

Utjecaj vegetarijanske prehrane i polimorfizma C677T gena metilentetrahidrofolat-reduktaze na razinu vitamina B12, folata i homocisteina

Zec-Sambol, Silvija

Doctoral thesis / Disertacija

2012

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Rijeka, Faculty of Medicine / Sveučilište u Rijeci, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:188:183985>

Rights / Prava: [Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Nekomercijalno-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-24**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the University of Rijeka Library - SVKRI Repository](#)



1. UVOD

Vegetarijanstvo postaje sve popularnije posljednjih nekoliko desetljeća i pobuđuje interes znanstvenika. Prema zdravstvenim istraživanjima vegetarijanski oblici prehrane nutricionistički pružaju čitav niz prednosti. U to se ubrajaju niske vrijednosti zasićenih masnoća, kolesterola i bjelančevina životinjskog porijekla, kao i visok sadržaj ugljikohidrata, balastnih tvari, magnezija, kalija, folata, antioksidansa kao što su vitamini C i E te fitokemikalija. Prije dvadesetak godina, u žarištu je bilo istraživanje nutritivne uravnoteženosti ovakve prehrane, odnosno zadovoljava li ovakva prehrana potrebe ljudskog organizma, dok se u današnje doba provode studije koje razmatraju vegetarijanstvo kao prevenciju i terapiju niza kroničnih bolesti. Zbog svojih karakteristika, vegetarijanska prehrana bitno doprinosi prevenciji kroničnih bolesti (1) međutim, često se zbog neadekvatnog statusa vitamina B12 i folne kiseline kojeg osiguravaju jedino namirnice životinjskog podrijetla, kod vegetarijanaca javlja čimbenik rizika: povećana razina homocisteina (2).

Homocistein je prepoznat kao jedan od važnih faktora rizika za nastanak i razvitak kardiovaskularnih bolesti (3), a posljednjih nekoliko godina istražuje se i kao novi čimbenik rizika za pojavu osteoporoze (4) te mnogih drugih kroničnih bolesti. Najbolji pokazatelj da je to stvarno tako, predstavlja veliki porast broja radova objavljenih o homocisteinu koji je počeo krajem 90-tih godina da bi samo u toku 2009. godine, po podacima baze podataka SCOPUS, bilo objavljeno preko 1200 radova koji ili u naslovu ili u ključnoj riječi imaju homocistein.

Važnost poznavanja mjesta, uloge, kao i zastupljenosti povišenih koncentracija ove aminokiseline u patogenezi kardiovaskularnih drugih bolesti je tim veća jer je korekcija hiperhomocisteinije moguća jednostavnom suplementacijskom dijetom uz dodatak vitamina B6, B12 i folne kiseline. Ovime se otvara mogućnost relativno jednostavne, učinkovite i bezopasne terapije za otklanjanje jednog od čimbenika rizika za nastanak ovih oboljenja.

Nutritivni čimbenici imaju veliki utjecaj na koncentraciju homocisteina i predstavljaju, pored genetskih čimbenika, najvažnije uzroke povišenih koncentracija ove aminokiseline. Noviji literaturni podaci ukazuju da je kombinacija genetskog poremećaja (mutacija C677T gena) u sintezi enzima 5,10-metilentetrahidrofolat reduktaze (MTHFR), cistationin sintaze (CBS) ili metionin sintaze (MS), nedostatak folne kiseline i vitamina B12 čest uzrok umjerene hiperhomocisteinemije (5). Mutacija C677T gena za MTHFR kod homozigota smanjuje aktivnost ovog enzima za 70%, a kod heterozigota za 30%. Ovaj poremećaj povezan je s povećanim rizikom za arterijsku bolest srca, vensku trombozu, moždani udar i ishemijsku osteonekrozu. Nadomjesna terapija folnom kiselinom može smanjiti učinak ove mutacije na koncentraciju homocisteina (6). Nasljedni nedostatak gena za sintezu MTHFR je autosomno recesivni poremećaj i najčešći urođeni poremećaj metabolizma folne kiseline (7). Učestalost mutacije C677T gena MTHFR je specifična za pojedinu populaciju. Najviša učestalost mutiranog alela nađena je kod francuskih Kanađana (38%), dok se kod drugih populacija učestalost kreće od 25-38% (33% Japanci, 29% Norvežani, 27% Šveđani, 24% Nizozemci). Najniža učestalost od 10% nađena je kod afričkih Amerikanaca (8). U studiji objavljenoj 2004. godine, provedenoj na 228 hrvatskih dobrovoljaca pronađeno je 9,21% homozigota (T/T), 44,74% heterozigota (C/T) za mutaciju i 46,05% nositelja divljeg tipa (C/C) (9). Ovi rezultati su u skladu s učestalošću mutacija u europskoj populaciji.

