijebljen je statistički program SigmaPlot (SYSTAT Software verzija 15, Chicago, SAD).

Na temelju preliminarnih rezultata, a prema primarnom ishodu studije, odnosno odgovoru mikrocirkulacije kože na primjenu acetilkolina iontoforezom, izračunana je veličina uzorka s pomoću GPower v3.1.9.7 softvera (Heinrich Heine Sveučilište Düsseldorf, Düsseldorf, Njemačka). Dobivena veličina uzorka za snagu testa od 0,8 i P vrijednost manju od 0,05 iznosila je 13 ispitanika po skupini.

## 5. REZULTATI

Ova studija uključivala je ukupno pedeset i dvoje djece, obaju spolova, u dobi između 9 i 17 godina. Na temelju (ne)postojanja esencijalne arterijske hipertenzije, ispitanici su bili podijeljeni u dvije skupine: NT (normotenzivnu) skupinu, koju su činila zdrava djeca normalnih vrijednosti krvnog tlaka (N = 26; 13 djevojčica / 13 dječaka), i HT (hipertenzivnu) skupinu koju su činila djeca s dijagnosticiranom esencijalnom arterijskom hipertenzijom (N = 26; 10 djevojčica / 16 dječaka) (tablica 5.1.). U HT skupini 18 ispitanika, od ukupno njih 26 (69 %), ima pozitivnu obiteljsku anamnezu, dok u NT skupini samo tri ispitanika od njih ukupno 26 (11,5 %) imaju pozitivnu obiteljsku anamnezu. Među hipertenzivnim ispitanicima njih 14, od 26 ukupno (54 %), uzimaju antihipertenzivnu terapiju. Između ispitivanih skupina nije bilo značajne razlike u spolnoj zrelosti (prema Tanner Staging) (NT (4 [1-4]) vs. HT (4 [1-4]), P = 0,302).

**Tablica 5.1. Obilježja ispitanika**

	NT skupina	HT skupina	P
	broj (%) ispitanika		
<b>spol</b>			
muško	13 (50,0)	16 (61,5)	0,57
žensko	13 (50,0)	10 (38,5)	
<b>postojanje AH u obitelji</b>			
DA	3 (11,5)	18 (69,0)	< 0,001
NE	23 (88,5)	8 (31,0)	
<b>uzimanje antihipertenzivnih lijekova</b>			
DA	0 (0,0)	14 (54,0)	< 0,001
NE	26 (100,0)	12 (46,0)	

Rezultati su prikazani kao apsolutne i relativne frekvencije; P – P vrijednost (Fisherov egzaktni test).

### 5.1. Antropometrijski, hemodinamski i biokemijski parametri

Antropometrijski i hemodinamski parametri ispitanika prikazani su u tablici 5.2. Kao što je bilo i očekivano, vrijednosti krvnog tlaka – SBP, DBP i MAP, bile su značajno veće u HT skupini u odnosu na NT skupinu, dok se srčana frekvencija nije razlikovala između skupina.

Iako su ispitanici iz HT skupine imali značajno veći BMI od ispitanika iz NT skupine (NT 21,25 [15,82 – 40,46] vs. HT 28,79 [15,24 – 42,87],  $P < 0,001$ ), omjer struka i bokova nije se razlikovao između skupina (NT 0,79 [0,69 – 1,12] vs. HT 0,84 [0,7 – 0,95],  $P = 0,06$ ).

**Tablica 5.2. Antropometrijski i hemodinamski parametri ispitanika**

Parametar	NT skupina	HT skupina	P
dob (godine)	16 [9,0 – 17,0]	16 [9,0 – 17,0]	0,43
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	21,25 [15,82 – 40,46]	28,79 [15,24 – 42,87]	< <b>0,001</b>
WHR	0,79 [0,69 – 1,12]	0,84 [0,7 – 0,95]	0,06
SBP (mmHg)	110 [79 – 125]	137 [123 – 156]	< <b>0,001</b>
DBP (mmHg)	72 [56 – 89]	80 [59 – 100]	< <b>0,001</b>
MAP (mmHg)	85 [70 – 98]	95 [76 – 113]	< <b>0,001</b>
HR (otkucaja/min)	85 [63 – 107]	86 [55 – 110]	0,58

Rezultati su prikazani kao medijan i min. – maks. raspon; P – P vrijednost (Mann-Whitneyjev U test).

NT – normotenzivna; HT – hipertenzivna; N – broj ispitanika; M – muško; Ž – žensko; BMI – indeks tjelesne mase (engl. *body mass indeks*); WHR – omjer struka i bokova (engl. *waist-to-hip ratio*); SBP – sistolički krvni tlak; DBP – dijastolički krvni tlak; MAP – srednji arterijski tlak; HR – engl. *heart rate*, puls.

Sistolički, dijastolički i srednji arterijski tlak značajno pozitivno korelira s BMI-jem (SBP  $r = 0,586$ ,  $P < 0,001$ ; DBP  $r = 0,356$ ,  $P = 0,016$ ; MAP  $r = 0,488$ ,  $P < 0,001$ ) i WHR-om (SBP  $r = 0,321$ ,  $P < 0,05$ ; DBP  $r = 0,286$ ,  $P = 0,044$ ; MAP  $r = 0,351$ ,  $P < 0,05$ ).

Rezultati biokemijske analize venske krvi i 24-satnog urina prikazani su u tablici 5.3. Mjereni parametri biokemijske analize ukupne krvne slike, elektrolita u serumu i markera bubrežne funkcije nisu se razlikovali između skupina, dok su djeca iz HT skupine imala više vrijednosti



ukupnog i LDL kolesterola te niže vrijednosti HDL kolesterola, ali su sve vrijednosti bile unutar normalnog referentnog raspona (kolesterol  $< 5,00$  mmol/L, LDL kolesterol  $< 3,00$  mmol/L, HDL kolesterol  $> 1,00$  mmol/L). Razina CRP-a bila je značajno povišena u djece s hipertenzijom u usporedbi sa zdravom normotenzivnom kontrolnom skupinom (NT 0,4 [0,1 – 1,3] vs. HT 5,5 [0,6 – 7,9]), a njihove se vrijednosti smatraju umjereno povišenima (normalna vrijednost CRP-a iznosi  $\leq 5$  mg/L). Fibrinogen je značajno povećan u hipertenzivne djece u usporedbi s normotenzivnom (NT 2,3 [1,2 – 3,3] vs. HT 4,6 [2,8 – 5,7] g/L, referentna je vrijednost manja od 3,5 g/L). Također, feritin je značajno povećan u hipertenzivne djece u usporedbi s normotenzivnom (NT 46 [10 – 77] vs. 122 [63 – 196] ( $\mu$ g/L), referentna je vrijednost 10 – 120  $\mu$ g/L).

Vrijednosti alanin-aminotransferaze i gamma-glutamil transferaze bile su povišene u HT skupini u odnosu na NT skupinu. Također, koncentracije aldosterona i renina, iako u rasponu referentnih vrijednosti, značajno su bile povišene u hipertenzivne djece u odnosu na normotenzivnu (aldosteron – NT 89,1 [45,3 – 225,0] vs. HT 240,0 [97,0 – 640,0] pmol/L; renin – NT 12,1 [3,6 – 23,7] vs. 33,7 [10,0 – 78,4] mIU/L).

Volumeni 24-satnog urina bili su podjednaki u objema skupinama. Vrijednosti koeficijenta kreatinina i izlučivanja proteina u 24-satnom urinu nisu se također razlikovale između skupina. 24-satno izlučivanje natrija (NT 121,2 [89,7 – 164] vs. HT 183 [67,8 – 251,5]) i kalija (NT 4,1 [3,9 – 4,6] vs. HT 63,8 [23,5 – 92,3]) urinom kao i izračun procijenjenog dnevnog unosa soli, natrija i kalija bili su značajno viši u HT skupini u odnosu na NT skupinu. Prosječan dnevni unos soli kod normotenzivne djece iznosio je u gramima 7,09 [5,25 – 9,59], a kod hipertenzivne djece 10,7 [4,0 – 14,7]. Prema analizi 24-satnog urina, molarni omjer Na-K bio je veći u NT skupini u usporedbi s HT skupinom.

Izračunan dnevni unos soli značajno pozitivno korelira sa SBP-om ( $r = 0,517$ ,  $P < 0,001$ ), DBP-om ( $r = 0,441$ ,  $P < 0,001$ ), MAP-om ( $r = 0,524$ ,  $P < 0,001$ ) te s BMI-jem ( $r = 0,443$ ,  $P = 0,003$ ).

Tablica 5.3. Biokemijska analiza venske krvi i 24-satnog urina ispitanika

Parametar	NT skupina	HT skupina	P
<b>Biokemijska analiza venske krvi</b>			
eritrociti (10E12/L)	4,8 [4,4 – 5,8]	5,0 [4,5 – 5,8]	0,08
hemoglobin (g/L)	134 [115 – 151]	137 [123 – 165]	0,1
leukociti (10E9/L)	7,1 [3,8 – 11,9]	7,6 [4,1 – 14,8]	0,51
trombociti (10E9/L)	248 [188 – 387]	300 [185 – 411]	0,05
urea (mmol/L)	4,0 [3,1 – 5,6]	4,5 [2,6 – 6,4]	0,18
kreatinin ( $\mu$ mol/L)	55 [36 – 75]	59 [35 – 75]	0,45
aspartat-aminotransferaze (U/L)	21 [12 – 31]	24 [13 – 66]	0,186
alanin-aminotransferaze (U/L)	18 [8 – 26]	23 [8 – 66]	<b>0,027</b>
gama-glutamil transferaze (U/L)	15 [9 – 24]	24 [11 – 59]	<b>0,003</b>
laktat dehidrogenaza (U/L)	169 [137 – 240]	180 [142 – 323]	0,24
natrij (mmol/L)	138 [135 – 143]	139 [135 – 145]	0,07
kalij (mmol/L)	4,1 [3,9 – 4,6]	4,2 [3,6 – 4,6]	0,39
glukoza (mmol/L)	4,9 [4,3 – 5,2]	5,2 [4,7 – 5,5]	0,06
CRP (mg/L)	0,4 [0,1 – 1,3]	5,5 [0,6 – 7,9]	<b>&lt; 0,001</b>
fibrinogen (g/L)	2,3 [1,2 – 3,3]	4,6 [2,8 – 5,7]	<b>&lt; 0,001</b>
feritin ( $\mu$ g/L)	46 [10 – 77]	122 [63 – 196]	<b>&lt; 0,001</b>
kolesterol (mmol/L)	2,5 [2,0 – 4,9]	4,7 [2,6 – 7,9]	<b>&lt; 0,001</b>
trigliceridi (mmol/L)	0,9 [0,5 – 2,0]	1,1 [0,4 – 4,3]	0,063
HDL kolesterol (mmol/L)	1,8 [0,9 – 2,0]	1,2 [0,8 – 2,0]	<b>&lt; 0,001</b>
LDL kolesterol (mmol/L)	2,1 [1,4 – 3,0]	2,9 [1,6 – 5,2]	<b>&lt; 0,001</b>
aldosteron (pmol/L)	89,1 [45,3 – 225,0]	240,0 [97,0 – 640,0]	<b>&lt; 0,001</b>
renin (mIU/L)	12,1 [3,6 – 23,7]	33,7 [10,0 – 78,4]	<b>&lt; 0,001</b>
aldosteron/renin, konc. omjer	7,3 [4,0 – 15,0]	9,0 [3,0 – 27,0]	0,5
<b>Biokemijska analiza 24-satnog urina</b>			
24-satni volumen urina (ml)	1880 [1200 – 2450]	1940 [1210 – 2930]	0,11
24-satni koeficijent kreatinina ( $\mu$ mol/24h/kg)	178 [123 – 196]	160 [113 – 266]	0,87
proteini u 24-satnom urinu (mg/dU)	92 [63 – 134]	95 [30 – 209]	0,83
natrij u 24-satnom urinu (mmol/dU)	121,2 [89,7 – 164]	183 [67,8 – 251,5]	<b>&lt; 0,001</b>
kalij u 24-satnom urinu (mmol/dU)	30,9 [22,8 – 37,9]	63,8 [23,5 – 92,3]	<b>&lt; 0,001</b>
izračunan unos natrija (mg/dnevno)	2736 [2062 – 3770]	4195 [1559 – 5783]	<b>&lt; 0,001</b>
izračunan unos kalija (mg/dnevno)	1208 [891 – 1482]	2497 [919 – 3609]	<b>&lt; 0,001</b>
izračunan unos soli (g/dnevno)	7,09 [5,25 – 9,59]	10,7 [4,0 – 14,7]	<b>&lt; 0,001</b>
molarni omjer natrija i kalija	4 [2,61 – 5,4]	3 [1,3 – 6,6]*	<b>&lt; 0,001</b>

Rezultati su prikazani kao medijan i min. – maks. raspon; P – P vrijednost (Mann-Whitneyjev U test). NT – normotenzivna; HT – hipertenzivna; CRP – C-reaktivni protein; HDL – engl. *high-density lipoprotein*, lipoprotein visoke gustoće; LDL – engl. *low-density lipoprotein*, lipoprotein niske gustoće. [1g salt (NaCl) = 393.4 mg Na = 17.1 mmol Na]

## 5.2. Sastav tijela i tjelesnih tekućina

Sastav tijela i status tjelesnih tekućina ispitanika prikazani su u tablici 5.4. Stopa metabolizma u mirovanju (engl. *resting metabolic rate*, RMR) daje podatak o broju kalorija koje tijelo sagorijeva dok miruje, a značajno je viša u HT skupini (1935 [1456 – 2529] kcal) u usporedbi s NT skupinom (1633 [1425 – 2605] kcal). Masno tkivo (%), plazmatska tekućina (L) i intersticijska tekućine (L) bili su značajno viši u HT skupini u usporedbi s NT skupinom, dok su masa bez masti (%), ukupna tjelesna voda (%) i tjelesna gustoća (kg/L) bile značajno veće u NT skupini u odnosu na HT skupinu. Nije bilo značajnih razlika u udjelu izvanstanične i unutarstanične vode između skupina.

Osim s BMI-jem ( $r = 0,538$ ,  $P < 0,001$ ), RMR je značajno pozitivno korelirao sa SBP-om ( $r = 0,567$ ,  $P < 0,001$ ) i MAP-om ( $r = 0,478$ ,  $P = 0,001$ ). Sistolički i srednji krvni tlak značajno pozitivno koreliraju s masom masnoga tkiva (SBP  $r = 0,381$ ,  $P = 0,017$ ; MAP  $r = 0,324$ ,  $P = 0,047$ ), a negativno koreliraju s masom bez masti (SBP  $r = -0,369$ ,  $P = 0,017$ ; MAP  $r = -0,364$ ,  $P = 0,023$ ). Nije bilo značajne korelacije između DBP-a i izmjerenih parametara sastava tijela i tjelesnih tekućina.

**Tablica 5.4. Sastav tijela i tjelesnih tekućina ispitanika**

Parametar	NT skupina	HT skupina	P
RMR (kcal)	1633 [1425 – 2605]	1935 [1456 – 2529]	<b>0,014</b>
masa bez masti (%)	82,53 [59,68 – 94,64]	72,87 [48,80 – 94,15]	<b>0,003</b>
masno tkivo (%)	17,47 [5,36 – 40,33]	26,48 [5,85 – 42,29]	<b>0,006</b>
ukupna voda u tijelu (%)	63,05 [44,78 – 80,00]	55,58 [40,39 – 75,72]	<b>0,004</b>
izvanstanična voda (%)	42,82 [40,49 – 52,38]	44,72 [39,84 – 52,22]	0,23
unutarstanična voda (%)	57,17 [47,61 – 59,50]	55,27 [47,77 – 60,15]	0,23
plazmatska tekućina (L)	3,34 [2,48 – 5,86]	3,77 [2,88 – 6,07]	<b>0,005</b>
intersticijska tekućina (L)	11,69 [8,68 – 20,51]	13,19 [10,08 – 21,24]	<b>0,005</b>
gustoća tijela (kg/L)	1,06 [0,99 – 1,09]	1,03 [0,99 – 1,09]	<b>0,01</b>

Rezultati su prikazani kao medijan i min. – maks. raspon; P – P vrijednost (Mann-Whitneyjev U test).  
NT – normotenzivna; HT – hipertenzivna; RMR – stopa metabolizma u mirovanju.

### 5.3. Procjena dnevnog unosa hrane

Dnevni unos hrane procijenjen EPIC-Norfolk upitnikom o učestalosti unosa hrane (FFQ) kod normotenzivne i hipertenzivne djece prikazan je u tablici 5.5. Ukupni energetske unos bio je značajno viši u HT skupini (5965 [914 – 7473] kcal) u usporedbi s NT skupinom (2445 [1072 – 3625] kcal). Ispitanici obje skupine konzumirali su manje količine preporučenog prosječnog energetske unosa iz ugljikohidrata (preporučuje se 45 – 65 %) i proteina (preporučuje se 10 – 30 %), dok je energetske unos iz masti bio značajno viši od preporučenih vrijednosti, 25 – 35 %. Nadalje, raspodjela (%) osnovnih izvora energije – ugljikohidrata, bjelancevine i masti – slična je u obje skupine. Ispitanici HT skupine imaju značajno veći dnevni unos žitarica, masti i ulja, mesa i mesnih prerađevina, juha i umaka, šećera i povrća od ispitanika NT skupine. Dnevni unos jaja i jela, ribe i ribljih proizvoda, voća, mlijeka i mliječnih proizvoda sličan je u obje skupine.

**Tablica 5.5. Dnevni unos hrane procijenjen EPIC-Norfolk upitnikom o učestalosti unosa hrane (FFQ)**

	NT skupina	HT skupina	P
ukupni energetske unos (kcal/dnevno)	2445 [1072 – 3625]	5965 [914 – 7473]	< <b>0,001</b>
proteini (% ukupne dnevne energije)	17 %	14 %	0,08
ugljikohidrati (% ukupne dnevne energije)	40 %	42 %	0,08
masti (% ukupne dnevne energije)	43 %	44 %	0,28
žitarice (g/dnevno)	188 [98 – 459]	810 [129 – 1115]	< <b>0,001</b>
jaja (g/dnevno)	32 [18 – 61]	22 [0 – 61]	0,23
masti i ulja (g/dnevno)	29 [12 – 40]	86 [4 – 116]*	< <b>0,001</b>
riba i riblji proizvodi (g/dnevno)	41 [0 – 111]	72 [19 – 96]	0,52
voće (g/dnevno)	143 [83 – 308]	97 [44 – 517]	0,48
meso i mesne prerađevine (g/dnevno)	223 [94 – 457]	514 [52 – 786]	< <b>0,001</b>
mlijeko i mliječni proizvodi (g/dnevno)	213 [11 – 821]	213 [25 – 756]	0,39
juhe i umaci (g/dnevno)	132 [59 – 137]	189 [41 – 246]	< <b>0,001</b>
šećeri (g/dnevno)	94 [13 – 123]	145 [17 – 197]	< <b>0,001</b>
povrće (g/dnevno)	187 [55 – 221]	289 [81 – 464]	< <b>0,001</b>

Rezultati su prikazani kao medijan i min. – maks. raspon; P – P vrijednost (Mann-Whitneyjev U test).

NT – normotenzivna; HT – hipertenzivna; FFQ – upitnik o učestalosti uzimanja hrane (engl. *Food Frequency Questionnaire*).

#### 5.4. Procjena varijabilnosti srčanog ritma

Procjena varijabilnosti srčanog ritma ispitanika prikazana je u tablici 5.6. Između skupina nije postojala statistički značajna razlika ni u jednom od analiziranih parametara procjene varijabilnosti srčanog ritma – ni u analizi parametara vremenskog područja, ni u analizi frekvencijskog raspona.

**Tablica 5.6. Procjena varijabilnosti srčanog ritma ispitanika**

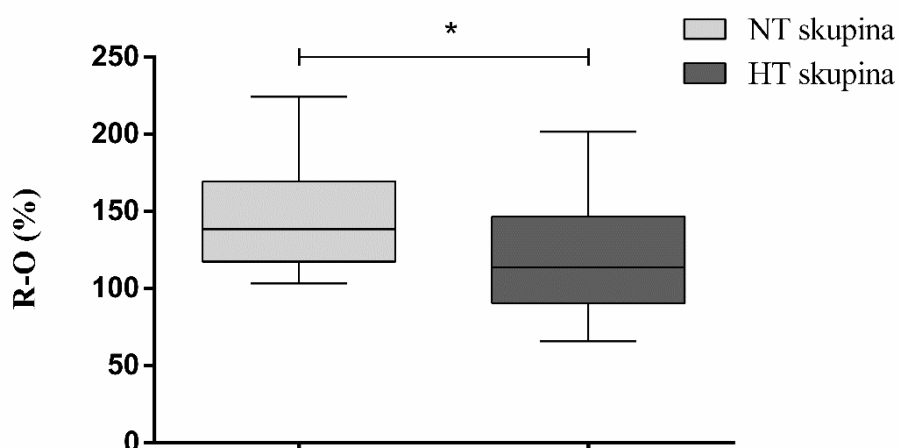
Parametar	NT skupina	HT skupina	P
<b>Analiza vremenskog područja</b>			
prosječna HR (otkucaji/min)	85 [63 – 107]	86 [55 – 110]	0,58
prosječan RR (ms)	765 [513 – 1193]	791 [498 – 1074]	0,76
SDNN (ms)	104 [40 – 355]	123 [23 – 416]	0,49
RMS-SD (ms)	93 [17 – 427]	119 [8 – 529]	0,45
pNN50 (%)	46 [0 – 80]	54 [0 – 87]	0,35
<b>Analiza frekvencijskog raspona</b>			
TP (Ln)	8 [6 – 11]	8 [5 – 11]	0,91
VLF (Ln)	7 [5 – 11]	7 [5 – 10]	0,88
LF (Ln)	7 [5 – 10]	7 [4 – 10]	0,94
HF (Ln)	7 [4 – 10]	7 [2 – 10]	0,65
LF / HF	1,3 [0,4 – 4,1]	1,2 [0,2 – 7,0]	0,79

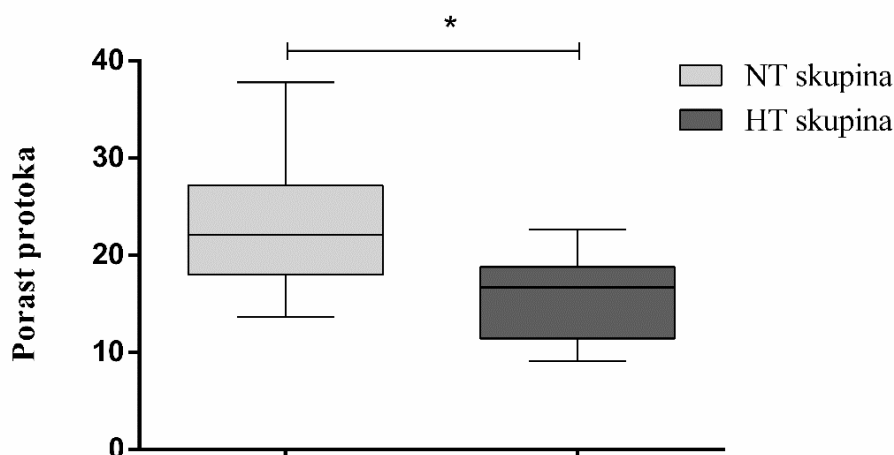
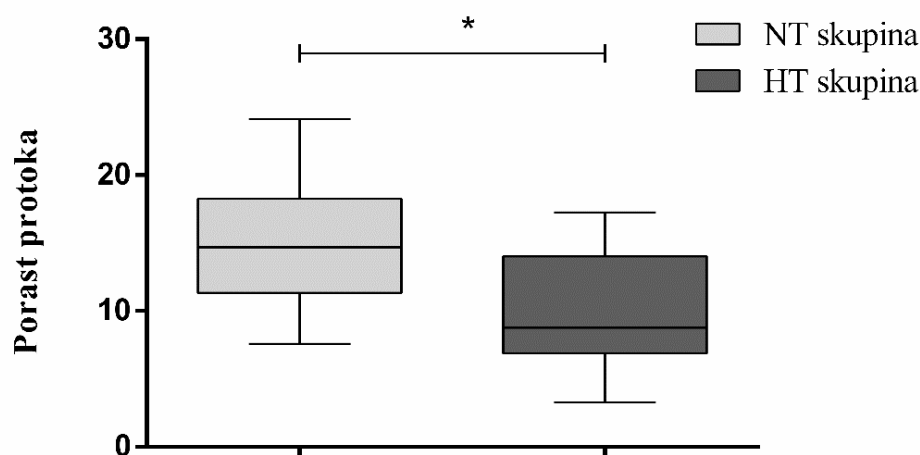
Rezultati su prikazani kao medijan i min. – maks. raspon; P – P vrijednost (Mann-Whitneyjev U test). NT – normotenzivna; HT – hipertenzivna; HR – srčana frekvencija; RR – RR-interval; SDNN – standardna devijacija svih NN intervala; RMS-SD – kvadratni korijen srednje vrijednosti zbroja kvadrata razlika između susjednih NN intervala; pNN50 % - broj NN50 podijeljen s ukupnim brojem svih NN intervala; TP – ukupna snaga; Ln – prirodni logaritam; VLF – snaga u vrlo niskom frekvencijskom području; LF – snaga u niskofrekventnom području; HF – snaga u visokofrekventnom području.

### 5.5. Mikrovaskularna reaktivnost kože podlaktice

Djeca s esencijalnom arterijskom hipertenzijom imaju značajno smanjenu o endotelu ovisnu vazodilataciju kože podlaktice u odgovoru na vaskularnu okluziju (PORH, (R-O (%)) – NT 138,38 [103,14 – 224,39] vs. HT 113,79 [65,81 – 201,61],  $P = 0,007$ ) (slika 5.1.A), iontoforetsku primjenu acetilkolina (AChID porast protoka – NT 22,09 [13,60 – 37,79] vs. HT 16,68 [9,08 – 22,63],  $P < 0,001$ ) (slika 5.1.B) i lokalno zagrijavanje kože (LTH porast protoka – NT 14,69 [7,60 – 24,15] vs. HT 8,77 [3,29 – 17,27],  $P < 0,001$ ) (slika 5.1.C), u odnosu na zdravu normotenzivnu djecu.

#### A Postokluzivna reaktivna hiperemija (PORH)

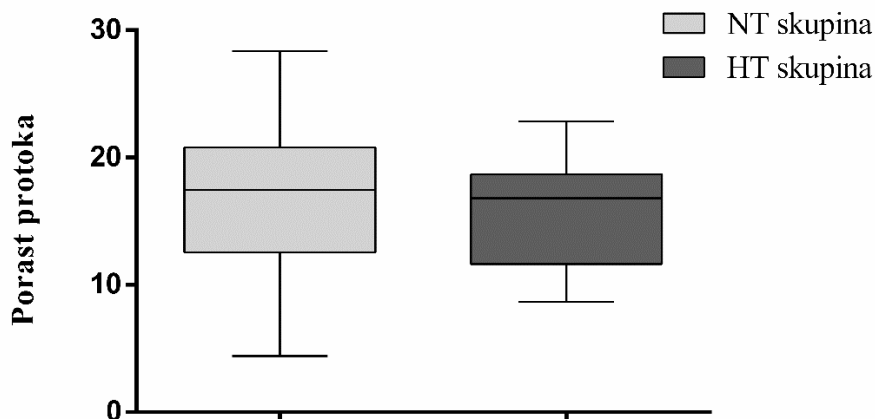


**B Acetilkinom potaknuta dilatacija (AChID)****C Lokalna toplinska hiperemija (LTH)**

**Slika 5.1. Vazodilatacija ovisna o endotelu u mikrocirkulaciji kože podlaktice kod zdrave djece s urednim vrijednostima krvnog tlaka i djece s esencijalnom arterijskom hipertenzijom.** O endotelu ovisna mikrovaskularna vazodilatacija kože podlaktice izmjerena laser-doplerskom tehnikom (LDF) u odgovoru na vaskularnu okluziju (slika 5.1.A), iontoforetsku primjenu acetilkolina (slika 5.1.B) te lokalno zagrijavanje kože (slika 5.1.C) značajno je smanjena kod hipertenzivne djece u odnosu na normotenzivnu. NT skupina – normotenzivna skupina; HT – hipertenzivna skupina. Rezultati su prikazani kao medijan i min. – maks. raspon; \*  $P < 0,05$  HT vs. NT (Mann-Whitneyjev U test).

S druge strane, iontoforetskom primjenom natrijeva nitroprusida izazvala se mikrovaskularna vazodilatacija neovisna o endotelu koja se nije značajno razlikovala između zdrave djece s urednim vrijednostima krvnog tlaka i djece s esencijalnom arterijskom hipertenzijom (SNPID porast protoka – NT 17,47 [4,41 – 28,37] vs. HT 16,81 [8,67 – 22,84],  $P = 0,475$ ) (slika 5.2.).

### Natrij nitroprusidom potaknuta dilatacija (SNPID)



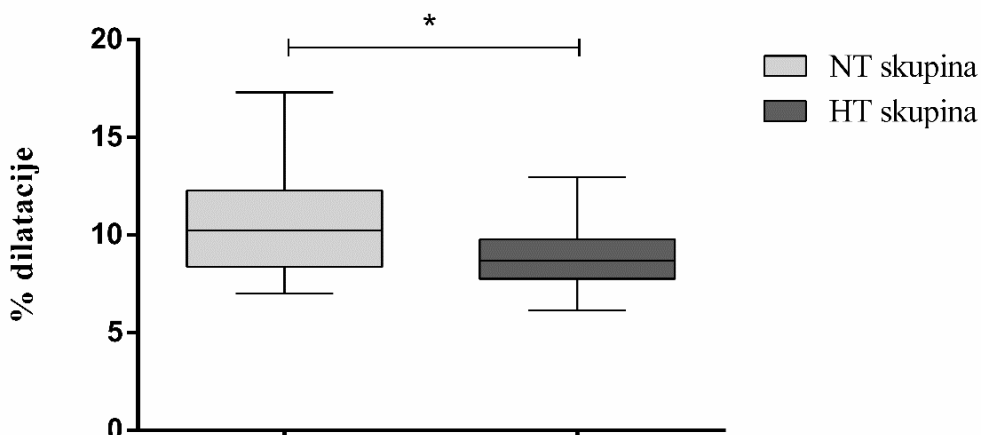
**Slika 5.2. Vazodilatacija neovisna o endotelu u mikrocirkulaciji kože podlaktice kod zdrave djece s urednim vrijednostima krvnog tlaka i djece s esencijalnom arterijskom hipertenzijom.** O endotelu neovisna mikrovaskularna vazodilatacija kože podlaktice izmjerena tehnikom laser-doplera (LDF) u odgovoru na iontoforetsku primjenu natrijeva nitroprusida nije se značajno razlikovala između ispitivanih skupina. NT skupina – normotenzivna skupina; HT – hipertenzivna skupina. Rezultati su prikazani kao medijan i min. – maks. raspon;  $P = 0,475$  NT vs. NT (Mann-Whitneyjev U test).

### 5.6. Makrovaskularna endotelna vazodilatacija

O endotelu ovisna makrovaskularna vazodilatacija procijenjena ultrazvučnim mjerenjem protokom posredovanom dilatacijom brahijalne arterije značajno je smanjena kod djece s esencijalnom arterijskom hipertenzijom u odnosu na zdravu normotenzivnu djecu (FMD % dilatacije NT 10,22 [7,00 – 17,31] vs. HT 8,68 [6,14 – 12,98],  $P = 0,012$ ) (slika 5.3.).



### Protokom posredovana dilatacija (FMD)



**Slika 5.3. Makrovaskularna o endotelu ovisna vazodilatacija brahijalne arterije zdrave djece s urednim vrijednostima krvnog tlaka i djece s esencijalnom arterijskom hipertenzijom.** Protokom posredovana vazodilatacija (FMD) brahijalne arterije smanjena je kod djece s esencijalnom arterijskom hipertenzijom u odnosu na zdravu normotenzivnu djecu. NT skupina – normotenzivna skupina; HT – hipertenzivna skupina. Rezultati su prikazani kao medijan i min. – maks. raspon; \* P = 0,012 NT vs. HT (Mann-Whitneyjev U test).

#### 5.7. Procjena moždane cirkulacije kod zdravih ispitanika i oboljelih od esencijalne arterijske hipertenzije

Značajne su razlike u početnoj brzini protoka u ACM desno (71[51 – 87] cm/s) i lijevo (83[74 – 104] cm/s) u kontrolnoj skupini normotenzivnih ispitanika, kojima je brzina značajno veća na lijevoj strani, dok se kod oboljelih od esencijalne arterijske hipertenzije brzine protoka u ACM nisu razlikovale između desne (81 [67 – 115] cm/s) i lijeve (80 [56 – 91] cm/s) strane. Brzine protoka u ACM desno (NT 71[51 – 87] vs. HT 81 [67 – 115] cm/s) i AB (NT 54 [41 – 62] vs. HT 60 [34 – 70] cm/s) značajno su više u skupini oboljelih arterijske hipertenzije, dok se brzine protoka u ACM lijevo ne razlikuju između ispitivanih skupina (NT 83[74 – 104] vs. HT 80[56 – 91] cm/s).

Debljina intima-medije desne zajedničke karotidne arterije značajno je veća kod hipertenzivnih ispitanika u odnosu na normotenzivne (HT 0,51 [0,41 – 0,57] vs. NT 0,41 [0,32 – 0,57] mm). Nadalje, debljina intima-medije desne karotidne arterije značajno pozitivno korelira s protokom u ACM desno ( $r = 0,394$ ,  $P = 0,007$ ) te u BA ( $r = 0,522$ ,  $R < 0,001$ ).

Rezultati procjene moždane cirkulacije kod zdravih ispitanika i oboljelih od esencijalne arterijske hipertenzije prikazani su u tablici 5.7.

**Tablica 5.7. Procjena moždane hemodinamike ispitanika**

<b>Parametar</b>	<b>NT</b>	<b>HT</b>	<b>P</b>
brzina ACM desno (cm/s)	71 [51 – 87]	81 [67 – 115]	< <b>0,001</b>
brzina ACM lijevo (cm/s)	83 [74 – 104]	80 [56 – 91]	0,35
brzina AB (cm/s)	54 [41 – 62]	60 [34 – 70]	< <b>0,001</b>
RI ACM desno	0,51 [0,34 – 0,61]	0,52 [0,46 – 0,60]	0,46
RI ACM lijevo	0,55 [0,38 – 0,58]	0,52 [0,46 – 0,61]	0,77
RI AB	0,50 [0,38 – 0,59]	0,50 [0,39 – 0,58]	0,86
cIMT (mm) desno	0,41 [0,32 – 0,57]	0,51 [0,41 – 0,57]	< <b>0,001</b>
<b>Korelacije</b>			
		cIMT (mm) desno	
ACM desno (cm/s)	r	0,394	
	P	<b>0,007</b>	
AB (cm/s)	r	0,522	
	P	< <b>0,001</b>	

Rezultati su prikazani kao medijan i min. – maks. raspon; P – P vrijednost (Mann-Whitneyjev U test / Spearmanov test korelacije).

NT – normotenzivna; HT – hipertenzivna; ACM – srednja moždana arterija (lat. *arteria cerebri media*); AB – bazilarna arterija (lat. *arteria basilaris*); cIMT – debljina intima-medije zajedničke karotidne arterije (engl. *intima-media thickness*); RI – indeks otpora.

Analizirana je povezanost cIMT te brzine protoka kroz desnu ACM sa sistoličkim, dijastoličkim i srednjim arterijskim tlakom. cIMT je u značajnoj pozitivnoj korelaciji sa SBP-om ( $r = 0,695$ ,  $P > 0,001$ ), s DBP-om ( $r = 0,432$ ;  $P = 0,002$ ) te s MAP-om ( $r = 0,647$ ,  $P < 0,001$ ). Postoji značajna pozitivna korelacija između brzina protoka kroz desnu ACM i SBP ( $r = 0,581$ ,  $P < 0,001$ ) te MAP ( $r = 0,414$ ,  $P = 0,004$ ).

### 5.8. Serumski biomarkeri oksidacijskog stresa i antioksidacijske obrane te biljega endotelne aktivacije

Serumske vrijednosti biomarkera oksidacijskog stresa (TBARS i 8-izo-PGF2 $\alpha$ ), antioksidacijskog kapaciteta (FRAP) te biljega endotelne aktivacije endokana prikazane su u tablici 5.8. Između skupina nije bilo statistički značajnih razlika u serumskim razinama TBARS (markera peroksidacije lipida) i FRAP (marker antioksidacijske obrane), dok je serumska koncentracija 8-izo-PGF2 $\alpha$  (marker oksidacijskog stresa) bila značajno povećana u djece s esencijalnom arterijskom hipertenzijom (288,73 [206,10 – 359,02] pg/mL) u odnosu na zdravu normotenzivnu djecu (196,35 [60,36 – 302,34] pg/mL). Serumske koncentracije endokana, biljega endotelne aktivacije, nisu se razlikovale između ispitivanih skupina.

**Tablica 5.8. Serumske vrijednosti biomarkera oksidacijskog stresa (TBARS i 8-izo-PGF2 $\alpha$ ), antioksidacijskog kapaciteta (FRAP) i biljega endotelne aktivacije (endokana)**

Parametar (pg/mL)	NT	HT	P
Biomarkeri oksidacijskog stresa			
TBARS ( $\mu$ M/MDA)	0,25 [0,10 – 0,37]	0,28 [0,11 – 0,39]	0,33
8-izo-PGF2 $\alpha$ (pg/mL)	196,35 [60,36 – 302,34]	288,73 [206,10 – 359,02]	<b>&lt; 0,001</b>
Biomarker antioksidacijskog kapaciteta			
FRAP (mM/L TE)	0,21 [0,18 – 0,25]	0,22 [0,18 – 0,25]	0,141
Biljeg endotelne aktivacije			
endokan	254,73 [133,8 – 322,9]	201,1 [115,6 – 359,3]	0,147

Rezultati su prikazani kao medijan i min. – maks. raspon; P – P vrijednost (Mann-Whitneyjev U test). N – broj ispitanika; NT – normotenzivna; HT – hipertenzivna; TBARS – reaktivne tvari tiobarbituratne kiseline (engl. *Thiobarbituric Acid Reactive Substances*); FRAP – sposobnost plazme za redukciju željeza (engl. *Ferric-Reducing Ability of Plasma*); 8-izo-PGF2 $\alpha$  - 8-izo Prostaglandin F2 $\alpha$ .

### 5.9. Povezanost između krvnog tlaka i endotelnog mikro- i makrovaskularnog odgovora te biomarkera oksidacijskog stresa 8-izo PGF2 $\alpha$

Povezanost sistoličkog, dijastoličkog i srednjeg krvnog tlaka s endotelnim mikro-/makrovaskularnim odgovorom i serumskim markerom oksidacijskog stresa 8-izo PGF2 $\alpha$

prikazane su u tablici 5.9. Sistolički i srednji krvni tlak u značajnoj su negativnoj korelaciji sa svim izmjerenim o endotelnu ovisnim mikro- i makrovaskularnim odgovorima: mikrovaskularnim endotelnim odgovorom kože podlaktice na vaskularnu okluziju (PORH, SBP  $r = -0,304$ ,  $P = 0,0338$ ; MAP  $r = -0,314$ ,  $P = 0,028$ ), iontoforetsku primjenu ACh (AChID, SBP  $r = -0,568$ ,  $P < 0,001$ ; MAP  $r = -0,556$ ,  $P < 0,001$ ), lokalno zagrijavanje kože (LTH, SBP  $r = -0,392$ ,  $P = 0,005$ ; MAP  $r = -0,352$ ,  $P = 0,013$ ) i makrovaskularnim endotelnim odgovorom brahijalne arterije na povećanje protoka (FMD, SBP  $r = -0,308$ ,  $P = 0,039$ ; MAP  $r = -0,276$ ,  $P = 0,048$ ). Sistolički i srednji krvni tlak također su pozitivno korelirali s 8-izo PGF2 $\alpha$  (SBP  $r = 0,556$ ,  $P < 0,001$ ; MAP  $r = 0,499$ ,  $P = 0,001$ ).