Drugi rizici kao što su: pušenje, konzumacija alkohola i kofeina, lijekovi i nedovoljno tjelesnog vježbanja, manje ili gotovo uopće nisu prisutni u vegetarijanaca za razliku od nevegetarijanaca (10,11). Način života vegetarijanaca koji isključuje konzumaciju alkohola i pušenja te uključuje vježbanje joge, razlikuje ih od nevegetarijanaca iste dobi i spola te utječe na dobivene rezultate kliničkih i laboratorijskih istraživanja. Pojava da su povišene koncentracije homocisteina udružene s brojnim i vrlo različitim oboljenjima možda sa svoje strane s pravom ukazuje da je održavanje njegove koncentracije u granicama referentnih vrijednosti neophodna za zdrav život, za održavanje zdravlja te ga prati i ujedno je i njegov pokazatelj.

Adekvatna, pravilna ili optimalna prehrana je ona koja osigurava dovoljno energije i esencijalnih nutrijenata. U razvijenim zemljama definiciji se dodaje i smanjenje rizika od kroničnih bolesti (12). Prehrana ima velik utjecaj na bolesti koje su vodeći uzroci smrtnosti (13) i postoji znanstveni konsenzus kako najbolju zaštitu osigurava obilje namirnica biljnog podrijetla.

1.1. Vegetarijanstvo kroz povijest

Od početka pisane povijesti nalazimo kako je vegetarijanska prehrana bila poštivana kao prirodna prehrana čovječanstva. Stari Grci, Egipćani i Hebreji opisali su ljudska bića kao ona koja jedu voće. Mudri sveti drevnog Egipta nikada nisu jeli meso. Tijekom povijesti čovječanstva, zagovornici vegetarijanstva isticali su moralne i duhovne prednosti odricanja od životinjskog mesa. Drevni mislioci Ovidije i Plutarh nisu odobravali ubijanje nevinih životinja, što govori da ideja o vegetarijanstvu seže u najdalju ljudsku povijest. Grčki filozof Pitagora, koji je živio krajem 6. stoljeća prije Krista poučavao je kako «meso divljih zvijeri kontaminira i brutalizira dušu». Takva pitagorejska etika širila se nadalje između 490 i 430 g. prije Krista, a želja joj je bila stvoriti univerzalne zakone prema kojima se ne bi smjela ubijati živa bića, niti jesti njihovo meso. Vegetarijanci su bili poznati kao Pitagorejci sve do sredine devetnaestog stoljeća. Dok su filozofi stoljećima razglabali o moralnim i duhovnim blagodatima ovakve prehrane, ideja o blagotvornom utjecaju vegetarijanstva na zdravlje rodila se tek u devetnaestom stoljeću. Londonski liječnik i stručnjak za prehranu, dr. William Lambe, izliječio se od teške i dugotrajne bolesti slijedeći bezmesnu prehranu. Ohrabren svojim iskustvom, uveo je istu dijetoterapiju svojim pacijentima, a njegovu ideju prihvatili su i neki njegovi kolege. U isto to doba, u Americi je provedena reforma zdravstva koju je pokrenuo prezbiterijanski svećenik Sylvester Graham, poznatiji kao otac graham-peciva. Graham je također bio vegetarijanac, a posebno se zalagao za korištenje integralnog brašna (14).

Pitagorejska prehrana službeno je promijenila naziv u vegetarijanska 1847. godine na sastanku u engleskom primorskom gradu Ramsgate-u. Sa tog sastanka proizašlo je Vegetarijansko društvo, odnosno Vegetarian Society, čiji su se ogranci uskoro proširili u Manchester i London, a koje i danas djeluje kao krovna udruga sličnima. Osnivanje britanskog društva ponukalo je Grahama da organizira sličnu organizaciju u Americi te je American Vegetarian Society utemeljeno 1850. godine. Krajem 19. stoljeća, John Harvey Kellog, adventist i otac popularnih pahuljica koje nose njegovo prezime, proveo je pravu marketinšku kampanju kako bi Amerikancima ukazao na prednosti vegetarijanstva. Tijekom 19. i 20. stoljeća znanstvenici su nastavili s vrednovanjem zdravstvenih prednosti ovakvog načina prehrane. Međutim, iako je broj znanstvenih dokaza o povoljnom utjecaju ovakve prehrane na zdravlje čovjeka znatno porastao, vegetarijanstvo se još uvijek marginalizira čak i u kasnim sedamdesetim godinama dvadesetog stoljeća smatra se supkulturom te prehranom djece cvijeća i vjerskih fanatika.