**Tablica 5.9. Povezanost sistoličkog, dijastoličkog i srednjeg arterijskog tlaka s endotelnim mikro- i makrovaskularnim odgovorom i biomarkerom oksidacijskog stresa 8-izo PGF2 $\alpha$**

		SBP	DBP	MAP
PORH (R-O(%))	r	-0,304	-0,220	-0,314
	P	<b>0,034</b>	0,128	<b>0,028</b>
AChID (porast protoka)	r	-0,568	-0,429	-0,556
	P	<b>&lt; 0,001</b>	<b>0,003</b>	<b>&lt; 0,001</b>
LTH (porast protoka)	r	-0,392	-0,164	-0,352
	P	<b>0,005</b>	0,258	<b>0,013</b>
FMD (% dilatacije)	r	-0,308	-0,278	-0,276
	P	<b>0,039</b>	0,064	<b>0,048</b>
8-izo PGF2 $\alpha$ (pg/mL)	r	0,556	0,267	0,499
	P	<b>&lt; 0,001</b>	0,099	<b>0,001</b>

r – koeficijent korelacije; P – P vrijednost (Spearmanov test korelacije); AChID – acetilkolinom inducirana dilatacija; LTH – lokalna toplinska hiperemija; FMD – protokom posredovana dilatacija; SBP – sistolički krvni tlak; DBP – dijastolički krvni tlak; MAP – srednji arterijski tlak; PORH – poslijeokluzivna reaktivna hiperemija; 8-izo-PGF2 $\alpha$  - 8-iso Prostaglandin F2 $\alpha$

Nadalje, analizirali smo i odnos između biomarkera oksidacijskog stresa 8-izo PGF2 $\alpha$  s endotelnim mikro- i makrovaskularnim odgovorom te pronašli negativnu korelaciju između 8-izo PGF2 $\alpha$  i PORH ( $r = -0,48$ ,  $P = 0,003$ ), AChID ( $r = -0,409$ ,  $P = 0,016$ ) i LTH ( $r = -0,515$ ,  $P = 0,001$ ). Rezultati su prikazani u tablici 5.10.

**Tablica 5.10. Povezanost biomarkera oksidacijskog stresa 8-izo PGF2 $\alpha$  s endotelnim mikro- i makrovaskularnim odgovorom**

		8-izo PGF2 $\alpha$
PORH (R-O(%))	r	-0,48
	P	<b>0,003</b>
AChID (porast protoka)	r	-0,409
	P	<b>0,016</b>
LTH (porast protoka)	r	-0,515
	P	<b>0,001</b>
FMD (% dilatacije)	r	-0,014
	P	0,939

r – koeficijent korelacije; P – P vrijednost (Spearmanov test korelacije); AChID – acetilkolinom inducirana dilatacija; LTH – lokalna toplinska hiperemija; FMD – protokom posredovana dilatacija; 8-izo-PGF2 $\alpha$  - 8-iso Prostaglandin F2 $\alpha$

Analizirali smo i odnos između krvnog tlaka i markera upale (CRP, fibrinogen i feritin). Postojale su značajne pozitivne korelacije između CRP-a i SBP-a ( $r = 0,798$ ,  $P < 0,001$ ), DBP-a ( $r = 0,426$ ,  $P = 0,001$ ) i MAP-a ( $r = 0,689$ ,  $P < 0,001$ ). Fibrinogen također značajno pozitivno korelira sa SBP-om ( $r = 0,763$ ,  $P < 0,001$ ), DBP-om ( $r = 0,464$ ,  $P < 0,001$ ) i MAP-om ( $r = 0,651$ ,  $P < 0,001$ ), kao i feritin (SBP  $r = 0,723$ ,  $P < 0,001$ ; DBP  $r = 0,366$ ,  $P = 0,008$ ; MAP  $r = 0,619$ ,  $P < 0,001$ ). Rezultati su prikazani u tablici 5.11.

**Tablica 5.11. Povezanost sistoličkog, dijastoličkog i srednjeg arterijskog tlaka s markerima upale**

		SBP	DBP	MAP
CRP (mg/L)	r	0,798	0,426	0,689
	P	<b>&lt; 0,001</b>	<b>0,001</b>	<b>&lt; 0,001</b>
fibrinogen (g/L)	r	0,763	0,464	0,651
	P	<b>&lt; 0,001</b>	<b>&lt; 0,001</b>	<b>&lt; 0,001</b>
feritin ( $\mu$ g/L)	r	0,723	0,366	0,619
	P	<b>&lt; 0,001</b>	<b>0,008</b>	<b>&lt; 0,001</b>

r – koeficijent korelacije; P – P vrijednost (Spearmanov test korelacije); SBP – sistolički krvni tlak; DBP – dijastolički krvni tlak; MAP – srednji arterijski tlak; CRP – C-reaktivni protein

## 6. RASPRAVA

Glavni je zaključak ovog istraživanja da esencijalna arterijska hipertenzija kod djece i adolescenata izaziva oštećenje endotelne vazodilatacije i u perifernoj mikrocirkulaciji i u sustavnim provodnim arterijama (brahijalna arterija), neovisno o dobi, spolu i BMI-ju. Štoviše, vrijednosti arterijskog tlaka bile su negativno povezane i s mikrovaskularnim endotelnim odgovorom na PORH, ACh i LTH i s FMD brahijalne arterije što je još jednom potvrdilo nepovoljan utjecaj esencijalne arterijske hipertenzije na funkcionalni endotelni odgovor kod djece i adolescenata. Povišena razina vaskularnog oksidacijskog stresa nameće se kao glavni uzrok tog nepovoljnog utjecaja esencijalne arterijske hipertenzije na endotelnu funkciju kod djece i adolescenata.

### 6.1. Povezanost pretilosti, unosa soli te prehrambenih navika s arterijskom hipertenzijom u pedijatrijskoj populaciji

Svijest o tome da arterijska hipertenzija može biti prisutna i kod naizgled zdrave djece te da hipertenzija u odraslih može imati korijene u djetinjstvu potaknula je interes i pokazala potrebu uključivanja mjerenja BP-a u medicinsku skrb djece i adolescenata. Osim toga, s pomoću razvijenih specifičnih metoda za evaluaciju vaskularnog zdravlja, dobiveni su jasni dokazi o povezanosti BP-a i razvoja subkliničkih oštećenja ciljnih organa [131]. Također smo svjesni da je prevalencija hipertenzija u porastu kao posljedica epidemije pretilosti koja je postala značajan javnozdravstveni problem. Rano otkrivanje korijena arterijske hipertenzije ključno je za ranu provedbu intervencija usmjerenih na smanjenje povišenog BP-a i njegova naknadnog utjecaja na KV morbiditet i mortalitet u odrasloj dobi. Prevalencija primarne hipertenzije u adolescenata (osobito u dvadesetim godinama života) uvelike je slična onoj u odraslih koja u Hrvatskoj iznosi 37,5 % [132]. Na pojavu hipertenzije treba obratiti pozornost u mnogo ranijoj dobi od 18 godina. S druge strane, svjedoci smo globalne pandemije pretilosti i visoke prevalencije pretilosti među djecom u Hrvatskoj [75] te je epidemija pretilosti u dječjoj dobi dovela do povećane prevalencije arterijske hipertenzije i njezinih posljedica na djecu i adolescente [133].

Malo je dostupnih podataka o unosu natrija/soli u djece i adolescenata, a postojeći podatci uglavnom se odnose na razvijene zemlje [134]. U ovom istraživanju procijenjen je dnevni unos natrija/soli te njegova povezanost s tjelesnom masom i krvnim tlakom u djece i adolescenata s pomoću podataka dobivenih analizom 24-satnog urina, uključujući i djecu s esencijalnom arterijskom hipertenzijom. Rezultati su istraživanja pokazali da je prosječan dnevni unos natrija, odnosno soli u djece i adolescenata značajno viši od preporučenih vrijednosti [58].

Rezultati ovog istraživanja pokazali su da je dnevni unos natrija u zdrave normotenzivne djece bio 2736 [2062 – 3770] mg/dan što je u skladu s ranije objavljenim izvještajima o prosječnom dnevnom unosu natrija među djecom u Europi koji iznosi između 2400 i 3000 mg/dan [72, 135, 136]. U djece s hipertenzijom procijenjeni dnevni unos natrija iznosio je 4195 [1559 – 5783] mg/dan što je značajno više nego u normotenzivne djece. Dobiveni su podaci svakako zabrinjavajući jer je dobro poznato da je visok unos natrija čimbenik rizika za povišeni krvni tlak, odnosno razvoj hipertenzije kod odraslih [137, 138], a osim toga, jasno je utvrđena pozitivna povezanost između unosa natrija i krvnog tlaka u djetinjstvu [55, 139, 140]. Preporučeni dnevni unos soli u organizam ovisi o dobi djeteta te za djecu u dobi od 7 do 13 godina iznosi 3,6 grama, a za adolescente u dobi od 14 do 18 godina 4 grama soli na dan [58]. U ovom istraživanju procijenjeni dnevni unos soli iznosio je 7,09 [5,25 – 9,59] g/dan za normotenzivnu djecu i 10,7 [4,0 – 14,7] g/dan za djecu s esencijalnom arterijskom hipertenzijom što pokazuje da obje skupine djece konzumiraju značajno više soli nego što su preporuke Svjetske zdravstvene organizacije. Nadalje, procijenjeni dnevni unos soli značajno je pozitivno korelirao sa sistoličkim, dijastoličkim i srednjim arterijskim tlakom što je u skladu s prethodno objavljenim rezultatima eksperimentalnih i opservacijskih studija [55, 135, 141, 142]. Stoga bi redukcija unosa soli u dječjoj prehrani mogla predstavljati važan korak u prevenciji arterijske hipertenzije.

Prekomjerman unos soli globalni je problem prisutan u cijelom svijetu, pa tako i u Hrvatskoj [61]. Istraživanje o prehranbenim navikama djece pokazalo je da školska djeca iz istočne Hrvatske imaju loše prehranbene navike što uključuje svakodnevno jedenje pekarskih proizvoda (51,6 % djece), a čime je povećan unos dodatne soli [143]. Iako je dokazano da je unos soli u djece i dvostruko viši od preporučenih vrijednosti [144–148], treba napomenuti da se preporuke za konzumaciju soli u djece temelje na ekstrapolaciji rezultata dobivenih za odrasle. Štoviše, nema razlika između preporuka za zdravu djecu i djecu oboljelu od arterijske hipertenzije [149].

Uz visoku prevalenciju hipertenzije u djece [41], pretilost je također postala značajan medicinski i javnozdravstveni izazov diljem svijeta. Čak i među djecom postoji povećana učestalost prekomjerne težine odnosno pretilosti i s njima povezanih metaboličkih komplikacija [150, 151]. Dobro je poznato da se vrijednosti krvnog tlaka pomiču prema višim razinama kako se tjelesna masa povećava [152]. Pretilost je povezana s visokom učestalošću KV čimbenika rizika, uključujući hipertenziju, a kod adolescenata s prekomjernom tjelesnom masom postoji pozitivna korelacija između BMI-ja i vrijednosti arterijskog krvnog tlaka [153]. Važno je napomenuti da je visok unos natrija, odnosno soli povezan s prekomjernom tjelesnom masom

i pretilošću kod djece i mladih [154, 155]. Budući da se krvni tlak mijenja od djetinjstva do odrasle dobi, smatra se da bi smanjeni unos soli u ranom djetinjstvu mogao dovesti do nižih vrijednosti krvnog tlaka i tako spriječiti pojavu hipertenzije kasnije u životu.

Povezanost prekomjerne tjelesne mase/pretilosti i esencijalne hipertenzije potvrđena je i u ovom istraživanju. Naime, procijenjeni dnevni unos soli značajno je pozitivno korelirao s BMI-jem koji je bio značajno viših vrijednosti u hipertenzivne djece u usporedbi s normotenzivnom zdravom djecom. Osim toga, rezultati ovog istraživanja pokazuju da hipertenzivna djeca većinom imaju prekomjernu tjelesnu masu ili su pretila, dok su normotenzivna djeca uglavnom normalne tjelesne mase što je u skladu s ranijim studijama [156, 157].

Nadalje, studije su pokazale da je sastav tijela značajno povezan s različitim zdravstvenim ishodima [158, 159], a ovo je istraživanje potvrdilo postojanje razlika u parametrima sastava tijela hipertenzivne djece i zdrave normotenzivne djece. Naime, hipertenzivna djeca imala su značajno veći udio masti u odnosu na normotenzivnu djecu, dok je udio bezmasne mase kod njih bio značajno manji u odnosu na normotenzivnu djecu. Osim toga, SBP i MAP značajno pozitivno koreliraju s masnom masom što je u skladu s drugim studijama [158, 160, 161]. Rezultati ove studije upućuju na to da tjelesni sastav ima značajnu ulogu u etiologiji bolesti te je također mogući dodatni parametar za praćenje poboljšanja liječenja.

Osim dobro znanog štetnog učinka povećanog unosa kuhinjske soli, neadekvatan unos kalija također ima štetan učinak na arterijski krvni tlak [162, 163], a molarni omjer koncentracije Na i K u 24-satnom urinu smatra se pouzdanijim prediktorom KV rizika od izolirane procjene unosa samo natrija ili kalija [164]. Ciljni Na/K omjer još je uvijek predmet rasprave, ali omjer manji od 1,0 predložen je kao najbolja ravnoteža njihova unosa u prevenciji KV bolesti [165]. Budući da se prehrambene navike stječu rano tijekom djetinjstva [166], uključujući i sklonost prema hrani koja je bogata solju [167], edukacija je o važnosti prehrane s malo unosa soli i dovoljnog unosa kalija tijekom djetinjstva nužna. Odgovarajuća dnevna konzumacija Na i K predstavlja stil života koji se preporučuje u prevenciji i liječenju arterijske hipertenzije i CV bolesti [168].

Za djecu je preporučena dnevni unos osnovnih makronutrijenata za ugljikohidrate, bjelančevine i masti 45 – 65 %, 10 – 30 % i 25 – 35 % [169]. Ovo je istraživanje pokazalo da je unos ugljikohidrata, bjelančevina i masti (izražen u postotku) bio sličan u djece s normalnim i povišenim krvnim tlakom, odnosno hipertenzijom. Nadalje, obje skupine unosile su proteine unutar preporučenog intervala (NT 17 %, HT 14 %), dok je unos ugljikohidrata bio nešto niži



od preporučenih vrijednosti (NT 40 %, HT 42 %). S druge strane, normotenzivna i hipertenzivna djeca konzumirala su masnoće iznad gornje granice te je u objema skupinama bio povećan prosječan unos kalorija u usporedbi s preporukama. Zanimljivo je, ali i zabrinjavajuće, usporediti stopu metabolizma u mirovanju s podatkom o unosu energije dobivenim putem upitnika o prehrani. Naime, prijavljeni energetske unos za NT skupinu bio je 2445 [1072 – 3625] kcal, dok je stopa metabolizma u mirovanju bila 1633 [1425 – 2605] kcal. Za skupinu HT prijavljeni energetske unos bio je 5965 [914 – 7473] kcal, dok je stopa metabolizma u mirovanju iznosila 1935 [1456 – 2529] kcal što je vrlo zabrinjavajuće. Stopa metabolizma u mirovanju predstavlja značajnu komponentu ukupne potrošnje energije koja doprinosi 65 – 75 % ukupnih dnevnih energetskih potreba [170]. Hipertenzija je povezana s povećanom stopom brzine metabolizma u mirovanju [171 – 173] što je potvrđeno i rezultatima ovog istraživanja. Uzimajući to u obzir, a i vrijednosti BMI-ja kao dokaz, možemo zaključiti da hipertenzivna djeca unose znatno više kalorija nego što bi trebala, a što svakako značajno utječe na njihovo zdravstveno stanje.

Dok je prekomjeran unos Na u svakodnevnoj prehrani povezan s povišenim krvnim tlakom, njegov manji unos povezan je s nižim krvnim tlakom u djece [73]. Povećan unos kalija također je povezan s krvnim tlakom i ima povoljan učinak na vrijednosti krvnog tlaka u odraslih, dok kod djece ti podatci nisu u potpunosti usuglašeni. Presječna studija zdrave školske djece iz sjeverne Grčke u dobi od 7 do 15 godina izvijestila je o pozitivnoj povezanosti između sistoličkog krvnog tlaka i unosa kalija [174]. S druge strane, longitudinalna studija u kojoj je prikupljan 24-satni urin tijekom razdoblja praćenja od sedam godina pokazala je da je povećan unos kalija bio povezan s nižim vrijednostima sistoličkog krvnog tlaka [175]. S druge strane, metaanaliza randomiziranih kontroliranih studija i kohortnih studija otkrila je da nema značajnije povezanosti između većeg unosa kalija i nižih vrijednosti sistoličkog krvnog tlaka [176]. Pokušavajući razjasniti bar dio ovog pitanja, u ovom istraživanju također je procijenjeno 24-satno izlučivanje kalija urinom te njegov dnevni unos. Prosječno izlučivanje kalija u djece s normalnim krvnim tlakom bilo je 30,9 [22,8 – 37,9] mmol/dU, a 63,8 [23,5 – 92,3] u hipertenzivne djece, stoga je i procijenjeni dnevni unos kalija bio značajno veći u djece s esencijalnom arterijskom hipertenzijom (2497 [919 – 3609] mg) u usporedbi s normotenzivnom djecom (1208 [891 – 1482] mg). Kao rezultat povećanog unosa natrija, ali i povećanog unosa kalija, u hipertenzivne je djece srednji molarni 24-satni omjer Na/K u urinu bio niži (3 [1,3 – 6,6]) u usporedbi s normotenzivnom (4 [2,61 – 5,4]) djecom. I druge zemlje u Europi nisu uspjele postići preporučeni omjer Na/K, pa tako studije iz Francuske i Španjolske izvješćuju da

prosječan omjer Na/K u djece iznosi 3,6, odnosno 1,64 [177, 178]. S druge strane, prosječni je omjer Na/K u djece u zemljama SAD-a 1,03 [139], a nizak unos natrija i kalija zabilježen je također u djece u ruralnoj južnoj Africi [179]. Dickinson i sur. [180] zaključili su da dokazi o blagotvornom učinku dodatka kalija na krvni tlak nisu uvjerljivi te su potrebna visokokvalitetna kontrolirana ispitivanja kako bi se utvrdila povezanost između povećanog unosa kalija i sniženja krvnog tlaka te boljih zdravstvenih ishoda. Međutim, s obzirom na prehrane navike naših sudionika, rezultati naše studije nisu toliko neočekivani. Iako je prijavljeni energetska unos premašio preporučene vrijednosti [181] za obje skupine ispitanika, rezultati dnevnog unosa hranom, procijenjeni s pomoću FFQ-a, pokazuju da su hipertenzivna djeca konzumirala znatno više kalorija i općenito su količinski unosila više hrane od normotenzivne djece. Osim što su unosili velike količine natrija, imali su i visok unos kalija.

Sveukupno gledano, treba istaknuti da prehrana ima značajan utjecaj na razvoj visokog krvnog tlaka i arterijske hipertenzije kod djece te kako nezdrava prehrana bogata solju, zasićenim mastima, šećerima i siromašna hranjivim tvarima može imati značajan doprinos u razvoju hipertenzije. Stoga je smanjenje unosa soli kod djece jedna od važnijih strategija u prevenciji povišenog krvnog tlaka. Svakako je nužna edukacija djece, roditelja i skrbnika o zdravoj prehrani i važnosti smanjenja unosa soli. Promjene u prehrani mogu imati ključnu ulogu u prevenciji i upravljanju arterijskom hipertenzijom kod djece i prevencija KV bolesti trebala bi biti usmjerena na rano djetinjstvo i uključivati mjere za prevenciju prekomjerne težine/pretilosti i manji unos soli u djetinjstvu. Stoga se uspostavljanje zdravih prehranbenih navika u djetinjstvu smatra važnim korakom u prevenciji arterijske hipertenzije i s njom povezanih posljedica.

## **6.2. Učinci juvenilne esencijalne arterijske hipertenzije na mikro- i makrovaskularnu funkciju te moždanu hemodinamiku**

Endotelna disfunkcija stanje je obilježeno poremećajem vazodilatacijske sposobnosti ovisne o endotelu koji se javlja istodobno uz prokoagulantni i upalni fenotip arterijskih struktura. Disfunkcionalan endotel predstavlja poveznicu rizičnih čimbenika i KV bolesti, a uključen je i u progresiju većine KV bolesti. Kako je ED reverzibilan poremećaj sa značajnim prognostičkim kapacitetom, sve su brojniji dokazi koji upućuju na potrebu ranog otkrivanja postojanja ED-a te za uključivanjem procjene endotelne funkcije u rutinsku praksu [1].

Mikrovaskularna disfunkcija prepoznata je kao ključni događaj u razvoju i napredovanju arterijske hipertenzije te je povezana s povećanom smrtnošću KV bolesti [182]. Mjerenje

vaskularnog odgovora u mikrocirkulaciji važno je jer upućuje na vjerojatnost razvoja oštećenja i zatajenja ciljnih organa. Oslabljena mikrovaskularna funkcija često je praćena i oslabljenim endotelnim odgovorom u makrocirkulaciji, vjerojatno zbog generaliziranog vaskularnog oštećenja, a uz značajan doprinos oksidacijskog stresa i upale [182]. Ovo je istraživanje pokazalo da je endotelni odgovor mikrocirkulacije kože podlaktice na različite fiziološke podražaje – PORH, ACh i LTH – značajno oslabljen kod hipertenzivne djece u usporedbi s normotenzivnom djecom (slika 5.1.), dok nije bilo razlike između skupina u relaksaciji neovisnoj o endotelu (slika 5.2.). Upravo taj rezultat upućuje na to da je funkcija endotela, ali ne i funkcija vaskularnog glatkog mišićja, selektivno oštećena u djece oboljele od esencijalne arterijske hipertenzije. Taj potvrđeni oslabljeni mikrovaskularni endotelni odgovor i u ovom je slučaju praćen i oslabljenim endotelnim odgovorom u sustavnoj makrocirkulaciji. Nadalje, FMD brahijalne arterije značajno je oslabljen u hipertenzivne djece u usporedbi s normotenzivnom djecom (slika 5.3.) što upućuje na generaliziranu vaskularnu promjenu kod hipertenzije. Prethodne su studije pokazale da je hipertenzija u odrasloj dobi povezana s neodgovarajućim vazodilatacijskim endotelnim odgovorom koronarnih arterija te bubrežnih arterija [183, 184], a Panza i sur. pokazali su oslabljen endotelni odgovor brahijalne arterije na primjenu ACh u odraslih oboljelih od esencijalne arterijske hipertenzije, dok je odgovor na SNP bio očuvan [185]. Farkas i sur. [98] potvrdili su postojanje disfunkcijskog mikrovaskularnog endotelnog odgovora izazvanog iontoforetskom primjenom ACh te u odgovoru na vaskularnu okluziju u bolesnika s esencijalnom arterijskom hipertenzijom u usporedbi s normotenzivnim ispitanicima. Iako su provedena na odrasloj populaciji, rezultati tih studija u skladu su s rezultatima ovog istraživanja esencijalne arterijske hipertenzije u djece i adolescenata. Još uvijek nedostaju studije o funkciji endotela u mikrocirkulaciji kod djece oboljele od arterijske hipertenzije te procesi razvoja i progresije hipertenzije nisu u potpunosti razjašnjeni. Bez obzira na raspravu o otvorenom pitanju je li endotelna disfunkcija uzrok ili posljedica arterijske hipertenzije [186, 187], poboljšanje endotelne funkcije svakako može predstavljati atraktivan, ali i obećavajući terapijski cilj u bliskoj budućnosti.

Smanjena bioraspoloživost NO-a, središnjeg posrednika patoloških mehanizama koji dovode do endotelne disfunkcije, smatra se njezinim glavnim obilježjem [188]. FMD mjeri vazorelaksaciju posredovanu putem NO-a a koja nastaje u odgovoru na povećan protok krvi nakon razdoblja okluzije podlaktice [19, 91]. U prisutnosti endotelne disfunkcije vazodilatacijski je endotelni odgovor smanjen, a studije jasno pokazuju oslabljen FMD brahijalne arterije u nekomplikiranih odraslih hipertenzivnih bolesnika te u odraslih i djece s

prisutnim KV čimbenicima rizika [18, 108, 189 – 191]. Rezultati ovog istraživanja u skladu su s navedenim – djeca su oboljela od esencijalne arterijske hipertenzije, osim oslabljene mikrovaskularne endotelne funkcije, također imala značajno smanjenu o endotelu ovisnu protokom posredovanu dilataciju brahijalne arterije (slika 5.3.). Budući da bolesnici sa smanjenim FMD odgovorom imaju povećan rizik od razvoja subkliničkog oštećenja ciljnih organa [192], rano otkrivanje prvih manifestacija endotelne disfunkcije vrlo je važno, osobito kod već perzistentne arterijske hipertenzije.

U ovom je istraživanju procijenjena i specifično NO posredovana o endotelu ovisna vazodilatacija u mikrocirkulaciji, i to LDF mjerenjem mikrovaskularnog odgovora na lokalno toplinsko zagrijavanje (LTH) kože, no i dilatacija u odgovoru na PORH i ACh ima komponentu ovisnu o NO-u. Oslabljen endotelni vazodilatacijski odgovor u makro- i mikrocirkulaciji kod djece s hipertenzijom može biti uzrokovan smanjenom proizvodnjom NO-a ili njegovom smanjenom bioraspoloživošću. Iako postoji nekoliko mehanizama s pomoću kojih hipertenzija slabi endotelnu funkciju [193], postoje brojni dokazi da je smanjena bioraspoloživosti NO-a zbog pojačanog stvaranja reaktivnih kisikovih spojeva važan korak u patogenezi endotelne disfunkcije u različitim stanjima [194, 195], uključujući hipertenziju [196]. Túri i sur. [197] izvijestili su o povišenoj razini oksidacijskog stresa u djece s hipertenzijom dobivenoj mjerenjem razine nitrita u plazmi, krajnjih proizvoda lipidne peroksidacije i redoks statusa glutationa crvenih krvnih stanica. U ovom je istraživanju 8-izo PGF $2\alpha$ , metabolit neenzimske oksidacije arahidonske kiseline membranskih fosfolipida, korišten kao biomarker oksidacijskog stresa. Njegova serumska koncentracije bila je značajno povećana u djece s esencijalnom arterijskom hipertenzijom (tablica 5.8.) u odnosu na zdravu normotenzivnu djecu. Važno je istaknuti da koncentracija 8-izo PGF $2\alpha$  pozitivno korelira s vrijednostima SBP i MAP, a negativno je povezana s endotelnim mikrovaskularnim odgovorima na sve ispitivane podražaje – vaskularnu okluziju, lokalno zagrijavanje kože i iontoforetsku primjenu ACh. Ti rezultati sugeriraju važnu, potencijalno uzročnu ulogu povećanog oksidacijskog stresa u oštećenju vazodilatacije ovisne o endotelu opažene u djece s esencijalnom arterijskom hipertenzijom.

Procjena je kardiovaskularnog rizika u pedijatrijskoj populaciji izazovna. Iako se kardiovaskularni događaji, ali i smrtnost uslijed njih, rijetko javljaju kod djece, postojeće promjene KV sustava mogu se otkriti već u ranoj dobi [129, 198]. Hipertenzija može biti uzrok, ali i posljedica oštećene vaskularne funkcije. Povećana je krutost arterija nezavisan rizični čimbenik za nastanak KV bolesti. Starenjem i utjecajem različitih štetnih čimbenika krvne žile

postaju krute i ireverzibilno strukturno promijenjene, no u mladih osoba, zbog hipertenzije i debljine, najprije nastaju reverzibilne funkcionalne promjene vaskularnog stabla koje, ako hipertenzija traje, mogu postati ireverzibilne. Upravo je, zbog toga što su promjene na ciljnim organima u ranoj fazi hipertenzije još uvijek reverzibilne, važno što ranije kod djece otkriti njezino postojanje [199]. Studije upućuju na povezanost hipertenzije u djece i adolescenata te krutosti arterija i kardiovaskularnog rizika [198, 200]. U svrhu ocjene vaskularne funkcije primjenjuju se i nove neinvazivne dijagnostičke metode koje definiraju status velikih krvnih žila, a jedna od najčešće korištenih jest cIMT [129]. Ultrazvuk krvnih žila visoke rezolucije pouzdana je metoda probira i u tom smislu pokazalo se da je debljina karotidne intima-medije povećana u djece s tradicionalnim KV čimbenicima rizika kao što su pretilost, hipertenzija i kronična bubrežna bolest [201, 202]. Iako cIMT odražava morfološke promjene vaskularnog stabla, funkcionalne promjene mogu se pojaviti u još ranijoj fazi KV bolesti. U ovom istraživanju debljina intima-medije desne zajedničke karotidne arterije značajno je veća kod hipertenzivnih ispitanika u odnosu na normotenzivne (HT 0,51 [0,41 – 0,57] vs. NT 0,41 [0,32 – 0,57] mm). Povećan cIMT često se koristi kao pokazatelj rane ateroskleroze i rizika od KV bolesti te je cIMT vrlo koristan parametar u praćenju progresije bolesti, ali i u učinkovitosti terapije. Nalaz povećanog cIMT-a u skupini s hipertenzijom daje dodatne dokaze da primarna hipertenzija može dovesti do vaskularnih abnormalnosti i u djetinjstvu. Naši su rezultati u skladu s prethodnim studijama provedenim u hipertenzivne djece [203, 204] te u skladu s činjenicom da su rane aterosklerotične promjene aorte i koronarnih arterija povezane s hipertenzijom u adolescenciji [205]. Nadalje, iako je prevalencija hipertenzije u djece u značajnom porastu, njezini učinci na moždanu hemodinamiku nedovoljno su istraženi. Budući da povišen krvni tlak u djetinjstvu doprinosi ranom razvoju ateroskleroze, koja može imati i kratkoročne i dugoročne štetne učinke na vaskulaturu, vrlo je važno definirati ih.

Moždana je autoregulacija mehanizam koji omogućava održavanje ujednačenog moždanog protoka krvi unatoč promjenama sistemskog arterijskog krvnog tlaka za koji se smatra da je najučinkovitiji u rasponu promjena tlakova između 60 i 150 mmHg [206]. U osoba s kroničnom hipertenzijom taj je raspon pomaknut prema višim granicama što s jedne strane štiti mozak od ishoda hiperperfuzije kod visokog krvnog tlaka, ali s druge strane povećava rizik od ishemije nakon brzog sniženja krvnog tlaka [206]. Poznato je da kronična hipertenzija oštećuje cerebrovaskularnu reaktivnost u odgovoru na različite podražaje (npr. zadržavanje daha) u odraslih [207], ali i u djece [208]. Prethodna mjerenja moždanog protoka krvi uglavnom su provedena na odraslim osobama s visokim krvnim tlakom i normotenzivnim osobama srednje

dobi, a malo je dostupnih informacija o moždanoj hemodinamici u adolescenciji. Apsolutne brzine protoka krvi u ovoj studiji bile su različite među zdravim i hipertenzivnim ispitanicima. Najvažniji parametar koji treba ovdje uzeti u obzir upravo je srednja brzina protoka jer je proporcionalna promjenama protoka krvi u odgovarajućem vaskularnom području. Brzine protoka u desnoj ACM ((NT 71[51 – 87] vs. HT 81 [67 – 115] cm/s) i AB (NT 54 [41 – 62] vs. HT 60 [34 – 70] cm/s) značajno su više u skupini oboljelih od arterijske hipertenzije u odnosu na normotenzivnu skupinu. Osim toga, cIMT desne zajedničke karotidne arterije značajno je veća kod hipertenzivnih u odnosu na normotenzivne ispitanike (HT 0,51 [0,41 – 0,57] vs. NT 0,41 [0,32 – 0,57] mm) te značajno pozitivno korelira s protokom u desnoj ACM ( $r = 0,394$ ,  $P = 0,007$ ) i u BA ( $r = 0,522$ ,  $R < 0,001$ ). Neke prethodne studije pokazale su da su brzine cerebralnog protoka krvi slične u hipertenzivnih i normotenzivnih odraslih ispitanika [209, 210], dok su drugi istraživači izvijestili o većim brzinama moždanog protoka krvi kod hipertenzivnih osoba u usporedbi sa zdravim normotenzivnim ispitanicima [115, 208] što je dobiveno i u ovom istraživanju. Kako bismo objasnili odstupanja između dvaju različitih opažanja, moramo napomenuti da su ispitivane populacije bile općenito različite: oni koji su promatrali slične brzine protoka krvi među hipertenzivnim i normotenzivnim osobama uglavnom su uključivali pacijente srednje dobi, dok su u drugoj skupini izvješća procijenjeni mlađi pacijenti. Poznato je da brzina moždanog protoka krvi u mirovanju pokazuje tendenciju smanjenja s godinama. Stoga je moguće zamisliti da starenje izjednačava male razlike koje su prisutne u mlađoj dobi. To je također potkrijepljeno opažanjima Lipsitz i sur. [211] koji su izvijestili o tome da su brzine protoka krvi u mirovanju veće u mlađih ispitanika od onih uočenih u starijih normotenzivnih i hipertenzivnih ispitanika. Brzine izmjerene u posljednjim dvjema skupinama bile su podjednake.

### **6.3. Učinci juvenilne esencijalne arterijske hipertenzije na parametre upale i RAAS sustav**

Ateroskleroza se smatra upalnom bolešću [212] na čiji rani stadij i napredovanje često može utjecati hipertenzija u mladosti [213]. Povećana razina upalnih markera, uključujući CRP, pronađena je u odraslih bolesnika s hipertenzijom [214] što upućuje na prisutnost niskog stupnja upalnog stanja u vaskulaturi. Nekoliko je studija izvijestilo da je fibrinogen u plazmi prediktor subkliničke ateroskleroze [215, 216] te da postoji pozitivna povezanost između razine fibrinogena i povišenog krvnog tlaka, odnosno hipertenzije [217, 218]. Osim skladištenja i otpuštanja željeza, i feritin ima ulogu u staničnoj proliferaciji, angiogenezi i aterosklerozi [219]. Dokazano je da aterosklerotske lezije sadrže feritin te da je prisutnost feritina posljedica upalnog odgovora akutne faze jer se njegova sinteza pojačava pod utjecajem citokina i njegova

serumska razina raste u upalnim događajima [220]. Rezultati ovog istraživanja u skladu su s nalazima kod odraslih pacijenata s hipertenzijom jer su djeca s hipertenzijom imala značajno povećane razine CRP-a, fibrinogena i feritina u usporedbi s normotenzivnom djecom, upućujući na promjenu fenotipa endotela od niskotrombogenog i protuupalnog do visokotrombogenog i proupalnog (tablica 5.11.). Ta endotelna alteracija, s hipertenzijom, dovodi do oslabljenih makro- i mikrovaskularnih vazodilatacijskih odgovora i dugoročno stvara uvjete za razvoj ateroskleroze, arterioskleroze i konačno oštećenja krajnjih organa i prerane smrti u odrasloj dobi. Uzevši sve zajedno, ovo istraživanje sugerira da bi primarna prevencija ateroskleroze trebala započeti rano u djetinjstvu kako bi se otkrila djeca s čimbenicima rizika te započelo s postupcima za prevenciju ili odgodu KV bolesti.

Renin-angiotenzin-aldosteronski sustav (RAAS) složen je višeorganski endokrini (hormonski) sustav uključen u regulaciju krvnog tlaka, održavanjem homeostaze tekućine i natrija te regulaciju vaskularnog tonusa. Tipično, RAAS se aktivira prilikom pada krvnog tlaka (smanjeni volumen krvi) kako bi se povećala reapsorpcija vode i elektrolita u bubrezima i time povećao krvni tlak. Pretjerana aktivacija RAAS-a ima važnu ulogu u patogenezi hipertenzije [221], a njegova inhibicija pomaže u snižavanju krvnog tlaka čime smanjuje rizik od razvoja KV događaja. Kako je već više puta istaknuto, esencijalna hipertenzija u djece i adolescenata povezana je s hipertenzijom u odrasloj dobi čime oboljeli imaju povećan rizik za razvoj KV bolesti [44]. Studije su pokazale da su komponente RAAS-a, angiotenzin II i aldosteron, povezane s varijacijama krvnog tlaka i uključene u progresiju hipertenzivnog oštećenja ciljnih organa i KV bolesti u odraslih [222, 223]. Aktivacija RAAS-a uzrokuje vazokonstrikciju, potiče rast vaskularnih glatkih mišićnih stanica i povećava otpor što uzrokuje povišenja tlaka te poremećena regulacija RAAS-a dovodi do promjena u strukturi stijenke krvnih žila i povećava opseg oštećenja ciljnih organa [223]. Mjerenje renina u bolesnika s esencijalnom (primarnom) hipertenzijom pokazuje da je aktivnost renina u plazmi povećana u 15 % bolesnika, normalna u 60 % bolesnika, a smanjena u približno 25 % bolesnika [224]. Stoga većina bolesnika s primarnom hipertenzijom nema odstupanja u razini renina, a u tom su smjeru i rezultati ove studije. Naime, iako su serumske koncentracije aldosterona (HT – 240,0 [97,0 – 640,0] vs. NT 89,1 [454,3 – 225,0] pmol /L) i renina (HT – 33,7 [10,0 – 78,4] vs. NT 12,1 [3,6 – 23,7] mIU/L) veće u hipertenzivnih ispitanika u odnosu na zdrave normotenzivne, one nemaju klinički značaj jer su unutar referentnog intervala te se njihov koncentracijski omjer aldosteron/renin ne razlikuje između skupina (NT – 7,3 [4,0 – 15,0] vs. HT 9,0 [3,0 – 27,0]). Povećan minutni volumen vjerojatno ima veću ulogu u podizanju vrijednosti krvnog tlaka u mladosti u usporedbi

s povećanim vaskularnim otporom koji se viđa kod starijih osoba [225]. Povećan simpatički tonus te zadržavanje natrija i tekućine značajno mogu doprinijeti povećanju srčanog minutnog volumena, posebice kod osoba s prekomjernom tjelesnom masom i pretilih osoba. Osim toga, kod mladih i odraslih opisana je neurohormonalna i bubrežna kardiovaskularna disregulacija, kao što su promijenjena osjetljivost barorefleksa i promjene krvnog tlaka osjetljive na sol, dok drugi mehanizmi doprinose nepovoljnim kardiovaskularnim fenotipovima, uključujući inzulinsku rezistenciju, disregulaciju RAAS sustava te upalu [226]. Iako su rezultati ovog istraživanja uputili na postojanje upale niskog stupnja kod djece i adolescenata s primarnom arterijskom hipertenzijom, promjene na razini sustava RAAS nisu bile primijećene.

Uzimajući sve navedeno u obzir, možemo zaključiti da je ova studija vrlo informativna, a njezina glavna snaga odnosi se na proučavanje utjecaja juvenilne esencijalne arterijske hipertenzije na čak trima razinama cirkulacije, naglašavajući odnos između funkcionalnih svojstava mikro-, makro- i moždane cirkulacije. Mjerenje mikrovaskularne funkcije određuje vjerojatnost za razvoj oštećenja ciljnih organa uzrokovanog hipertenzijom, dok mjerenje u makrocirkulaciji upućuje na vjerojatnost razvoja ateroskleroze. Početak je tih obaju nepovoljnih stanja endotelna disfunkcija koja je posljedica ili porasta tlaka ili oštećenja endotela (npr. visokim oksidacijskim stresom). Juvenilna esencijalna arterijska hipertenzija proučavana u ovom istraživanju praćena je povišenim lipidima koji upućuju na rizik od razvoja ateroskleroze ili već njezin početak te povećan oksidacijski stres, prisutnu upalu niskog stupnja te znakove endotelnog oštećenja. Iz navedenoga proizlazi da esencijalna arterijska hipertenzija nepovoljno utječe na vaskularnu funkciju u pedijatrijskoj populaciji što se očituje smanjenim o endotelu ovisnom odgovoru na različite vazodilatacijske podražaje u mikro- i makrovaskulaturi. Moguće objašnjenje uočenih oslabljenih odgovora jest prisutnost povećanog oksidacijskog stresa sa znakovima oštećenja endotela i aktiviranim proupalnim, proaterogenim odgovorom. Rezultati ovog istraživanja sugeriraju povećan rizik od buduće ateroskleroze i oštećenja/zatajenja krajnjih organa zbog ranog početka hipertenzije u djetinjstvu. Stoga ova studija doprinosi u razumijevanju endotelne disfunkcije u složenoj patogenezi vaskularnih bolesti u djece s hipertenzijom.

Nadalje, iako vrlo zahtjevno, ovo je prvo istraživanje koje procjenjuje dnevnu potrošnju soli iz uzorka 24-satnog urina kod djece u Hrvatskoj čiji rezultati pokazuju da je već i u pedijatrijskoj populaciji prisutan značajno veći unos soli od preporučenih vrijednosti, i kod normotenzivne i kod hipertenzivne djece. Svakako je važno naglasiti da hipertenzivna djeca i adolescenti, osim



prekomjernog unosa soli, općenito konzumiraju prevelike količine hrane i imaju povećanu tjelesnu masu u odnosu na normotenzivnu djecu. Štoviše, prijavljeni energetske unos u upitniku prehrane iznad je gornjih granica čak i za normotenzivnu djecu što upućuje na prekomjeran unos hrane općenito u djece u našoj državi. Uzimajući u obzir štetne posljedice pretilosti i hipertenzije, od iznimne je važnosti ojačati individualne i javnozdravstvene napore za podizanje svijesti o zdravstvenim komplikacijama, ali je nužno omogućiti i edukaciju o zdravom načinu života i prehranbenim navikama kako bi se spriječila pojava hipertenzije i pretilosti već u ranom djetinjstvu.