1.2. Vrste vegetarijanstva

Vegetarijanski izbor prehrane ima nekoliko varijacija. Ljudi odabiru vegetarijansku prehranu iz različitih razloga. Često se odlučuju na takav stil života iz religijskih ili kulturoloških razloga, u svrhu zaštite zdravlja ili zbog zabrinutosti za glad u svijetu. Kao razlozi odabira ovakve prehrane navode se i težnja za zaštitom okoliša i životinja te ekonomski razlozi (cijena mesa).

Suvremena interpretacija vegetarijanstva uključuje širok raspon prehrambenih uzoraka koji se razlikuju po stupnju apstinencije od hrane životinjskog podrijetla.

Prema angloameričkom sustavu vegetarijanska usmjerenja svrstana su u nekoliko skupina.

Semivegetarijanci ili vegiji su ljudi koji jedu perad i / ili ribu. Neke znanstvene studije identificirale su semivegetarijance kao samoopisane vegetarijance koji jedu meso, ali je u njihovoj prehrani dominantno zastupljena vegetarijanska prehrana. Teoretski, ljudi koji jedu

puno povrća mogu se smatrati semivegetarijancima, kao i oni koji povremeno jedu ribu i perad, a izbjegavaju ostalo meso.

Laktoovovegetarijanci isključuju sve mesne proizvode i prerađevine, ribu i perad, ali od namirnica životinjskog podrijetla uključuju jaja, mlijeko i mliječne proizvode.

Laktovegetarijanstvo isključuje sve mesne proizvode i prerađevine, ribu i perad te jaja. Od namirnica životinjskog podrijetla uključuje mlijeko i mliječne proizvode. Više je razloga zbog kojih laktovegetarijanci isključuju jaja iz svoje prehrane; neki ih izbjegavaju zbog kolesterola, a neki zbog alergijskih reakcija. Drugi eliminiraju jaja iz samilosti prema životinjama koje se uzgajaju i ubijaju u uvjetima tvorničkih farmi. Neki ih ne jedu iz spiritualnih razloga, npr. vedska filozofija smatra ih organom reprodukcije i samim tim predstavljaju potencijalni život. Prema stručnim zaključcima, laktovegetarijanstvo je najprihvatljivije, posebice za djecu i adolescente jer je mogućnost deficita određenih kritičnih mikronutrijenata, kao što su vitamini D i B12 neznatna.

Veganstvo je način vegetarijanske prehrane koje isključuje u potpunosti sve namirnice životinjskog podrijetla, mlijeko i mliječne proizvode te med. Uglavnom zbog etičkih razloga ljudi postaju vegani. Ne žele pridonijeti iskorištavanju i ubijanju životinja iz bilo kojeg razloga. Veganima se preporučuje da pripaze na dovoljan unos vitamina D i B12, a takva pravilno planirana veganska prehrana pruža sve potrebne hranjive sastojke za sve životne cikluse.

Uz navedene glavne skupine vegetarijanstva, postoji nekoliko škola, a razlikuju se obično prema podneblju iz kojeg dolaze i čiju filozofiju u sebi sadrže. U te škole ubrajamo:

Makrobiotika, koja se pojavila na Istoku kao manje poznata varijacija vegetarijanstva. Makrobiotika ne predstavlja samo način prehrane, nego i samosvjestan način života u harmoniji s prirodom.

Ayurveda, je drevni indijski sustav liječenja koji obuhvaća način prehrane i liječenja kao jednako važne i međusobno ovisne. Prehrana temeljena na ayurvedskim principima razlikuje se od osobe do osobe, ovisi o individualnoj konstituciji, tjelesnim obilježjima i temperamentu.

Sirovojedstvo, tip veganske prehrane koja uključuje vrlo malo procesirane ili kuhane hrane. Prehrana se uglavnom sastoji od voća, oraha, sjemenki i sirovog povrća.

Što je prehrana restriktivnija, veća je mogućnost nedostataka pojedinih nutrijenata. Znanost podržava preventivne aspekte 3 vrste vegetarijanske prehrane na pojavu kroničnih bolesti.

Prihvatljivo je semivegetarijanstvo, laktoovovegetarijanstvo i laktovegetarijanstvo. Semivegetarijanci povremeno konzumiraju ribu i perad. Ovaj prehrambeni uzorak neodoljivo podsjeća na mediteransku prehranu, "zlatni standard" pravilne prehrane koji zdušno podupiru medicinska i nutricionistička zajednica. Veganstvo je zbog svoje restriktivnosti upitno te je moguća pojava deficita izvjesnih nutrijenata, posebice vitamina B12, D, esencijalnih masnih kiselina, kalcija i željeza. Pojavu deficita moguće je izbjeći pravilnim planiranjem prehrane i dodavanjem vitamina B12 koji je zastupljen isključivo u životinjskim izvorima.