Podatci dobiveni ovim istraživanjem iznimno su vrijedni jer su djeca osjetljiva populacija i roditelji/skrbnici često oklijevaju oko sudjelovanja u istraživanju. Međutim, ograničenje je ove studije mala veličina uzorka, stoga su potrebna daljnja istraživanja na većem broju sudionika kako bi se mogli izvući dosljedni zaključci primjenjivi na širu pedijatrijsku populaciju.

## 7. ZAKLJUČCI

Na temelju provedenog istraživanja i dobivenih rezultata može se zaključiti sljedeće:

- esencijalna arterijska hipertenzija ima nepovoljan učinak na vaskularnu funkciju, čak i u pedijatrijskoj populaciji, što se očituje smanjenim o endotelu ovisnom odgovoru na različite fiziološke podražaje u mikrocirkulaciji kože te u sustavnim provodnim arterijama
- esencijalna arterijska hipertenzija u pedijatrijskoj populaciji nema negativan učinak na o endotelu neovisan odgovor u mikrocirkulaciji kože
- juvenilna esencijalna arterijska hipertenzija praćena je povećanim brzinama protoka u moždanoj cirkulaciji te povećanom debljinom intima-medije zajedničke karotidne arterije
- funkcionalno endotelno vaskularno oštećenje uslijed prisutne esencijalne arterijske hipertenzije popraćeno je povišenom serumskom razinom oksidacijskog stresa i povećanim proupalnim parametrima.

## 8. SAŽETAK

**Cilj istraživanja:** Odrediti utjecaj esencijalne arterijske hipertenzije na sustavni mikro- i makrovaskularni endotelni odgovor, na moždanu hemodinamiku te na razinu oksidacijskog stresa i ciljnih proupalnih biljega u pedijatrijskoj populaciji.

**Nacrt studije:** Presječna opservacijska studija u kojoj su ispitanici podvrgnuti istom eksperimentalnom protokolu. Ispitanici su podijeljeni u dvije skupine prema (ne)postojanju esencijalne arterijske hipertenzije (ID NCT05109013).

**Ispitanici i metode:** U studiji je sudjelovalo ukupno 52 ispitanika, djece i adolescenata, oba spola, dobne starosti između 9 i 17 godina, podijeljeni u NT skupinu (N = 26), koju su činila zdrava djeca i adolescenti urednih vrijednosti arterijskog krvnog tlaka, i HT skupinu (N = 26) kojoj su pripadala djeca i adolescenti oboljeli od esencijalne arterijske hipertenzije. Endotelna mikrovaskularna funkcija procijenjena je u odgovoru na vaskularnu okluziju (PORH), iontoforetsku primjenu acetilkolina (AChID) i natrijeva nitroprisuda (SNPID) te lokalnu toplinsku hiperemiju kože (LTH), a u makrocirkulaciji mjerenjem protokom posredovane dilatacije (FMD) brahijalne arterije. Moždana cirkulacija procijenjena je s pomoću transkranijalnog doplera (TCD) te je svim ispitanicima izmjerena debljina intima-medije zajedničke karotidne arterije. Serumske koncentracije biomarkera oksidacijskog stresa i antioksidacijskog kapaciteta mjerene su standardiziranim metodama. Prehrambene navike ispitanika procijenjene su s pomoću upitnika o učestalosti unosa hrane. Svim su ispitanicima odrađena antropometrijska, hemodinamska i biokemijska mjerenja te je izmjeren status tjelesnih tekućina.

**Rezultati:** Iako su hipertenzivni ispitanici imali veće vrijednosti sistoličkog, dijastoličkog i srednjeg arterijskog tlaka te veći BMI od normotenzivnih, srčana frekvencija i omjer struk-bokovi, bili su podjednaki u objema skupinama. Osim toga, djeca i adolescenti oboljeli od esencijalne arterijske hipertenzije imali su značajno više serumske razine ukupnog i LDL kolesterola te biljega akutne faze upale (CRP, fibrinogen, feritina) i oksidacijskog stresa (8-izo-PGF2 $\alpha$ ) od normotenzivnih ispitanika. Esencijalna arterijska hipertenzija značajno je smanjila o endotelu ovisnu vazodilataciju u mikrocirkulaciji (PORH, AChID, LTH) i makrovaskulaturi (FMD), a nije imala značajan utjecaj na o endotelu neovisnu mikrovaskularnu vazodilataciju (SNPID). Brzine protoka u desnoj ACM povećane su u hipertenzivnih ispitanika u odnosu na zdrave normotenzivne kao i debljina intima-medije desne zajedničke karotidne arterije.

**Zaključak:** Esencijalna arterijska hipertenzija ima nepovoljan učinak na o endotelu ovisnu vazodilataciju u mikro- i makrocirkulaciji djece i adolescenata, neovisno o BMI-ju. Praćena je povećanim brzinama protoka u moždanoj cirkulaciji te povećanom debljinom intima-medije zajedničke karotidne arterije. U podlozi ovog funkcionalnog vaskularnog oštećenja nalaze se povišena serumska razina oksidacijskog stresa i povećani proupalni parametri.

**Ključne riječi:** dijete; adolescent; hipertenzija; endotel; mikrocirkulacija; makrocirkulacija; oksidacijski stres

## 9. SUMMARY

**„The relationship of juvenile essential arterial hypertension and markers of vascular reactivity in the systemic and cerebral circulation“**

**Objectives:** To determine the influence of essential arterial hypertension on the systemic micro- and macrovascular endothelial response, on cerebral hemodynamics and on the level of oxidative stress and targeted proinflammatory markers in the pediatric population.

**Study design:** the study was designed as a cross-sectional observational trial in which all subjects were subjected to the same experimental protocol. The subjects were divided into two groups according to the (non)existence of essential arterial hypertension.

**Participants and methods:** a total of 52 participants, children and adolescents, of both sexes, aged between 9 and 17 years, participated in the study, divided into the NT group (N = 26), which was composed of healthy children and adolescents with normal arterial blood pressure values, and the HT group (N = 26) which included children and adolescents suffering from essential arterial hypertension. Endothelial microvascular function was evaluated in response to vascular occlusion (PORH), iontophoretic application of acetylcholine (AChID) and sodium nitroprusside (SNPID) and local thermal skin hyperemia (LTH), and in macrocirculation by measuring flow-mediated dilation (FMD) of the brachial artery. Cerebral circulation was assessed using transcranial doppler (TCD) and the intima-media thickness of the common carotid artery was measured to all subjects. Serum concentrations of biomarkers of oxidative stress and antioxidant capacity were measured using standardized methods. The subjects' eating habits were assessed by using a questionnaire on the frequency of food intake. Anthropometric, hemodynamic and biochemical measurements were performed on all subjects, and the status of body fluids was measured.

**Results:** Although hypertensive subjects had higher values of systolic, diastolic and mean arterial pressure and higher BMI than normotensive subjects, heart rate and waist-to-hip ratio were similar in both groups. In addition, children and adolescents with essential arterial hypertension had significantly higher serum total and LDL cholesterol levels, as well as markers of the acute phase of inflammation (CRP, fibrinogen, ferritin) and oxidative stress (8-iso-PGF<sub>2</sub> $\alpha$ ) than normotensive subjects. Essential arterial hypertension significantly reduced endothelium-dependent vasodilation in microcirculation (PORH, AChID, LTH) and macrovasculature (FMD), while it had no significant effect on endothelium-independent

microvascular vasodilation (SNPID). Flow velocities in the right MCA were increased in hypertensive subjects compared to healthy normotensive subjects, as well as the thickness of the intima-media of the right common carotid artery.

**Conclusion:** Essential arterial hypertension has an unfavorable effect on endothelium-dependent vasodilatation in the micro- and macrocirculation of children and adolescents, regardless of BMI. It is accompanied by increased flow rates in the cerebral circulation and increased thickness of the intima-media of the common carotid artery. Underlying this functional vascular damage are an elevated serum levels of oxidative stress and increased pro-inflammatory parameters.

**Key words:** child; adolescent; hypertension; endothelium; microcirculation; macrocirculation; oxidative stress

**10. LITERATURA**

1. Widlansky ME, Gokce N, Keaney JF, Vita JA (2003) The clinical implications of endothelial dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 42:1149–1160. [https://doi.org/10.1016/S0735-1097\(03\)00994-X](https://doi.org/10.1016/S0735-1097(03)00994-X)
2. Vanhoutte PM (1989) Endothelium and control of vascular function. State of the Art lecture. *Hypertension* 13:658–667. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.13.6.658>
3. Fleming I, Busse R (2003) Molecular mechanisms involved in the regulation of the endothelial nitric oxide synthase. *Am J Physiol Integr Comp Physiol* 284:R1–R12. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00323.2002>
4. Ghimire K, Altmann HM, Straub AC, Isenberg JS (2017) Nitric oxide: what's new to NO? *Am J Physiol Physiol* 312:C254–C262. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00315.2016>
5. Taddei S, Ghiadoni L, Virdis A, et al (2003) Mechanisms of Endothelial Dysfunction: Clinical Significance and Preventive Non-Pharmacological Therapeutic Strategies. *Curr Pharm Des* 9:2385–2402. <https://doi.org/10.2174/1381612033453866>
6. Mitchell JA, Nucci G, Warner TD, Vane JR (1992) Different patterns of release of endothelium-derived relaxing factor and prostacyclin. *Br J Pharmacol* 105:485–489. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1992.tb14280.x>
7. Mitchell JA, Kirkby NS (2019) Eicosanoids, prostacyclin and cyclooxygenase in the cardiovascular system. *Br J Pharmacol* 176:1038–1050. <https://doi.org/10.1111/bph.14167>
8. Félétou M, Vanhoutte PM (1999) The Alternative: EDHF. *J Mol Cell Cardiol* 31:15–22. <https://doi.org/10.1006/jmcc.1998.0840>
9. Garland CJ, Hiley CR, Dora KA (2011) EDHF: spreading the influence of the endothelium. *Br J Pharmacol* 164:839–852. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2010.01148.x>
10. Halcox JPJ, Narayanan S, Cramer-Joyce L, et al (2001) Characterization of endothelium-derived hyperpolarizing factor in the human forearm microcirculation. *Am J Physiol Circ Physiol* 280:H2470–H2477. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.2001.280.6.H2470>
11. Helgadóttir H, Tropea T, Gizurason S, Mandalà M (2021) Endothelium-Derived Hyperpolarizing Factor (EDHF) Mediates Acetylsalicylic Acid (Aspirin) Vasodilation of Pregnant Rat Mesenteric Arteries. *Int J Mol Sci* 22:10162. <https://doi.org/10.3390/ijms221810162>
12. Bonetti PO, Lerman LO, Lerman A (2003) Endothelial Dysfunction. *Arterioscler*

- Thromb Vasc Biol 23:168–175. <https://doi.org/10.1161/01.ATV.0000051384.43104.FC>
13. GIMBRONE MA, TOPPER JN, NAGEL T, et al (2006) Endothelial Dysfunction, Hemodynamic Forces, and Atherogenesis. *Ann N Y Acad Sci* 902:230–240. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2000.tb06318.x>
  14. Brunner H, Cockcroft JR, Deanfield J, et al (2005) Endothelial function and dysfunction. Part II: Association with cardiovascular risk factors and diseases. A statement by the Working Group on Endothelins and Endothelial Factors of the European Society of Hypertension\*. *J Hypertens* 23:233–246. <https://doi.org/10.1097/00004872-200502000-00001>
  15. Rodrigo R, González J, Paoletto F (2011) The role of oxidative stress in the pathophysiology of hypertension. *Hypertens Res* 34:431–440. <https://doi.org/10.1038/hr.2010.264>
  16. Deanfield J, Donald A, Ferri C, et al (2005) Endothelial function and dysfunction. Part I. *J Hypertens* 23:7–17. <https://doi.org/10.1097/00004872-200501000-00004>
  17. John S, Schmieder RE (2000) Impaired endothelial function in arterial hypertension and hypercholesterolemia. *J Hypertens* 18:363–374. <https://doi.org/10.1097/00004872-200018040-00002>
  18. Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, et al (1992) Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet* 340:1111–1115. [https://doi.org/10.1016/0140-6736\(92\)93147-F](https://doi.org/10.1016/0140-6736(92)93147-F)
  19. Flammer AJ, Anderson T, Celermajer DS, et al (2012) The Assessment of Endothelial Function. *Circulation* 126:753–767. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.112.093245>
  20. ROUSTIT M, CRACOWSKI J-L (2012) Non-invasive Assessment of Skin Microvascular Function in Humans: An Insight Into Methods. *Microcirculation* 19:47–64. <https://doi.org/10.1111/j.1549-8719.2011.00129.x>
  21. STERN MD (1975) In vivo evaluation of microcirculation by coherent light scattering. *Nature* 254:56–58. <https://doi.org/10.1038/254056a0>
  22. Roustit M, Blaise S, Millet C, Cracowski JL (2010) Reproducibility and methodological issues of skin post-occlusive and thermal hyperemia assessed by single-point laser Doppler flowmetry. *Microvasc Res* 79:102–108. <https://doi.org/10.1016/j.mvr.2010.01.001>
  23. Cracowski J-L, Minson CT, Salvat-Melis M, Halliwill JR (2006) Methodological issues in the assessment of skin microvascular endothelial function in humans. *Trends*



- Pharmacol Sci 27:503–508. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2006.07.008>
24. Alley H, Owens CD, Gasper WJ, Grenon SM (2014) Ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery in clinical research. *J Vis Exp* e52070. <https://doi.org/10.3791/52070>
  25. Tolj I, Stupin A, Drenjančević I, et al (2023) The Role of Nitric Oxide in the Micro- and Macrovascular Response to a 7-Day High-Salt Diet in Healthy Individuals. *Int J Mol Sci* 24:7157. <https://doi.org/10.3390/ijms24087157>
  26. Takase B, Uehata A, Akima T, et al (1998) Endothelium-dependent flow-mediated vasodilation in coronary and brachial arteries in suspected coronary artery disease. *Am J Cardiol* 82:1535–1539. [https://doi.org/10.1016/S0002-9149\(98\)00702-4](https://doi.org/10.1016/S0002-9149(98)00702-4)
  27. Sorensen KE, Celermajer DS, Spiegelhalter DJ, et al (1995) Non-invasive measurement of human endothelium dependent arterial responses: accuracy and reproducibility. *Heart* 74:247–253. <https://doi.org/10.1136/hrt.74.3.247>
  28. Williams B, Mancia G, Spiering W, et al (2018) 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension. *J Hypertens* 36:1953–2041. <https://doi.org/10.1097/HJH.0000000000001940>
  29. Mills KT, Stefanescu A, He J (2020) The global epidemiology of hypertension. *Nat Rev Nephrol* 16:223–237. <https://doi.org/10.1038/s41581-019-0244-2>
  30. Nelson MJ, Ragland DR, Syme SL (1992) Longitudinal Prediction of Adult Blood Pressure from Juvenile Blood Pressure Levels. *Am J Epidemiol* 136:633–645. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a116543>
  31. Murray M, King C, Sorenson C, et al (2018) Community awareness of stroke, hypertension and modifiable risk factors for cardiovascular disease in Nkonya-Wurupong, Ghana. *J Public Health Africa*. <https://doi.org/10.4081/jphia.2018.783>
  32. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hypertension>
  33. Ma Y, Cheng HY, Cheng L, Sit JWH (2019) The effectiveness of electronic health interventions on blood pressure control, self-care behavioural outcomes and psychosocial well-being in patients with hypertension: A systematic review and meta-analysis. *Int J Nurs Stud* 92:27–46. <https://doi.org/10.1016/j.ijnurstu.2018.11.007>
  34. [https://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php?title=Cardiovascular\\_diseases\\_statistics](https://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php?title=Cardiovascular_diseases_statistics)
  35. Wang Y, Wang J-G (2018) Genome-Wide Association Studies of Hypertension and Several Other Cardiovascular Diseases. *Pulse* 6:169–186. <https://doi.org/10.1159/000496150>

36. Guarner-Lans V, Ramírez-Higuera A, Rubio-Ruiz ME, et al (2020) Early Programming of Adult Systemic Essential Hypertension. *Int J Mol Sci* 21:1203. <https://doi.org/10.3390/ijms21041203>
37. Rimoldi SF, Scherrer U, Messerli FH (2014) Secondary arterial hypertension: when, who, and how to screen? *Eur Heart J* 35:1245–1254. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/eh534>
38. Luma GB, Spiotta RT (2006) Hypertension in children and adolescents. *Am Fam Physician* 73:1558–68
39. Falkner B (2010) Hypertension in children and adolescents: epidemiology and natural history. *Pediatr Nephrol* 25:1219–1224. <https://doi.org/10.1007/s00467-009-1200-3>
40. Kollias A, Dafni M, Poulidakis E, et al (2014) Out-of-office blood pressure and target organ damage in children and adolescents. *J Hypertens* 32:2315–2331. <https://doi.org/10.1097/HJH.0000000000000384>
41. Song P, Zhang Y, Yu J, et al (2019) Global Prevalence of Hypertension in Children. *JAMA Pediatr* 173:1154. <https://doi.org/10.1001/jamapediatrics.2019.3310>
42. Litwin M, Michałkiewicz J, Gackowska L (2013) Primary Hypertension in Children and Adolescents is an Immuno-Metabolic Disease with Hemodynamic Consequences. *Curr Hypertens Rep* 15:331–339. <https://doi.org/10.1007/s11906-013-0360-5>
43. Falkner B (2015) Recent Clinical and Translational Advances in Pediatric Hypertension. *Hypertension* 65:926–931. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.114.03586>
44. Chen X, Wang Y (2008) Tracking of Blood Pressure From Childhood to Adulthood. *Circulation* 117:3171–3180. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.107.730366>
45. Juhola J, Magnussen CG, Berenson GS, et al (2013) Combined Effects of Child and Adult Elevated Blood Pressure on Subclinical Atherosclerosis. *Circulation* 128:217–224. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.113.001614>
46. Franks PW, Hanson RL, Knowler WC, et al (2010) Childhood Obesity, Other Cardiovascular Risk Factors, and Premature Death. *N Engl J Med* 362:485–493. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0904130>
47. Sundstrom J, Neovius M, Tynelius P, Rasmussen F (2011) Association of blood pressure in late adolescence with subsequent mortality: cohort study of Swedish male conscripts. *BMJ* 342:d643–d643. <https://doi.org/10.1136/bmj.d643>
48. Blumenthal S, Epps RP, Heavenrich R, et al (1977) Report of the task force on blood pressure control in children. *Pediatrics* 59:I–II, 797–820
49. Mancia(Chairperson) G, Kreutz(Co-Chair) R, Brunström M, et al (2023) 2023 ESH

- Guidelines for the management of arterial hypertension The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension Endorsed by the European Renal Association (ERA) and the International Society of Hypertensi. *J Hypertens Publish Ah*: <https://doi.org/10.1097/HJH.00000000000003480>
50. (1988) Intersalt: an international study of electrolyte excretion and blood pressure. Results for 24 hour urinary sodium and potassium excretion. Intersalt Cooperative Research Group. *BMJ* 297:319–328. <https://doi.org/10.1136/bmj.297.6644.319>
  51. Ha SK (2014) Dietary Salt Intake and Hypertension. *Electrolytes Blood Press* 12:7. <https://doi.org/10.5049/EBP.2014.12.1.7>
  52. Mente A, O'Donnell M, Rangarajan S, et al (2016) Associations of urinary sodium excretion with cardiovascular events in individuals with and without hypertension: a pooled analysis of data from four studies. *Lancet* 388:465–475. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)30467-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)30467-6)
  53. Graudal NA, Hubeck-Graudal T, Jurgens G (2017) Effects of low sodium diet versus high sodium diet on blood pressure, renin, aldosterone, catecholamines, cholesterol, and triglyceride. *Cochrane Database Syst Rev*. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD004022.pub4>
  54. Genovesi S, Giussani M, Orlando A, et al (2021) Salt and Sugar: Two Enemies of Healthy Blood Pressure in Children. *Nutrients* 13:697. <https://doi.org/10.3390/nu13020697>
  55. Leyvraz M, Chatelan A, da Costa BR, et al (2018) Sodium intake and blood pressure in children and adolescents: a systematic review and meta-analysis of experimental and observational studies. *Int J Epidemiol* 47:1796–1810. <https://doi.org/10.1093/ije/dyy121>
  56. Rosner B, Cook NR, Daniels S, Falkner B (2013) Childhood Blood Pressure Trends and Risk Factors for High Blood Pressure. *Hypertension* 62:247–254. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.00831>
  57. Azegami T, Uchida K, Tokumura M, Mori M (2021) Blood Pressure Tracking From Childhood to Adulthood. *Front Pediatr* 9:. <https://doi.org/10.3389/fped.2021.785356>
  58. World Health Organization (2012) Guideline: Sodium Intake for Adults and Children. Geneva World Heal Organ 2012
  59. Brown, I.J.; Tzoulaki, I.; Candeias, V.; Elliott P (2009) Salt intakes around the world: Implications for public health. *Int J Epidemiol* 791–813
  60. Zhai F YX (2006) Report of National Nutrition and Health Survey of China Residents in 2002: Part 2: Diet and Nutrition Intake. Beijing, China: People's Health Publishing

- House. <https://doi.org/Zhai F, Yang X. Report of National Nutrition and Health Survey of China Residents in 2002: Part 2: Diet and Nutrition Intake. Beijing, China: People's Health Publishing House; 2006>
61. Jelaković B, Kaić-Rak A, Milčić D, et al (2009) [Less salt--more health. Croatian action on salt and health (CRASH)]. *Lijec Vjesn* 131:87–92
  62. Jelaković B, Reiner Ž (2014) [Croatian national programme for reduction of excessive salt intake]. *Lijec Vjesn* 136:304–6
  63. Jelakovic B. Salt Intake in Croatia—EHUH 2 Report. 41st Symposium Hypertension Highlights in 2020. Zagreb; 2020.
  64. Bigazzi R, Zagato L, Lanzani C, et al (2020) Hypertension in High School Students: Genetic and Environmental Factors. *Hypertension* 75:71–78. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.119.13818>
  65. Laffer CL, Scott RC, Titze JM, et al (2016) Hemodynamics and Salt-and-Water Balance Link Sodium Storage and Vascular Dysfunction in Salt-Sensitive Subjects. *Hypertension* 68:195–203. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.116.07289>
  66. Grassi G (2010) Sympathetic Neural Activity in Hypertension and Related Diseases. *Am J Hypertens* 23:1052–1060. <https://doi.org/10.1038/ajh.2010.154>
  67. Genovesi S, Pieruzzi F, Giussani M, et al (2008) Analysis of Heart Period and Arterial Pressure Variability in Childhood Hypertension. *Hypertension* 51:1289–1294. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.107.109389>
  68. Farah BQ, Barros MVG, Balagopal B, Ritti-Dias RM (2014) Heart Rate Variability and Cardiovascular Risk Factors in Adolescent Boys. *J Pediatr* 165:945–950. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2014.06.065>
  69. Galletti F, Strazzullo P (2016) The blood pressure–salt sensitivity paradigm: pathophysiologically sound yet of no practical value. *Nephrol Dial Transplant* 31:1386–1391. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfw295>
  70. Suckling RJ, He FJ, Markandu ND, MacGregor GA (2012) Dietary salt influences postprandial plasma sodium concentration and systolic blood pressure. *Kidney Int* 81:407–411. <https://doi.org/10.1038/ki.2011.369>
  71. Tian N, Zhang Z, Loustalot F, et al (2013) Sodium and potassium intakes among US infants and preschool children, 2003–2010. *Am J Clin Nutr* 98:1113–1122. <https://doi.org/10.3945/ajcn.113.060012>
  72. Campanozzi A, Avallone S, Barbato A, et al (2015) High Sodium and Low Potassium Intake among Italian Children: Relationship with Age, Body Mass and Blood Pressure.

- PLoS One 10:e0121183. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0121183>
73. He FJ, MacGregor GA (2006) Importance of Salt in Determining Blood Pressure in Children. *Hypertension* 48:861–869. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.0000245672.27270.4a>
  74. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
  75. <https://www.who.int/europe/news/item/06-07-2021-overweight-or-obesity-affect-1-in-3-children-in-croatia-new-survey-shows>
  76. B. Jelaković, T. Željковиć–Vrkić, I. Pećin, Ž. Dika, A. Jovanović, D. Podobnik, T. Šmuc, D. Gamberger, K. Katić, M. Kašner DK (2007) Arterijska hipertenzija u Hrvatskoj. Rezultati EU–UH studije. *Acta Med Croat* 61: <https://www.hzjz.hr/wp-content/uploads/2021/03/CroCOSI-2021-publikacija-web-pages.pdf>
  77. <https://www.hzjz.hr/wp-content/uploads/2021/03/CroCOSI-2021-publikacija-web-pages.pdf>
  78. Styne DM, Arslanian SA, Connor EL, et al (2017) Pediatric Obesity—Assessment, Treatment, and Prevention: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 102:709–757. <https://doi.org/10.1210/jc.2016-2573>
  79. Weiss R, Caprio S (2005) The metabolic consequences of childhood obesity. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 19:405–419. <https://doi.org/10.1016/j.beem.2005.04.009>
  80. Raj M (2012) Obesity and cardiovascular risk in children and adolescents. *Indian J Endocrinol Metab* 16:13. <https://doi.org/10.4103/2230-8210.91176>
  81. Albuquerque D, Nóbrega C, Manco L, Padez C (2017) The contribution of genetics and environment to obesity. *Br Med Bull* 123:159–173. <https://doi.org/10.1093/bmb/ldx022>
  82. Smith JD, Fu E, Kobayashi MA (2020) Prevention and Management of Childhood Obesity and Its Psychological and Health Comorbidities. *Annu Rev Clin Psychol* 16:351–378. <https://doi.org/10.1146/annurev-clinpsy-100219-060201>
  83. Ouchi N, Parker JL, Lugus JJ, Walsh K (2011) Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nat Rev Immunol* 11:85–97. <https://doi.org/10.1038/nri2921>
  84. Brady TM (2017) Obesity-Related Hypertension in Children. *Front Pediatr* 5: <https://doi.org/10.3389/fped.2017.00197>
  85. Kalil GZ, Haynes WG (2012) Sympathetic nervous system in obesity-related hypertension: mechanisms and clinical implications. *Hypertens Res* 35:4–16. <https://doi.org/10.1038/hr.2011.173>
  86. Vecchiola A, Lagos CF, Carvajal CA, et al (2016) Aldosterone Production and Signaling Dysregulation in Obesity. *Curr Hypertens Rep* 18:20. <https://doi.org/10.1007/s11906-016-0626-9>

87. Dorresteijn JAN, Visseren FLJ, Spiering W (2012) Mechanisms linking obesity to hypertension. *Obes Rev* 13:17–26. <https://doi.org/10.1111/j.1467-789X.2011.00914.x>
88. Shimokawa H, Godo S (2020) Nitric oxide and endothelium-dependent hyperpolarization mediated by hydrogen peroxide in health and disease. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 127:92–101. <https://doi.org/10.1111/bcpt.13377>
89. Vanhoutte PM, Shimokawa H, Feletou M, Tang EHC (2017) Endothelial dysfunction and vascular disease - a 30th anniversary update. *Acta Physiol* 219:22–96. <https://doi.org/10.1111/apha.12646>
90. Corretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ, et al (2002) Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery. *J Am Coll Cardiol* 39:257–265. [https://doi.org/10.1016/S0735-1097\(01\)01746-6](https://doi.org/10.1016/S0735-1097(01)01746-6)
91. Thijssen DHJ, Black MA, Pyke KE, et al (2011) Assessment of flow-mediated dilation in humans: a methodological and physiological guideline. *Am J Physiol Circ Physiol* 300:H2–H12. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00471.2010>
92. Harris RA, Nishiyama SK, Wray DW, Richardson RS (2010) Ultrasound Assessment of Flow-Mediated Dilation. *Hypertension* 55:1075–1085. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.110.150821>
93. Blann AD (2003) Assessment of Endothelial Dysfunction: Focus on Atherothrombotic Disease. *Pathophysiol Haemost Thromb* 33:256–261. <https://doi.org/10.1159/000083811>
94. Flynn JT, Daniels SR, Hayman LL, et al (2014) Update: Ambulatory Blood Pressure Monitoring in Children and Adolescents. *Hypertension* 63:1116–1135. <https://doi.org/10.1161/HYP.0000000000000007>
95. Perticone F, Sciacqua A, Maio R, et al (2010) Endothelial dysfunction, ADMA and insulin resistance in essential hypertension. *Int J Cardiol* 142:236–241. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2008.12.131>
96. Stockelman KA, Hijmans JG, Bammert TD, et al (2020) Circulating endothelial cell derived microvesicles are elevated with hypertension and associated with endothelial dysfunction. *Can J Physiol Pharmacol* 98:557–561. <https://doi.org/10.1139/cjpp-2020-0044>
97. GALDERISI M, CAPALDO B, SIDIROPULOS M, et al (2007) Determinants of Reduction of Coronary Flow Reserve in Patients With Type 2 Diabetes Mellitus or Arterial Hypertension Without Angiographically Determined Epicardial Coronary Stenosis. *Am J Hypertens* 20:1283–1290.

- <https://doi.org/10.1016/j.amjhyper.2007.08.005>
98. Farkas K, Kolossváry E, Járαι Z, et al (2004) Non-invasive assessment of microvascular endothelial function by laser doppler flowmetry in patients with essential hypertension. *Atherosclerosis* 173:97–102. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2003.11.015>
  99. Jay Widmer R, Lerman A (2014) Endothelial dysfunction and cardiovascular disease. *Glob Cardiol Sci Pract* 2014:43. <https://doi.org/10.5339/gcsp.2014.43>
  100. Zhang C, Hein TW, Wang W, et al (2004) Upregulation of Vascular Arginase in Hypertension Decreases Nitric Oxide–Mediated Dilation of Coronary Arterioles. *Hypertension* 44:935–943. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.0000146907.82869.f2>
  101. Taddei S, Virdis A, Ghiadoni L, et al (1998) Vitamin C Improves Endothelium-Dependent Vasodilation by Restoring Nitric Oxide Activity in Essential Hypertension. *Circulation* 97:2222–2229. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.97.22.2222>
  102. Szabó C, Ischiropoulos H, Radi R (2007) Peroxynitrite: biochemistry, pathophysiology and development of therapeutics. *Nat Rev Drug Discov* 6:662–680. <https://doi.org/10.1038/nrd2222>
  103. Taddei S, Ghiadoni L, Virdis A, et al (1999) Vasodilation to Bradykinin Is Mediated by an Ouabain-Sensitive Pathway as a Compensatory Mechanism for Impaired Nitric Oxide Availability in Essential Hypertensive Patients. *Circulation* 100:1400–1405. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.100.13.1400>
  104. Schiffrin EL (1999) Role of Endothelin-1 in Hypertension. *Hypertension* 34:876–881. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.34.4.876>
  105. Penna C, Rastaldo R, Mancardi D, et al (2006) Effect of endothelins on the cardiovascular system. *J Cardiovasc Med* 7:645–652. <https://doi.org/10.2459/01.JCM.0000242996.19077.ba>
  106. Xu J-Z, Zhang Y, Wu S-N, et al (2009) Impaired endothelial function in hypertensive patients with target organ damage. *J Hum Hypertens* 23:751–757. <https://doi.org/10.1038/jhh.2009.10>
  107. Slyper AH (2004) What Vascular Ultrasound Testing Has Revealed about Pediatric Atherogenesis, and a Potential Clinical Role for Ultrasound in Pediatric Risk Assessment. *J Clin Endocrinol Metab* 89:3089–3095. <https://doi.org/10.1210/jc.2003-030644>
  108. Jurko A, Jurko T, Minarik M, et al (2018) Endothelial function in children with white-coat hypertension. *Heart Vessels* 33:657–663. <https://doi.org/10.1007/s00380-017-1107-z>

109. Meyer AA, Kundt G, Steiner M, et al (2006) Impaired Flow-Mediated Vasodilation, Carotid Artery Intima-Media Thickening, and Elevated Endothelial Plasma Markers in Obese Children: The Impact of Cardiovascular Risk Factors. *Pediatrics* 117:1560–1567. <https://doi.org/10.1542/peds.2005-2140>
110. Katona É, Settakis G, Varga Z, et al (2006) Target-organ damage in adolescent hypertension. Analysis of potential influencing factors, especially nitric oxide and endothelin-1. *J Neurol Sci* 247:138–143. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2006.04.007>
111. Gil TY, Sung CY, Shim SS, Hong YM (2008) Intima-Media Thickness and Pulse Wave Velocity in Hypertensive Adolescents. *J Korean Med Sci* 23:35. <https://doi.org/10.3346/jkms.2008.23.1.35>
112. Raitakari O, Pahkala K, Magnussen CG (2022) Prevention of atherosclerosis from childhood. *Nat Rev Cardiol* 19:543–554. <https://doi.org/10.1038/s41569-021-00647-9>
113. Fan J-L, Nogueira RC, Brassard P, et al (2022) Integrative physiological assessment of cerebral hemodynamics and metabolism in acute ischemic stroke. *J Cereb Blood Flow Metab* 42:454–470. <https://doi.org/10.1177/0271678X211033732>
114. Nobili F, Rodriguez G, Marengo S, et al (1993) Regional cerebral blood flow in chronic hypertension. A correlative study. *Stroke* 24:1148–1153. <https://doi.org/10.1161/01.STR.24.8.1148>
115. Sugimori H, Ibayashi S, Irie K, et al (1994) Cerebral hemodynamics in hypertensive patients compared with normotensive volunteers. A transcranial Doppler study. *Stroke* 25:1384–1389. <https://doi.org/10.1161/01.STR.25.7.1384>
116. Fujii K, Weno BL, Baumbach GL, Heistad DD (1992) Effect of antihypertensive treatment on focal cerebral infarction. *Hypertension* 19:713–716. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.19.6.713>
117. Fujishima M, Ibayashi S, Fujii K, et al (1986) Effects of long-term antihypertensive treatment on cerebral, thalamic and cerebellar blood flow in spontaneously hypertensive rats (SHR). *Stroke* 17:985–988. <https://doi.org/10.1161/01.STR.17.5.985>
118. Flynn JT, Kaelber DC, Baker-Smith CM, et al (2017) Clinical Practice Guideline for Screening and Management of High Blood Pressure in Children and Adolescents. *Pediatrics* 140:. <https://doi.org/10.1542/peds.2017-1904>
119. Canoy D, Bundred P (2011) Obesity in children. *BMJ Clin Evid* 2011:
120. Pan American Health Organization, World Health Organization. Protocol for Population Level Sodium Determination in 24- hour Urine Samples . Available online: <https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2010/pahosaltprotocol.pdf>



121. Kos M, Nađ T, Stanojević L, et al (2023) Estimation of Salt Intake in Normotensive and Hypertensive Children: The Role of Body Weight. *Nutrients* 15:736. <https://doi.org/10.3390/nu15030736>
122. Mulligan AA, Luben RN, Bhaniani A, et al (2014) A new tool for converting food frequency questionnaire data into nutrient and food group values: FETA research methods and availability. *BMJ Open* 4:e004503. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2013-004503>
123. Shaffer F, McCraty R, Zerr CL (2014) A healthy heart is not a metronome: an integrative review of the heart's anatomy and heart rate variability. *Front Psychol* 5:. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2014.01040>
124. Taralov ZZ, Terziyski K V., Kostianev SS (2016) Heart Rate Variability as a Method for Assessment of the Autonomic Nervous System and the Adaptations to Different Physiological and Pathological Conditions. *Folia Med (Plovdiv)* 57:173–180. <https://doi.org/10.1515/folmed-2015-0036>
125. Šušnjara P, Mihaljević Z, Stupin A, et al (2023) Consumption of Nutritionally Enriched Hen Eggs Enhances Endothelium-Dependent Vasodilation via Cyclooxygenase Metabolites in Healthy Young People—A Randomized Study. *Nutrients* 15:1599. <https://doi.org/10.3390/nu15071599>
126. Cavka A, Jukic I, Ali M, et al (2016) Short-term high salt intake reduces brachial artery and microvascular function in the absence of changes in blood pressure. *J Hypertens* 34:676–84. <https://doi.org/10.1097/HJH.0000000000000852>
127. Shriki J (2014) Ultrasound Physics. *Crit Care Clin* 30:1–24. <https://doi.org/10.1016/j.ccc.2013.08.004>
128. Touboul P-J, Hennerici MG, Meairs S, et al (2012) Mannheim Carotid Intima-Media Thickness and Plaque Consensus (2004–2006–2011). *Cerebrovasc Dis* 34:290–296. <https://doi.org/10.1159/000343145>
129. Doyon A, Kracht D, Bayazit AK, et al (2013) Carotid Artery Intima-Media Thickness and Distensibility in Children and Adolescents. *Hypertension* 62:550–556. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.113.01297>
130. Barić L, Drenjančević I, Mihalj M, et al (2020) Enhanced Antioxidative Defense by Vitamins C and E Consumption Prevents 7-Day High-Salt Diet-Induced Microvascular Endothelial Function Impairment in Young Healthy Individuals. *J Clin Med* 9:843. <https://doi.org/10.3390/jcm9030843>
131. Lurbe E, Agabiti-Rosei E, Cruickshank JK, Dominiczak A, Erdine S, Hirth A, Invitti C,

- Litwin M, Mancina G, Pall D (2016) National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Children and Adolescents (2004) The fourth report on the diagnosis, evaluation and treatment of high blood pressure in children and adolescents. *Pediatrics* 34:1887–1920
132. Jelakovic, B.; Vrdoljak, A.; Pecin, I.; Buzjak, V.; Karanovic, S.; Ivkovic, V.; Dapic, K.; Domislovic, V.; Reiner Z (2016) Less salt—More health. Croatian Action on Salt and Health (CRASH). *J Hypertens Res* 61–68
133. Franks PW, Hanson RL, Knowler WC, et al (2010) Childhood Obesity, Other Cardiovascular Risk Factors, and Premature Death. *N Engl J Med* 362:485–493. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0904130>
134. WHO, Sodium Intakes around the World/Paul Elliott and Ian Brown; Background Document Prepared for the Forum and Technical Meeting on Reducing Salt Intake in Populations, Paris, WHO, Geneva, Switzerland, October 2006, ISBN 978 92 4 159593 5.
135. Aparicio A, Rodríguez-Rodríguez E, Cuadrado-Soto E, et al (2017) Estimation of salt intake assessed by urinary excretion of sodium over 24 h in Spanish subjects aged 7–11 years. *Eur J Nutr* 56:171–178. <https://doi.org/10.1007/s00394-015-1067-y>
136. Marrero NM, He FJ, Whincup P, MacGregor GA (2014) Salt Intake of Children and Adolescents in South London. *Hypertension* 63:1026–1032. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.113.02264>
137. He FJ, Li J, MacGregor GA (2013) Effect of longer term modest salt reduction on blood pressure: Cochrane systematic review and meta-analysis of randomised trials. *BMJ* 346:f1325–f1325. <https://doi.org/10.1136/bmj.f1325>
138. Graudal NA, Hubeck-Graudal T, Jurgens G (2012) Effects of Low-Sodium Diet vs. High-Sodium Diet on Blood Pressure, Renin, Aldosterone, Catecholamines, Cholesterol, and Triglyceride (Cochrane Review). *Am J Hypertens* 25:1–15. <https://doi.org/10.1038/ajh.2011.210>
139. Yang Q, Zhang Z, Kuklina E V., et al (2012) Sodium Intake and Blood Pressure Among US Children and Adolescents. *Pediatrics* 130:611–619. <https://doi.org/10.1542/peds.2011-3870>
140. Cooper R, Soltero I, Liu K, et al (1980) The association between urinary sodium excretion and blood pressure in children. *Circulation* 62:97–104. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.62.1.97>
141. Farajian P, Panagiotakos DB, Risvas G, et al (2015) Dietary and lifestyle patterns in