1.3. Vegetarijanstvo i zdravlje

1.3.1. Prehrambeno- fiziološke osobitosti vegetarijanske prehrane

Prije četrdeset godina, provedena je opsežna studija na 27.530 adventista, koji su svoju prehranu temeljili na biljnoj hrani (15). Ova studija prvi puta je javno iznijela vezu između prehrane i zdravlja. Istraživači su bili ugodno iznenađeni činjenicom da je stopa smrtnosti od raka u ovoj skupini bila 50-70% niža nego u ostatku Amerike. Koncept vegetarijanstva kao prevencije brojnih bolesti danas je prilično dobro dokumentiran te se iz pregleda recentne literature može zaključiti kako vegetarijanci imaju manju stopu smrtnosti kao i manju stopu pobola od nekih kroničnih degenerativnih bolesti u usporedbi s nevegetarijancima. Težinu ovome iskazu daje pregled studija koji su 1999. godine objavljene u *American Journal of Clinical Nutrition*. Gary E. Fraser i suradnici proučavali su utjecaj prehrane na zdravlje u 35 000 kalifornijskih adventista (16). Uočili su da je značajno niža učestalost kroničnih bolesti poput pretilosti, povišenog krvnog tlaka, šećerne bolesti, artritisa, raka kolona, raka prostate i ishemijske bolesti srca u vegetarijanaca (osoba koje nisu konzumirale crveno meso, perad i ribu) u odnosu na skupinu koja je konzumirala meso. Iste te godine, T.J. Key, G.E. Fraser i suradnici analizirali su rezultate pet studija u koje je bilo uključeno ukupno 76 000 ispitanika (17). Tim studijama znanstvenici su nastojali dovesti u vezu vegetarijanski način prehrane i učestalost bolesti. Najznačajniji zaključak do kojeg su došli sažet je u činjenici da je mortalitet zbog ishemijske bolesti srca bio 24% niži u vegetarijanaca, nego u osoba koje konzumiraju meso. Ova dva znanstvena rada najčešće se citiraju kada se govori o utjecaju vegetarijanske prehrane na zdravlje.

Temelj vegetarijanske prehrane čine žitarice, mahunarke, povrće i voće, što ujedno znači i povišen unos zaštitnih tvari- prehrambenih vlakana, vitamina, minerala i fitokemikalija. Zbog smanjenog udjela namirnica životinjskog podrijetla, vegetarijanska prehrana je siromašnija zasićenim masnoćama, kolesterolom i proteinima životinjskog podrijetla (16). Skupina znanstvenika s Instituta za humanu prehranu u Adelaidu, Australija usporedila je

utjecaj laktoovovegetarijanske prehrane i uravnotežene prehrane s malo nemasnog mesa na pojavu kardiovaskularnih bolesti. U studiju su uključili 25 muškaraca, a njihov osnovni zaključak je bio kako laktoovovegetarijanska prehrana ima znatno bolji učinak na sniženje razine kolesterola od pravilne prehrane koja uključuje male količine nemasnog mesa. Oba tipa prehrane imala su sličan utjecaj na sniženje povišenog krvnog tlaka (18). Znanstvenici primjećuju kako je prehrana osoba koje konzumiraju meso znatno bogatija zasićenim mastima te je u tih osoba povišena razina kolesterola, a imaju i viši indeks tjelesne mase od vegetarijanaca (19-21).

U časopisu *Nutrition*, 2000. godine objavljen je članak u čijem je žarištu razina antioksidansa u organizmu vegetarijanaca u odnosu na svejede. Vođeni idejom da je prehrana vegetarijanaca izrazito bogata voćem, povrćem i žitaricama, finski znanstvenici odlučili su proučiti status antioksidansa u organizmu vegetarijanaca (17). Osnovni izvori glavnih prehrambenih antioksidansa - vitamina C i E, beta-karotena i elemenata u tragovima, su voće, povrće, žitarice, orašasti plodovi i mahunarke. Antioksidansi su molekule koje štite stanične strukture od štete koju uzrokuju slobodni radikali. Ova oštećenja smatraju se jednim od osnovnih uzročnika brojnih degenerativnih bolesti poput karcinoma i kardiovaskularnih bolesti. Temeljem pregleda velikog broja manjih studija, znanstvenici su došli do zaključka da je razina antioksidansa – vitamina C, E i beta-karotena u krvi vegetarijanaca znatno viša nego u svejeda (22). Minerali i elementi u tragovima: bakar, cink i selen koji također posjeduju antioksidativnu aktivnost nisu pokazali povišene vrijednosti, budući da značajan dio ovih elemenata potječe iz hrane životinjskog porijekla. Osnovna postavka ovih finskih znanstvenika je da visok unos hrane biljnog porijekla pruža vegetarijancima znatno bolju antioksidativnu zaštitu od one koju imaju svejedi (23). Ističu kako antioksidativna moć nije jedini mehanizam koji štiti vegetarijance i napominju značaj fitokemikalija – nenutritivnih tvari porijeklom iz bilja - čija se djelovanja intenzivno istražuju.