- relation to high blood pressure in children. *J Hypertens* 33:1174–1181. <https://doi.org/10.1097/HJH.0000000000000536>
142. Tayel DI, El-Sayed NA, El-Sayed NA (2013) Dietary pattern and blood pressure levels of adolescents in Sohag, Egypt. *J Egypt Public Health Assoc* 88:97–103. <https://doi.org/10.1097/01.EPX.0000430963.78876.0a>
143. Miškulin\* M, Periš D, Pavlović N, et al (2019) DIETARY HABITS AND ESTIMATION OF SALT INTAKE IN CROATIAN SCHOOLCHILDREN. *Food Heal Dis Sci J Nutr Diet* 8:33–39
144. Huybrechts I, De Henauw S (2007) Energy and nutrient intakes by pre-school children in Flanders-Belgium. *Br J Nutr* 98:600–610. <https://doi.org/10.1017/S000711450773458X>
145. Glynn L, Emmett P, Rogers I (2005) Food and nutrient intakes of a population sample of 7-year-old children in the south-west of England in 1999/2000 - what difference does gender make? *J Hum Nutr Diet* 18:7–19. <https://doi.org/10.1111/j.1365-277X.2004.00582.x>
146. Rodríguez-Artalejo F, Garcés C, Gorgojo L, et al (2002) Dietary patterns among children aged 6–7 y in four Spanish cities with widely differing cardiovascular mortality. *Eur J Clin Nutr* 56:141–148. <https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1601296>
147. Smpokos EA, Linardakis M, Papadaki A, et al (2014) Differences in energy and nutrient-intake among Greek children between 1992/93 and 2006/07. *J Hum Nutr Diet* 27:230–238. <https://doi.org/10.1111/jhn.12122>
148. Serra-Majem L, Ribas-Barba L, Pérez-Rodrigo C, Bartrina JA (2006) Nutrient adequacy in Spanish children and adolescents. *Br J Nutr* 96:S49–S57. <https://doi.org/10.1079/BJN20061701>
149. Wójcik M, Koziol-Kozakowska A (2021) Obesity, Sodium Homeostasis, and Arterial Hypertension in Children and Adolescents. *Nutrients* 13:4032. <https://doi.org/10.3390/nu13114032>
150. Kelishadi R, Mirmoghtadaee P, Najafi H, Keikha M (2015) Systematic review on the association of abdominal obesity in children and adolescents with cardio-metabolic risk factors. *J Res Med Sci* 20:294–307
151. Janssen I, Katzmarzyk PT, Boyce WF, et al (2005) Comparison of overweight and obesity prevalence in school-aged youth from 34 countries and their relationships with physical activity and dietary patterns. *Obes Rev* 6:123–132. <https://doi.org/10.1111/j.1467-789X.2005.00176.x>

152. Hall JE, do Carmo JM, da Silva AA, et al (2015) Obesity-Induced Hypertension. *Circ Res* 116:991–1006. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.116.305697>
153. Wühl E (2019) Hypertension in childhood obesity. *Acta Paediatr* 108:37–43. <https://doi.org/10.1111/apa.14551>
154. Grimes CA, Riddell LJ, Campbell KJ, Nowson CA (2013) Dietary Salt Intake, Sugar-Sweetened Beverage Consumption, and Obesity Risk. *Pediatrics* 131:14–21. <https://doi.org/10.1542/peds.2012-1628>
155. Woodruff SJ, Fryer K, Campbell T, Cole M (2014) Associations among blood pressure, salt consumption and body weight status of students from south-western Ontario. *Public Health Nutr* 17:1114–1119. <https://doi.org/10.1017/S1368980013000335>
156. Babinska K, Kovacs L, Janko V, et al (2012) Association between obesity and the severity of ambulatory hypertension in children and adolescents. *J Am Soc Hypertens* 6:356–363. <https://doi.org/10.1016/j.jash.2012.08.002>
157. Cho H, Kim JH (2020) Secular trends in hypertension and elevated blood pressure among Korean children and adolescents in the Korea National Health and Nutrition Examination Survey 2007-2015. *J Clin Hypertens* 22:590–597. <https://doi.org/10.1111/jch.13842>
158. Švigelj M, Jančić SG, Močnik M, Varda NM (2021) Body composition obtained by bioelectrical impedance with a nutritional questionnaire in children with chronic kidney disease, obesity, or hypertension. *Clin Nephrol* 96:36–42. <https://doi.org/10.5414/CNP96S07>
159. Marra M, Sammarco R, De Lorenzo A, et al (2019) Assessment of Body Composition in Health and Disease Using Bioelectrical Impedance Analysis (BIA) and Dual Energy X-Ray Absorptiometry (DXA): A Critical Overview. *Contrast Media Mol Imaging* 2019:1–9. <https://doi.org/10.1155/2019/3548284>
160. Drozd D, Kwinta P, Korohoda P, et al (2009) Correlation between fat mass and blood pressure in healthy children. *Pediatr Nephrol* 24:1735–1740. <https://doi.org/10.1007/s00467-009-1207-9>
161. Łątka M, Wójtowicz K, Drożdż T, et al (2016) Relationship between water compartments, body composition assessed by bioelectrical impedance analysis and blood pressure in school children. *Przegl Lek* 73:1–5
162. Dietary Guidelines Advisory Committee. Report of the Dietary Guidelines Advisory Committee on the Dietary Guidelines for Americans, 2010; USDA: Washington, DC, USA, 2011.
163. P K Whelton 1, J He, J A Cutler, F L Brancati, L J Appel, D Follmann MJK (1997)

- Effects of oral potassium on blood pressure. Meta-analysis of randomized controlled clinical trials. *JAMA* 277:1624–32. <https://doi.org/10.1001/jama.1997.03540440058033>.
164. Bailey RL, Parker EA, Rhodes DG, et al (2015) Estimating Sodium and Potassium Intakes and Their Ratio in the American Diet: Data from the 2011–2012 NHANES. *J Nutr* 146:745–750. <https://doi.org/10.3945/jn.115.221184>
  165. World Health Organisation. Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Disease; World Health Organisation: Geneva, Switzerland, 2003.
  166. Beauchamp GK, Mennella JA (2009) Early flavor learning and its impact on later feeding behavior. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 48 Suppl 1:S25-30. <https://doi.org/10.1097/MPG.0b013e31819774a5>
  167. Stein LJ, Cowart BJ, Beauchamp GK (2012) The development of salty taste acceptance is related to dietary experience in human infants: a prospective study. *Am J Clin Nutr* 95:123–129. <https://doi.org/10.3945/ajcn.111.014282>
  168. Mancia G, Fagard R, Narkiewicz K, et al (2013) 2013 ESH/ESC Guidelines for the management of arterial hypertension. *J Hypertens* 31:1281–1357. <https://doi.org/10.1097/01.hjh.0000431740.32696.cc>
  169. Trumbo P, Schlicker S, Yates AA, Poos M (2002) Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein and Amino Acids. *J Am Diet Assoc* 102:1621–1630. [https://doi.org/10.1016/S0002-8223\(02\)90346-9](https://doi.org/10.1016/S0002-8223(02)90346-9)
  170. Ravussin E, Burnand B, Schutz Y, Jéquier E (1982) Twenty-four-hour energy expenditure and resting metabolic rate in obese, moderately obese, and control subjects. *Am J Clin Nutr* 35:566–573. <https://doi.org/10.1093/ajcn/35.3.566>
  171. Kunz I, Schorr U, Klaus S, Sharma AM (2000) Resting Metabolic Rate and Substrate Use in Obesity Hypertension. *Hypertension* 36:26–32. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.36.1.26>
  172. Creber C, Cooper RS, Plange-Rhule J, et al (2018) Independent association of resting energy expenditure with blood pressure: confirmation in populations of the African diaspora. *BMC Cardiovasc Disord* 18:4. <https://doi.org/10.1186/s12872-017-0737-5>
  173. Pedrianes-Martin PB, Perez-Valera M, Morales-Alamo D, et al (2021) Resting metabolic rate is increased in hypertensive patients with overweight or obesity: Potential mechanisms. *Scand J Med Sci Sports* 31:1461–1470. <https://doi.org/10.1111/sms.13955>
  174. Papandreou D, Stamou M, Malindretos P, et al (2007) Prevalence of Hypertension and Association of Dietary Mineral Intake with Blood Pressure in Healthy Schoolchildren

- from Northern Greece Aged 7–15 Years. *Ann Nutr Metab* 51:471–476. <https://doi.org/10.1159/000111169>
175. Geleijnse JM, Grobbee DE, Hofman A (1990) Sodium and potassium intake and blood pressure change in childhood. *BMJ* 300:899–902. <https://doi.org/10.1136/bmj.300.6729.899>
176. Aburto NJ, Hanson S, Gutierrez H, et al (2013) Effect of increased potassium intake on cardiovascular risk factors and disease: systematic review and meta-analyses. *BMJ* 346:f1378–f1378. <https://doi.org/10.1136/bmj.f1378>
177. Maldonado-Martín A, García-Matarín L, Gil-Extremera B, et al (2002) Blood pressure and urinary excretion of electrolytes in Spanish schoolchildren. *J Hum Hypertens* 16:473–478. <https://doi.org/10.1038/sj.jhh.1001424>
178. Meneton P, Lafay L, Tard A, et al (2009) Dietary sources and correlates of sodium and potassium intakes in the French general population. *Eur J Clin Nutr* 63:1169–1175. <https://doi.org/10.1038/ejcn.2009.57>
179. Raphadu TT, Matshipi M, Mphekgwana PM, Monyeki KD (2022) Assessing the Association of Sodium, Potassium Intake and Sodium/Potassium Ratio on Blood Pressure and Central Adiposity Measurements amongst Ellistras Undernourished, Rural Children Aged 5–13 Years: South Africa. *Children* 9:422. <https://doi.org/10.3390/children9030422>
180. Dickinson HO, Nicolson D, Campbell F, et al (2006) Potassium supplementation for the management of primary hypertension in adults. *Cochrane Database Syst Rev*. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD004641.pub2>
181. Dietary Guidelines for Americans 2005. U.S. Department of Health and Human Services U.S. Department of Agriculture
182. Houben AJHM, Martens RJH, Stehouwer CDA (2017) Assessing Microvascular Function in Humans from a Chronic Disease Perspective. *J Am Soc Nephrol* 28:3461–3472. <https://doi.org/10.1681/ASN.2017020157>
183. Egashira K, Suzuki S, Hirooka Y, et al (1995) Impaired Endothelium-Dependent Vasodilation of Large Epicardial and Resistance Coronary Arteries in Patients With Essential Hypertension. *Hypertension* 25:201–206. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.25.2.201>
184. Coulon P, Constans J, Gosse P (2012) Impairment of skin blood flow during post-occlusive reactive hyperhemia assessed by laser Doppler flowmetry correlates with renal resistive index. *J Hum Hypertens* 26:56–63. <https://doi.org/10.1038/jhh.2010.117>

185. Panza JA, Quyyumi AA, Brush JE, Epstein SE (1990) Abnormal Endothelium-Dependent Vascular Relaxation in Patients with Essential Hypertension. *N Engl J Med* 323:22–27. <https://doi.org/10.1056/NEJM199007053230105>
186. Quyyumi AA, Patel RS (2010) Endothelial Dysfunction and Hypertension. *Hypertension* 55:1092–1094. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.109.148957>
187. Daiber A, Steven S, Weber A, et al (2017) Targeting vascular (endothelial) dysfunction. *Br J Pharmacol* 174:1591–1619. <https://doi.org/10.1111/bph.13517>
188. Ambrosino P, Grassi G, Maniscalco M (2021) Endothelial Dysfunction: From a Pathophysiological Mechanism to a Potential Therapeutic Target. *Biomedicines* 10:78. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10010078>
189. Iiyama K, Nagano M, Yo Y, et al (1996) Impaired endothelial function with essential hypertension assessed by ultrasonography. *Am Heart J* 132:779–782. [https://doi.org/10.1016/S0002-8703\(96\)90311-7](https://doi.org/10.1016/S0002-8703(96)90311-7)
190. Gómez-Cerezo J, Ríos Blanco JJ, Suárez García I, et al (2002) Noninvasive Study of Endothelial Function in White Coat Hypertension. *Hypertension* 40:304–309. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.0000030198.48441.65>
191. Celermajer DS (1997) Endothelial Dysfunction: Does It Matter? Is It Reversible? *J Am Coll Cardiol* 30:325–333. [https://doi.org/10.1016/S0735-1097\(97\)00189-7](https://doi.org/10.1016/S0735-1097(97)00189-7)
192. Sun Y, Liu F, Zhang Y, et al (2022) The relationship of endothelial function and arterial stiffness with subclinical target organ damage in essential hypertension. *J Clin Hypertens* 24:418–429. <https://doi.org/10.1111/jch.14447>
193. Ma J, Li Y, Yang X, et al (2023) Signaling pathways in vascular function and hypertension: molecular mechanisms and therapeutic interventions. *Signal Transduct Target Ther* 8:168. <https://doi.org/10.1038/s41392-023-01430-7>
194. Mylona-Karayanni C, Gourgiotis D, Bossios A, Kamper EF (2006) Oxidative stress and adhesion molecules in children with type 1 diabetes mellitus: a possible link. *Pediatr Diabetes* 7:51–59. <https://doi.org/10.1111/j.1399-543X.2006.00147.x>
195. Kattoor AJ, Pothineni NVK, Palagiri D, Mehta JL (2017) Oxidative Stress in Atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep* 19:42. <https://doi.org/10.1007/s11883-017-0678-6>
196. Gallo G, Volpe M, Savoia C (2022) Endothelial Dysfunction in Hypertension: Current Concepts and Clinical Implications. *Front Med* 8:. <https://doi.org/10.3389/fmed.2021.798958>
197. Túri S, Friedman A, Bereczki C, et al (2003) Oxidative stress in juvenile essential

- hypertension. *J Hypertens* 21:145–152. <https://doi.org/10.1097/00004872-200301000-00024>
198. Urbina EM, Khoury PR, McCoy C, et al (2011) Cardiac and Vascular Consequences of Pre-Hypertension in Youth. *J Clin Hypertens* 13:332–342. <https://doi.org/10.1111/j.1751-7176.2011.00471.x>
199. Litwin M, Niemirska A, Śladowska-Kozłowska J, et al (2010) Regression of target organ damage in children and adolescents with primary hypertension. *Pediatr Nephrol* 25:2489–2499. <https://doi.org/10.1007/s00467-010-1626-7>
200. Stabouli S, Papakatsika S, Kotronis G, et al (2015) Arterial stiffness and SBP variability in children and adolescents. *J Hypertens* 33:88–95. <https://doi.org/10.1097/HJH.0000000000000369>
201. Urbina EM, Williams R V., Alpert BS, et al (2009) Noninvasive Assessment of Subclinical Atherosclerosis in Children and Adolescents. *Hypertension* 54:919–950. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.109.192639>
202. Brady TM, Schneider MF, Flynn JT, et al (2012) Carotid Intima-Media Thickness in Children with CKD. *Clin J Am Soc Nephrol* 7:1930–1937. <https://doi.org/10.2215/CJN.03130312>
203. Lande MB, Carson NL, Roy J, Meagher CC (2006) Effects of Childhood Primary Hypertension on Carotid Intima Media Thickness. *Hypertension* 48:40–44. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.0000227029.10536.e8>
204. Litwin M, Trelewicz J, Wawer Z, et al (2004) Intima-media thickness and arterial elasticity in hypertensive children: controlled study. *Pediatr Nephrol* 19:767–774. <https://doi.org/10.1007/s00467-004-1480-6>
205. McGill HC, McMahan CA, Zieske AW, et al (2001) Effects of Nonlipid Risk Factors on Atherosclerosis in Youth With a Favorable Lipoprotein Profile. *Circulation* 103:1546–1550. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.103.11.1546>
206. Sharma M, Kupferman JC, Brosgol Y, et al (2010) The effects of hypertension on the paediatric brain: a justifiable concern. *Lancet Neurol* 9:933–940. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(10\)70167-8](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(10)70167-8)
207. Settakis G, Lengyel A, Molnár C, et al (2002) Transcranial Doppler study of the cerebral hemodynamic changes during breath-holding and hyperventilation tests. *J Neuroimaging* 12:252–8
208. Settakis G, Páll D, Molnár C, et al (2006) Hyperventilation-Induced Cerebrovascular Reactivity among Hypertensive and Healthy Adolescents. *Kidney Blood Press Res*



- 29:306–311. <https://doi.org/10.1159/000097018>
209. Magyar MT, Valikovics A, Bereczki D, et al (2001) Transcranial Doppler Monitoring in Hypertensive Patients during Physical Exercise. *Cerebrovasc Dis* 12:186–191. <https://doi.org/10.1159/000047702>
210. Rodriguez G, Arvigo F, Marengo S, et al (1987) Regional cerebral blood flow in essential hypertension: data evaluation by a mapping system. *Stroke* 18:13–20. <https://doi.org/10.1161/01.STR.18.1.13>
211. Lipsitz LA, Mukai S, Hamner J, et al (2000) Dynamic Regulation of Middle Cerebral Artery Blood Flow Velocity in Aging and Hypertension. *Stroke* 31:1897–1903. <https://doi.org/10.1161/01.STR.31.8.1897>
212. Ross R (1999) Atherosclerosis — An Inflammatory Disease. *N Engl J Med* 340:115–126. <https://doi.org/10.1056/NEJM199901143400207>
213. Hong YM (2010) Atherosclerotic Cardiovascular Disease Beginning in Childhood. *Korean Circ J* 40:1. <https://doi.org/10.4070/kcj.2010.40.1.1>
214. Norlander AE, Madhur MS, Harrison DG (2018) The immunology of hypertension. *J Exp Med* 215:21–33. <https://doi.org/10.1084/jem.20171773>
215. Lee AJ, Mowbray PI, Lowe GDO, et al (1998) Blood Viscosity and Elevated Carotid Intima-Media Thickness in Men and Women. *Circulation* 97:1467–1473. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.97.15.1467>
216. Stensland-Bugge E, Bønaa KH, Joakimsen O (2001) Age and sex differences in the relationship between inherited and lifestyle risk factors and subclinical carotid atherosclerosis: the Tromsø study. *Atherosclerosis* 154:437–448. [https://doi.org/10.1016/S0021-9150\(00\)00486-X](https://doi.org/10.1016/S0021-9150(00)00486-X)
217. Sharp DS, Abbott RD, Burchfiel CM, et al (1996) Plasma Fibrinogen and Coronary Heart Disease in Elderly Japanese-American Men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 16:262–268. <https://doi.org/10.1161/01.ATV.16.2.262>
218. Shankar A, Wang JJ, Rochtchina E, Mitchell P (2006) Positive Association Between Plasma Fibrinogen Level and Incident Hypertension Among Men. *Hypertension* 48:1043–1049. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.0000245700.13817.3c>
219. Watt RK (2011) The many faces of the octahedral ferritin protein. *BioMetals* 24:489–500. <https://doi.org/10.1007/s10534-011-9415-8>
220. Tran TN, Eubanks SK, Schaffer KJ, et al (1997) Secretion of ferritin by rat hepatoma cells and its regulation by inflammatory cytokines and iron. *Blood* 90:4979–86
221. Häfner S, Baumert J, Emeny RT, et al (2013) Hypertension and depressed

- symptomatology: A cluster related to the activation of the renin–angiotensin–aldosterone system (RAAS). Findings from population based KORA F4 study. *Psychoneuroendocrinology* 38:2065–2074. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2013.03.015>
222. Unger T (2002) The role of the renin-angiotensin system in the development of cardiovascular disease. *Am J Cardiol* 89:3–9. [https://doi.org/10.1016/S0002-9149\(01\)02321-9](https://doi.org/10.1016/S0002-9149(01)02321-9)
223. Liu Y, Lin Y, Zhang M-M, et al (2020) The relationship of plasma renin, angiotensin, and aldosterone levels to blood pressure variability and target organ damage in children with essential hypertension. *BMC Cardiovasc Disord* 20:296. <https://doi.org/10.1186/s12872-020-01579-x>
224. Mulatero P, Verhovez A, Morello F, Veglio F (2007) Diagnosis and treatment of low-renin hypertension. *Clin Endocrinol (Oxf)* 67:324–334. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2265.2007.02898.x>
225. Kotsis V, Stabouli S, Papakatsika S, et al (2010) Mechanisms of obesity-induced hypertension. *Hypertens Res* 33:386–393. <https://doi.org/10.1038/hr.2010.9>
226. Falkner B, Gidding SS, Baker-Smith CM, et al (2023) Pediatric Primary Hypertension: An Underrecognized Condition: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Hypertension* 80:. <https://doi.org/10.1161/HYP.0000000000000228>

## 11. ŽIVOTOPIS

### **Osobni podatci:**

**Ime i prezime:** Martina Kos

**Adresa:** Jana Pannoniusa 25, 31 207 Tenja

**mobitel:** +385 98 174 8381

**e-pošta:** mkatic983@gmail.com

**državljanstvo:** hrvatsko

**datum rođenja:** 12. rujna 1983.

### **Obrazovanje:**

2021. poslijediplomski tečaj stalnog medicinskog usavršavanja I. kategorije „Transkranijски ultrazvuk u dojenčadi“, Akademija za razvojnu rehabilitaciju, Zagreb

2019. – danas: PDDS „Biomedicina i zdravstvo“, Medicinski fakultet u Osijeku, Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku

2019. poslijediplomski tečaj stalnog medicinskog usavršavanja I. kategorije „Transkranijски color doppler u djece“, Akademija za razvojnu rehabilitaciju, Zagreb, Klinika za dječje bolesti, Zagreb

2016. poslijediplomski tečaj stalnog usavršavanja I. kategorije „Infant motor profile“, Akademija za razvojnu rehabilitaciju, Zagreb

2012. – 2013. poslijediplomski stručni studij „Klinička pedijatrija“, Medicinski fakultet Zagreb

2008. – 2010. Škola stranih jezika Lingua, Osijek, položen pismeni ispit poznavanja engleskog jezika, razina C1

2002. – 2008. Medicinski fakultet u Osijeku, Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku: doktorica medicine

1998. – 2002. III. (prirodoslovno-matematička) gimnazija, Osijek

### **Zaposlenje:**

2021. – danas: subspecijalistica pedijatrijske neurologije, specijalistica pedijatrica, Klinika za pedijatriju, KBC Osijek

21. 3. 2021. položen subspecijalistički ispit iz pedijatrijske neurologije, Klinika za dječje bolesti, Zagreb

2016. – 2021. subspecijalizacija iz pedijatrijske neurologije, KBC Osijek, KDB Zagreb

2016. – danas: asistentica u nastavi; Katedra za pedijatriju, Medicinski fakultet u Osijeku

10. 7. 2015. položen specijalistički ispit iz pedijatrije, KBC Zagreb

2010. – 2015. specijalizantica pedijatrije, KBC Osijek i KBC Zagreb

2008. – 2009. doktorica medicine, liječnički pripravnički staž, KBC Osijek, Osijek

### **Priznanja i nagrade:**

- 2023. god. Nagrada za treće mjesto za poster-prezentaciju na 16th Annual Symposium of the Croatian Physiological Society with International participation, September 28-30, 2023, Osijek, Croatia

### **Projekti:**

1. 2023. institucijski znanstveno-istraživački projekt Medicinskog fakulteta Sveučilišta J. J. Strossmayera u Osijeku. IP5: „Čimbenici makrovaskularne reaktivnosti kod zdravih mladih sedentarnih ispitanika“, voditeljica projekta: doc. dr. sc. Ivana Jukić, dr. med.
2. 2022. institucijski znanstveno-istraživački projekt Medicinskog fakulteta Sveučilišta J. J. Strossmayera u Osijeku. IP17: „Utjecaj juvenilne esencijalne arterijske hipertenzije na vaskularnu reaktivnost u cerebralnoj cirkulaciji“. Voditeljica: doc. dr. sc. Ivana Jukić, dr. med.
3. 2021. institucijski znanstveno-istraživački projekt Medicinskog fakulteta Sveučilišta J. J. Strossmayera u Osijeku. IP9: „Utjecaj juvenilne esencijalne arterijske hipertenzije na vaskularnu reaktivnost u sistemske cirkulaciji“. Voditeljica: doc. dr. sc. Ivana Jukić, dr. med.

### **Objavljeni znanstveni radovi:**

1. **Kos M**, Nađ T, Stanojević L, Lukić M, Stupin A, Drenjančević I, Pušeljić S, et al. Estimation of Salt Intake in Normotensive and Hypertensive Children: The Role of Body Weight // *Nutrients*, 15 (2023), 736, 12.

2. Kardum Ž, Milas-Ahić J, Šahinović I, Masle AM, Uršić D, **Kos M**. Serum levels of interleukin 17 and 22 in patients with systemic sclerosis: a single-center cross-sectional study. // *Rheumatology International*, 43 (2022), 2; 345-354 doi:10.1007/s00296-022-05250-w.
3. Kardum D, Serdarušić I, Biljan B, Šantić K, Živković V, **Kos M**. Cord blood bilirubin and prediction of neonatal hyperbilirubinemia and perinatal infection in newborns at risk of hemolysis // *Jornal de Pediatria*, 97 (2021.); 440 - 444 doi:10.1016/j.jped.2020.08.009.
4. Tomac V, Pušeljić S, **Kos M**, **Dorner S**, Pavišić Kezan R, Wagner J. Epidemiološka, citogenetička i klinička obilježja djece sa sindromom Down u području Istočne Hrvatske – petnaestogodišnje postnatalno iskustvo. *Paediatr Croat.* 2021;65:67-73; DOI: <http://dx.doi.org/10.13112/PC.2021.11>.

#### **Poglavlja u knjizi:**

1. Jukić I, **Kos M**. Effects of climate on microvascular function in children // *Climate changes and arterial hypertension - global risk ENVIRONMENTAL HYPERTENSIOLOGY* / Jelaković, Bojan (ur.). Zagreb: Medicinska naklada, 2022. str. 39-45.
2. Jukić I, **Kos M**. Effects of climate on microvascular function in children // *Climate changes and arterial hypertension - global risk ENVIRONMENTAL HYPERTENSIOLOGY* / Jelaković, Bojan (ur.). Zagreb: medicinska naklada. str. 39-45.

#### **Kongresna priopćenja, sažetci i poster:**

1. **Kos M**, Stupin A, Šušnjara P, Nađ T, Damašek M, Drenjančević I, Pušeljić S, Jukić I. Essential arterial hypertension attenuated endothelium-dependent microvascular response in pediatric patients. 16th Annual Symposium of the Croatian Physiological Society with International participation, September 28-30, 2023, Osijek, Croatia.
2. Jukić I, Nađ T, Šušnjara P, **Kos M**, Kolobarić N, Hamidović N, Dumančić D, Drenjančević I. The effect of n-3 pufas-enriched chicken meat consumption on

- microvascular vasodilation in healthy young women // *Acta physiologica*, 2023. str. 57-58.
3. **Kos M**, Šušnjara P, Nađ T, Kolobarić N, Stupin A, Drenjančević I, Pušeljić S, Jukić I. Oxidative stress level in children with essential arterial hypertension // 3rd Regional Congress of Physiological Societies and 5th Congress of Croatian Physiological Society: Abstract book. NP Plitvička jezera, Hrvatska, 2022. str. 27-27
  4. **Kos M**, Mihalj M, Hamidović N, Dumančić D, Kolobarić N, Stupin A, Drenjančević I, Pušeljić S, Jukić I. Estimation of daily salt intake in children with essential hypertension // *Journal of Hypertension: June 2022 - Volume 40 - Issue Suppl 1 - p e155* Atena, Grčka, 2022. str. e155-e155 doi:10.1097/01.hjh.0000836920.43945.2b
  5. Jukić I, **Kos M**. Effects of climate on microvascular function in children // "Environmental hypertensiology"- the effects of seasonal changes on blood pressure and global risk. Zagreb, Hrvatska, 2022.
  6. Lazar AM, Zubčić V, Mumlek I, Kvolik Pavić A, Čokolić Petrović D, **Kos M**, Damašek M, Krivdić Dupan Z. Grisel's syndrome and Covid infection in children: two case reports // 26th EACMFS CONGRESS Madrid, Spain, 2022.
  7. **Kos M**, Tomac V, Damašek M, Krivdić Dupan Z, Stupin A, Drenjančević I, Pušeljić S, Jukić I. Does Mom cook the best? // 5. hrvatski kongres o hipertenziji s međunarodnim sudjelovanjem online, 2021. Zagreb, Hrvatska, 2021.
  8. Dupan Krivdić Z, Guljas S, Čokolić Petrović D, **Kos M**. Type of brain lesions as potential predictor of neurobehavioural impairment in individuals with TSC"; ECR 2021.; poster presentation//DOI10.26044/ecr2021/C-11873,
  9. **Kos M**, Čokolić Petrović D, Damašek M. Diferencijalna dijagnoza papile vidnoga živca//48.skup HDDN; 2020. ON LINE SIMPOZIJ,
  10. **Kos M**, Čokolić-Petrović D. Autistični spektar i EEG// 47. Skup HDDN; Split 2019.
  11. Pušeljić S, Wagner J, Škrlec I, Čokolić Petrović D, **Kos M**, Pušeljić N, Milas D, Milas V. A rare de novo duplication 21q22.3 syndrome - case report // International Society for Applied Biological Science, Program and Abstracts / Primorac, Dragan ; Schanfield, Moses ; Pavlović, Stanimir Vuk ; Kayser, Manfred ; Ordog, Tamas (ur.).Zagreb: Grafički zavod Hrvatske d.o.o., 2017. str. 298-298,
  12. Tomac v, Pušeljić S, Wagner J, Škrlec I, Anđelić M, Čokolić Petrović D, **Kos M**, Pušeljić N, Milas D, Milas V. A rare de novo duplication 21q22.3 syndrome – case report // 10th ISABS Conference on Forensic and Anthropologic Genetics and Mayo Clinic Lectures in Individualized Medicine Dubrovnik, Hrvatska: 10th ISABS

Conference on Forensic and Anthropologic Genetics and Mayo Clinic Lectures in Individualized Medicine, 2017. CSHG 10, 1.

13. **Kos M**, Hafner K, Čokolić Petrović D. Tuberozna skleroza//44. Skup HDDN, Split 2016.
14. Aberle N, **Katić M**, Tomac V, Sarka J, Josipović M. Prevalence of arterial hypertension and obesity in seven year old children // *Kidney&Blood Pressure Research*, vol.33, No 6 / Ines Drenjančević, Bojan Jelaković, Akos Koller (ur.). Basel, Švicarska: Karger, 2010. str. 413-441.
15. **Katić M**, Tomac V, Aberle N. Effect of high blood pressure and overweight on plasma lipid levels in seven years old children in eastern Slavonija and Baranja, Croatia // 21 st European meeting on hypertension and cardiovascular prevention. Milano, Italija, 2011.
16. **Katić M**, Tomac V, Aberle N, Križanović K. Učestalost arterijske hipertenzije u sedmogodišnje djece koja žive u urbanim i ruralnim područjima Osječko-baranjske županije // *Paediatrica Croatica*, vol 56, supp 2, 2012 Pula, Hrvatska, 2012.
17. Aberle N, Ivanković I, Arambašić N, Kardum D, **Katić M**, Tomac V, Jović M, Sarka J, Jurković V, Josipović M. Namjerna otrovanja u djece- desetogodišnje iskustvo Klinike za pedijatriju KBC Osijek // *Paediatrica Croatica*, 54 (2010), 2; 120-120.

#### **Klinička ispitivanja:**

1. „Dvogodišnje, dvostruko slijepo, randomizirano, multicentrično ispitivanje s aktivnom kontrolom, u cilju procjene sigurnosti i učinkovitosti oralno primijenjenog fingolimoda jednom dnevno u odnosu na interferon beta-1a primijenjen intramuskularno jednom tjedno u pedijatrijskih bolesnika oboljelih od multiple skleroze“ (CFTY720D2311; 2011-005677-23)
2. Ablynx; 2018. kliničko ispitivanje; respiratorni sincicijski virus

#### **Članstvo u znanstvenim društvima i udrugama:**

- Hrvatsko društvo za dječju neurologiju (HDDN)
- Hrvatski liječnički zbor (HLZ)
- Hrvatska liječnička komora (HLK)

## 12. PRILOZI

### Prilog 1. Upitnik o učestalosti uporabe namirnica

#### UPITNIK O UČESTALOSTI UPORABE NAMIRNICA

U ovom se upitniku traže podatci o Vama, osobito o onome što jedete. Molimo odgovorite na **svako** pitanje. Ako niste sigurni kako odgovoriti na neko pitanje, molimo ne ostavljajte polja prazna, već odgovorite najbolje što možete.

#### 1. VAŠA PREHRANA TIJEKOM PROŠLE GODINE

Za svaku namirnicu prikazana je količina, bilo „srednja porcija“ ili uobičajena jedinica mjere u kućanstvu poput kriške ili žličice. Molimo stavite kvačicu (✓) u odgovarajuće polje kako biste označili koliko ste često, **u prosjeku**, konzumirali točno navedenu količinu svake namirnice **tijekom prošle godine**.

#### PRIMJERI:

Za bijeli kruh količina je jedna kriška, te ako ste jeli 4 ili 5 kriški dnevno, stavite kvačicu u stupac na čijem vrhu piše „4 – 5 dnevno“.

NAMIRNICE I KOLIČINA	PROSJEČNA UPORABA PROŠLE GODINE								
KRUH I SLANA PECIVA (jedna kriška ili komad)	nijednom ili manje od jednom mjesečno	1 – 3 mjesečno	jednom tjedno	2 – 4 tjedno	5 – 6 tjedno	jednom dnevno	2 – 3 dnevno	4 – 5 dnevno	6 ili više dnevno
bijeli kruh i kifle									

Za pomfrit je količina „srednja porcija“, a ako ste konzumirali porciju pomfrita dva puta tjedno, trebali biste staviti kvačicu u stupac na čijem vrhu piše „2 – 4 tjedno“.

NAMIRNICE I KOLIČINA	PROSJEČNA UPORABA PROŠLE GODINE								
KRUMPIR, RIŽA I TJESTENINA (srednja porcija)	nijednom ili manje od jednom mjesečno	1 – 3 mjesečno	jednom tjedno	2 – 4 tjedno	5 – 6 tjedno	jednom dnevno	2 – 3 dnevno	4 – 5 dnevno	6 ili više dnevno
pomfrit									

Za sve sezonsko voće poput jagoda i malina trebali biste procijeniti svoju prosječnu potrošnju tog voća tijekom sezone, a ako ste jeli jagode ili maline oko jednom tjedno tijekom sezone, stavite kvačicu u stupac na čijem vrhu piše „jednom tjedno“.





jetrica, jetrena pašteta									
panirana riba, poput tradicionalne britanske ribe s pomfritom									
riblji štapići/fileti, slane torte/pite s ribom									
ostala bijela riba, svježa ili zamrznuta, npr. bakalar, koljak, list, velika ploča									
plava riba, svježa ili konzervirana, npr. skuša, <i>usoljena dimljena haringa</i> , tuna, losos, srdela, <i>haringa</i>									
školjke i rakovi, npr. kozice, dagnje									
riblja ikra, kavijar									

**MOLIMO VAS, PROVJERITE JESTE LI STAVILI KVAČICU (✓) U SVAKI REDAK.**

**MOLIMO VAS DA STAVITE KVAČICU (✓) U SVAKI REDAK.**

NAMIRNICE I KOLIČINA	PROSJEČNA UPORABA PROŠLE GODINE								
	nijednom ili manje od jednom mjesečno	1 – 3 mjesečno	jednom tjedno	2 – 4 tjedno	5 – 6 tjedno	jednom dnevno	2 – 3 dnevno	4 – 5 dnevno	6 ili više dnevno
<b>KRUHI</b>									
<b>SLANA PECIVA</b> (1 kriška ili komad)									
bijeli kruh i kifle									
crni kruh i kifle									
integralni kruh i kifle									
krekeri s vrhnjem, keksi sa sirom									
dvopek									
<b>ŽITARICE</b> (jedna zdjela ili tanjur)									
zobena kaša									
uobičajene žitarice za doručak, poput kukuruznih pahuljica, misli itd.									
<b>KRUMPIR, RIŽA I TJESTENINE</b> (srednja porcija)									











niskokalorična ili dijetna gazirana bezalkoholna pića (čaša)									
ostala (ne)gazirana bezalkoholna pića, npr. Coca-Cola, limunada (čaša)									
čisti voćni sok (100 %), npr. od naranče ili jabuke (čaša)									
voćni sok ili sirup (čaša)									
<b>VOĆE</b>									
Za sezonsko voće označeno *, molimo procijenite svoj prosječni unos tijekom sezone.									
jabuke (1 komad)									
kruške (1 komad)									
naranče, mandarine (1 komad)									
grejpfrut (pola)									
banane (1 komad)									
grožđe (srednja porcija)									
dinja (1 kriška)									
*breskve, šljive, marelice (1 komad)									
*jagode, maline, kivi (srednja porcija)									
konzervirano voće (srednja porcija)									
suho voće, npr. groždice, šljive (srednja porcija)									
	nijednom ili manje od jednom mjesečno	1 – 3 mjesečno	jednom tjedno	2 – 4 tjedno	5 – 6 tjedno	jednom dnevno	2 – 3 dnevno	4 – 5 dnevno	6 ili više dnevno

**MOLIMO VAS, PROVJERITE JESTE LI STAVILI KVACICU (√) U SVAKI REDAK.**



MOLIMO VAS, STAVITE KVAČICU (✓) U SVAKI REDAK.

NAMIRNICE I KOLIČINA	PROSJEČNA UPORABA PROŠLE GODINE								
	nijednom ili manje od jednom mjesečno	1 – 3 mjesečno	jednom tjedno	2 – 4 tjedno	5 – 6 tjedno	jednom dnevno	2 – 3 dnevno	4 – 5 dnevno	6 ili više dnevno
POVRĆE									
svježe, smrznuto ili konzervirano (srednja porcija)									
mrkva									
špinat									
brokula, kelj									
prokulica									
kupus									
grašak									
mahunе, bob, grah									
buče, tikvice									
cvjetača									
pastirjak, repa									
poriluk									
crni luk									
češnjak									
gljive									
slatka paprika									
klice mahunarki									
zelena salata, krastavac, celer									
potočarka									
rajčica									
kukuruz šećerac									
cikla									
kupus salata									
avokado									
konzervirani grah u umaku od rajčice									
suha leća, mahunarke									
tofu(sir od soje), soja, sojine ljuspice, vegetarijanska pljeskavica									
	nijednom ili manje od jednom mjesečno	1 – 3 mjesečno	jednom tjedno	2 – 4 tjedno	5 – 6 tjedno	jednom dnevno	2 – 3 dnevno	4 – 5 dnevno	6 ili više dnevno

MOLIMO VAS, PROVJERITE JESTE LI STAVILI KVAČICU (✓) U SVAKI REDAK.

**VAŠA PREHRANA TIJEKOM PROŠLE GODINE, nastavak**

2. Postoje li još neke (**nenavedene**) namirnice koje ste konzumirali više od jednom tjedno?

Da. Ne.

Ako postoje, molimo Vas da ih navedete u tablici ispod.

Namirnica	Uobičajena veličina porcije	Koliko ste je puta konzumirali tjedno?

3. Koju ste vrstu mlijeka najčešće konzumirali?

**Izaberite samo 1 odgovor.**

punomasno	u prahu
djelomično obrano	sojino
obrano	nijedno
mlijeko s dodanim vitaminima	
neko drugo, navedite koje _____	

4. Koliko ste mlijeka dnevno pili, uključujući i mlijeko u čaju, kavi, žitaricama...?

ništa	oko 4 dl
oko 1,5 dl	oko 0,5 l
oko 3 dl	više od 0,5 l

5. Jeste li obično jeli žitarice za doručak (ne računajući slatku zobenu kašu i slične gotove obroke / čokolino)?

Da. Ne.

**Ako jeste**, koju ste vrstu i marku žitarica, uključujući misle, obično jeli?

**Navedite 1 ili 2 vrste najčešće korištenih.**

marka / proizvođač, npr. Fun&Fit	vrsta, npr. kukuruzne pahuljice

6. Koje ste masnoće najčešće koristili za prženje, pečenje u pećnici, na roštilju itd.?

**Izaberite samo 1 odgovor.**

maslac	biljna mast (čvrsta)
svinjska mast / mast od pečenja	margarin
biljno ulje	nikakve

**Ako ste koristili biljno ulje**, molimo navedite vrstu, npr. kukuruzno, suncokretovo...

\_\_\_\_\_

7. Koje ste masnoće najčešće koristili za pečenje kolača i sl.? **Izaberite samo 1 odgovor.**

maslac	biljna mast (čvrsta)
svinjska mast/mast od pečenja	margarin
biljno ulje	nikakve

**Ako ste koristili margarin,** molimo navedite vrstu, npr. Zvijezda, Omegol...

\_\_\_\_\_

8. Koliko ste često jeli hranu koja je bila pržena kod kuće?

svakodnevno	1 – 3 puta tjedno
4 – 6 puta tjedno	manje od jednom tjedno
nikada	

9. Koliko ste često jeli hranu koja je bila pržena izvan kuće?

svakodnevno	1 – 3 puta tjedno
4 – 6 puta tjedno	manje od jednom tjedno
nikada	

10. Što ste radili s vidljivom masnoćom na mesu?

pojeli većinu	pojeli što manje
pojeli dio	niste jeli meso

11. Koliko ste često jeli meso pečeno u pećnici ili na roštilju? \_\_\_\_\_ puta tjedno.

12. Koliko je dobro pečeno bilo meso koje ste konzumirali iz pećnice ili s roštilja?

reš pečeno / tamnosmeđe	polupečeno/krvavo
srednje pečeno	niste jeli meso

13. Koliko ste često dodavali sol u hranu tijekom kuhanja?

uvijek	rijetko
obično	nikada
ponekad	

14. Koliko ste često dodavali sol u bilo koju posluženu hranu?

uvijek	rijetko
obično	nikada
ponekad	