Osim prehrambenih navika i životni stil utječe na antioksidativni status. Izloženost stresu, konzumacija alkohola, pušenje i tjelesna aktivnost čimbenici su koji su mahom

povoljni u vegetarijanaca te također pridonose visokoj razini antioksidansa. Nema jasnih dokaza koji pokazuju da vegetarijanska prehrana u kombinaciji s zdravim životnim stilom bolje štiti od bolesti u usporedbi s miješanom prehranom s visokim udjelom voća i povrća kojoj je također pridružen zdrav životni stil (24,25).

Vegetarijanska prehrana je zdravstveno prihvatljiva i može osigurati sve potrebne nutrijente, ali samo ako je pravilno planirana. Tijekom dojenja, djetinjstva, adolescencije, trudnoće i kod osobe starije dobi posebnu pažnju treba posvetiti planiranju prehrane koja ne bi smjela biti suviše restriktivna.

1.3.2. Vegetarijanska prehrana i kritični nutrijenti

Osobe koje su iz prehrane izbacile sve životinjske proizvode mogu imati poteškoća kod zadovoljavanja svojih dnevnih potreba za proteinima, cinkom i željezom. Meso i mesni proizvodi "praktičan" su izvor ovih nutrijenata, a prehrana koja isključuje ove namirnice zahtijeva malo više planiranja. Stoga je pravilno planiranje ovdje od izuzetne važnosti, pogotovo kod veganske prehrane. Ipak, ukoliko je pravilno izbalansirana, veganska prehrana može osigurati sve potrebne nutrijente, osim vitamina B12.

1.3.2.1. Vitamin B12

Loše planirana vegetarijanska prehrana može rezultirati deficitom vitamina B12, budući da se vitamin B12 nalazi samo u proizvodima životinjskog podrijetla. Tempeh, miso i spirulina ne smatraju se pouzdanim izvorom vitamina B12. Vegani stoga moraju nadoknaditi ovaj vitamin hranom obogaćenom vitaminom B12 ili uzimanjem vitamina B12 putem dodataka prehrani.

U radu o statusu vitamina B12 u vegetarijanaca iznijete su činjenice o potencijalnoj štetnosti niske razine vitamina B12 u krvi vegetarijanaca (26). Naime, niska razina vitamina B12 i folne kiseline odgovorna je za povišenu razinu homocisteina koji predstavlja snažan neovisni čimbenik rizika za pojavu ateroskleroze i bolesti srca (27). Trajno niska razina vitamina B12 uzrokuje nepovratna neurološka oštećenja. U dojenčadi majki veganki i makrobiotičarki primjećena je povišena razina homocisteina i niska razina vitamina B12 (28). U svrhu olakšavanja plana vegetarijanske prehrane formirane su piramide pravilne prehrane za vegetarijance i vegane. Starije osobe imaju često niži status vitamina B12 zbog slabije apsorpcije uslijed hipo ili anacidoze te manjka unutarnjeg faktora (29).

Hiperhomocisteinemija je česta među vegetarijancima zbog nedovoljnog unosa vitamina B12 i subkliničkog manjka vitamina B12. Osim kod vegetarijanaca, manjak vitamina B12 je češće posljedica malapsorpcije nego nedovoljnog unosa (30). Vitamin B12 je po mnogočemu fascinantna nutrijent: njegov ultimativni izvor je mikrobna sinteza, sadrži vezu ugljik-metal, njegova je apsorpcija neobično strogo regulirana, a istraživanja o vitaminu B12 su popraćena s tri Nobelove nagrade. Kobalamini vezani za proteine iz hrane se oslobađaju združenim djelovanjem klorovodika i pepsina u želucu (31) Želučani sokovi sadrže i haptokorin te glikoprotein unutarnji faktor. Haptokorin veže i analoge kobalamina, dok unutarnji faktor veže vitamere (vitaminske oblike) vitamina B12. Haptokorin je iz sline, a unutarnji faktor luče parijetalne stanice želuca. Kobalamin napušta želudac vezan za haptokorin praćen slobodnim unutarnjim faktorom i dopijeva u dvanaesnik. U alkalnoj sredini jejunuma, proteaze gušterače uključujući tripsin, degradiraju kompleks kobalamin-haptokorin i kobalamin preuzima unutarnji faktor. Novi kompleks dopijeva u ileum i veže se za specifične receptore enterocita. Kompleks se apsorbira intaktan, a cijeli mehanizam još nije sasvim razjašnjen. Kapacitet apsorpcije je ograničen na 1,5-3 µg. Apsorpcija je moguća i jednostavnom difuzijom u količini od 1-3% vitamina iz hrane pa primjena farmakoloških doza vitamina u obliku slobodnog kobalamina osigurava fiziološki dostatnu količinu. Apsorpcija ovisi o dozi i iznosi > 70% za unos 0,1-0,5 µg i opada na 3% za doze 25-50 µg. Za razliku od

drugih vitamina topljivih u vodi, postoje rezerve vitamina B12 od kojih je 80% u jetri i ukupno iznose 2000-5000 µg. Zbog djelotvornog očuvanja vitamina B12 enterohepatalnim kruženjem, manjak se javlja nakon nakon 2-3 godine kao posljedica malapsorpcije. Vegani mogu vitamin B12 hranom unijeti jedino slučajno, putem gomolja ili povrća kontaminiranog mikroorganizmima. EPIC-Oxford studija navodi unos vitamina B12 od 0,4 µg za vegane, 2,6 µg za laktoovovegetarijance, 5,0 µg one koji konzumiraju ribu i 7 µg, 2 µg za nevegetarijance (32). Razinu homocisteina iznad 15 µmol/L ima 29 % odnosno 53% slovačkih vegetarijanaca odnosno vegana (33); razinu iznad 12 µmol/L ima 53% odnosno 66% austrijskih vegetarijanaca odnosno vegana (34).

Nacionalne preporuke za unos vitamina B12 se razlikuju od zemlje do zemlje. Preporučeni unos u SAD- u iznosi 2,4 µg za odrasle te 2,8 µg za dojilje, dok u Njemačkoj preporuke iznose 3 µg vitamina B12 dnevno. Preporučeni se unos temelji na činjenici da se prosječno apsorbira oko 50% unešenog vitamina.

Budući da vegetarijanci, a osobito vegani u pravilu unose dovoljno vitamina B12 kako se ne bi razvili klinički simptomi deficita poput anemije i oštećenja živčanog sustava, ali ne i dovoljno da se minimizira potencijalni rizik od bolesti srca i krvnih žila te komplikacija u trudnoći, njima se preporuča jedno od sljedećega:

- konzumacija obogaćene hrane dva ili tri puta dnevno kako bi se organizmu osiguralo barem 3 µg vitamina B12 svaki dan, ili
- dnevni unos dodatka prehrani koji osigurava barem 10 µg vitamina B12, ili
- tjedni unos dodatka prehrani koji osigurava barem 2 000 µg vitamina B12.

Bilo koja od navedene tri opcije trebala bi zadovoljiti potrebe većine osoba s normalnim metabolizmom vitamina B12. Osobama s oslabljenom apsorpcijom vitamina B12 najbolje odgovara treća metoda.

Iz svega navedenoga može se zaključiti da dobro informirani vegetarijanci i vegani koji su pažljivo isplanirali svoju prehranu ne moraju strahovati od deficita vitamina B12. Važno je imati na umu da se niti jedan obrok ne smije propustiti te da hrana koja se konzumira mora biti raznolika.

1.3.2.2. Folna kiselina

Folna kiselina naziva vitamin B9, jedan je od vitamina B skupine koji se naziva i folacin, (a cijela grupa folati), važan je čimbenik za sintezu DNK i konverziju nekih aminokiselina. Ime potječe od latinske riječi *folium* što znači list, jer se osobito nalazi u zelenom lisnatom povrću (prvi put je izolirana 1940-tih iz špinata).

Poznato je da je folna kiselina prijeko potrebna trudnicama zbog svojeg djelovanja na stvaranje i razvoj stanica, ali novija istraživanja pokazuju da je od velike pomoći i oboljelima od kardiovaskularnih bolesti.

Folna kiselina djeluje s vitaminom B12 i vitaminom C u razgradnji i iskorištenju proteina. Sudjeluje u izgradnji hema te je potrebna za stvaranje nukleinske kiseline neophodne za rast i razvoj svih stanica tijela.

Folna kiselina možemo naći u zelenom povrću (špinat, šparoge, blitva, peršin, brokula), grahu, leći, orasima i jetri. Važna je u mnogim metaboličkim procesima i nužna za diobu stanica, osobito u procesima diferencijacije i rasta stanica embrija. Zbog toga su potrebe za folnom kiselinom u trudnoći toliko povećane da se ne mogu zadovoljiti uobičajenim unosom hrane, već je potrebno dodatno je unositi. Njezin manjak jedan je od glavnih čimbenika nastanka opasne malformacije embrija - defekta neuralne cijevi. Zbog toga ginekolozi i pedijatri preporučuju uzimanje folne kiseline najmanje mjesec dana prije planirane trudnoće, pa sve do kraja prvog tromjesečja trudnoće.

Jedna od glavnih funkcija folne kiseline je produkcija crvenih krvnih stanica, koje prenose kisik u sve tjelesne stanice i tkiva. Ako nema folne kiseline javlja se makrocitna anemija.

Druga važna funkcija folne kiseline je blokada homocisteina koji je odgovoran za pojavu bolesti krvnih žila. Ako u krvi ima dovoljno folne kiseline, homocistein je na niskoj razini, no čim se folati spuste, razina homocisteina raste. Upravo je zbog toga važno konzumirati što više zelenog lisnatog povrća, u kojem ima dovoljno folne kiseline.

Provedeno je istraživanje na 228 ispitanika čiji su rezultati objavljeni krajem 2004., a utvrđeno je da su oni koji su imali najnižu razinu folne kiseline u krvi imali kognitivnu funkciju smanjenu za najmanje tri puta (35). Nedvojbeno je potvrđena veza između demencije, manjka folne kiseline i razine homocisteina u krvi. Nedostatak folne kiseline dovodi se u vezu i s povećanim rizikom od pojave Alzheimerove bolesti.

Osim što nedostatak folata povećava razinu homocisteina, povećava i rizik od osteoporoze i u direktnoj je vezi s rizikom bolesti krvnih žila i staračke demencije. Studija je obuhvatila 2406 osoba starijih od 55 godina te je, uz ostalo, utvrđeno i da visoka razina homocisteina udvostručuje rizik od frakture kostiju (36). Reduciranjem razine homocisteina, folna kiselina zapravo prevenira bolesti krvnih žila, osteoporozu s posljedičnim frakturama kostiju i staračku demenciju.

1.3.2.3. Proteini

Potrebe organizma za proteinima mogu se podmiriti putem biljnih izvora kada se konzumira raznovrsna biljna hrana i pritom podmiruju i energetske potrebe. Dakle, bit je u komplementarnosti, odnosno kombinacijama raznih vrsta žitarica i mahunarki koje imaju različit aminokiselinski profil. Uz iznimku sojinog proteina, proteini biljnog porijekla su nepotpuni. To znači da im nedostaje jedna ili više esencijalnih aminokiselina te stoga biljna hrana ne može podmiriti potrebe organizma jednako kao meso.

Prije nekoliko desetljeća smatralo se kako treba konzumirati komplementarne proteine u svakom obroku, a danas se zna da je dovoljno tijekom dana konzumirati raznovrsne izvore proteina kako bi se zadovoljile nutritivne potrebe organizma za svim esencijalnim aminokiselinama.

Nedostatak proteina u vegetarijanaca rjeđi je nego nedostatak nekih vitamina i minerala. Istraživanja pokazuju da su razine ukupnih proteina plazme u vegetarijanaca i nevegetarijanaca podjednake, odnosno da nema statistički značajne razlike, ako se uzme u obzir da vegetarijanci poštuju preporuke za unos kombiniranih izvora proteina i korištenje sojinog proteina (37).

1.3.2.4. Željezo

Anemija uzrokovana deficitom željeza može biti jednako česta i kod vegetarijanaca i nevegetarijanaca. Ipak, poznato je da se željezo iz biljnih izvora ne apsorbira toliko dobro kao željezo iz mesa. Važno je konzumirati dovoljno mahunarki i zelenog lisnatog povrća te pića i hrane bogate vitaminom C (koji poboljšava apsorpciju željeza). Znanstvena podloga ovih činjenica je u tome što biljna hrana sadrži isključivo ne-hem željezo, koje je osjetljivije na djelovanje tvari koje pospješuju apsorpciju željeza. Tvari koje pospješuju apsorpciju su vitamin C i organske kiseline porijeklom iz voća i povrća, a kako je voće i povrće dobro zastupljeno u prehrani vegetarijanaca, apsorpcija ne-hem željeza se pospješuje. Kod vegetarijanaca pohranjeno željezo (ferritin) najčešće pokazuje niže vrijednosti, ali unutar normale. To ima zdravstvene prednosti, jer zbog viška ferritina može doći do stvaranja slobodnih radikala koji su štetni za zdravlje (38).

Incidencija sideropenične anemije kod vegetarijanaca i nevegetarijanaca je podjednaka (39). Prosječne vrijednosti serumskog ferritina su značajno niže u vegetarijanaca u odnosu na nevegetarijance (40-43). Salonen je našao povećani rizik za infarkt miokarda kod pacijenata čije su koncentracije serumskog ferritina bile >200 ug/L, što je u korelaciji s

povećanjem vrijednosti kolesterola. Vegetarijanci imaju niže vrijednosti serumskog kolesterola i feritina što upućuje na potencijalnu zaštitu od kardiovaskularnih bolesti (44).

1.3.2.5. Kalcij

Prehrana koja se bazira na velikim količinama povrća može smanjiti apsorpciju nekih nutrijenata, između ostalih i kalcija. Vegani, koji ne unose mlijeko i mliječne proizvode mogu se opskrbiti kalcijem putem zelenog lisnatog povrća (poput brokule, špinata, blitve) i sušenog voća. Budući da zeleno lisnato povrće sadrži i neke spojeve – fitate i oksalate - koji ometaju apsorpciju kalcija, možda je bolje osigurati se i surm namirnicama poput obogaćenog sojinog mlijeka i tofua te adekvatnim dodatkom prehrani.

1.3.2.6. Vitamin D

Status vitamina D prvenstveno ovisi o izlaganju suncu. Sunčanje lica, ruku i nadlaktica 5-15 minuta/dan osigurava dovoljno vitamina D (jednokratno sunčanje cijelog tijela u trajanju od 15 minuta je ekvivalentno oralnoj dozi od 250-500 µg).

Vitamin D laktoovovegetarijanci uzimaju putem obogaćenog mlijeka i putem jaja, a značajna količina vitamina D stvara se u koži tijekom izlaganja sunčevim zrakama kod onih koji ne konzumiraju životinjske proizvode.

1.3.2.7. Nezasićene masne kiseline

Vegetarijanska prehrana bogata je prekursorima omega-6 masnih kiselina, a siromašna je prekursorima omega-3 masnih kiselina. Kako je poželjan upravo obrnut omjer, vegetarijancima je preporučljivo konzumirati laneno sjeme koje je bogato alfa-linolenskom kiselinom, prekursorom omega-3 nezasićenih masnih kiselina. Najbolji izvor omega-3 je masna riba te ni u ovom slučaju nisu ugroženi semivegetarijanci ni tzv. pescovegetarijanci koji konzumiraju ribu.

1.4. Vegetarijanstvo u Hrvatskoj i svijetu

Broj vegetarijanaca je u porastu, a prelazak na vegetarijansku prehranu je najčešće zbog brige za zdravlje, zbog očuvanja okoliša i zbog zaštite prava životinja. Naravno, u nekim zemljama vegetarijanstvo nije odabir, već nužda zbog siromaštva. Općenito, veći je broj vegetarijanaca među ženama nego muškarcima, također je više vegetarijanaca među mlađim osobama, primjerice, među studentima, nego u drugih dobnih skupina.

Hrvatska je nešto ispod europskog prosjeka po broju vegetarijanaca. U Hrvatskoj postoji Vegetarijanska udruga Zagreb i prema riječima predsjednice, stav javnosti se znatno promijenio u posljednjih nekoliko godina. Prema rezultatima akcije popisivanja vegetarijanaca koju od 1997. godine provode Vegetarijanska udruga i časopis *Vegenova* od ukupnog broja hrvatskog stanovništva 1.5% čine vegetarijanci. Istraživanja među hrvatskom studentskom populacijom u dobi od 18-30 godina postotak vegetarijanca odnosno vegana procjenjuju na manje od 5, odnosno 1% opće populacije (45). Udruga Prijatelji životinja je 2007. godine naručila istraživanje javnog mnijenja i nakon 10 godina broj se vegetarijanaca u populaciji povećao. Prema tom istraživanju na slučajnom uzorku ispitanika starijih od 15 godina (n=1000), sastavljenom na osnovu telefonskog imenika Republike Hrvatske u Hrvatskoj ima 3.7 % vegetarijanaca. Smatra se kako je broj vegetarijanaca u porastu čemu bitno doprinosi promijenjena percepcija utjecaja vegetarijanske prehrane na zdravlje. Istraživanje koje je provedeno u Laboratoriju za kemiju hrane i prehranu PBF-a, pokazalo je da među studentima RH ima 5 % vegetarijanaca (3% muškaraca i 6% žena). Vegana je bilo 0,8%. (45).

Broj vegetarijanca u zemljama poput Indije se procjenjuje na 35%, dok su brojke u zemljama Zapada 3-7%. (46). Tijekom nekoliko posljednjih desetljeća dvadesetog stoljeća, popularnost vegetarijanstva porasla je u Americi i Europi. Prema jednom izvoru, 1994. godine, u SAD-u se 12 milijuna ljudi deklariralo kao vegetarijanci, dok ih je 1986. bilo 6 milijuna (47). U Australiji se 5% stanovništva hrani prema vegetarijanskim principima

prehrane, u Kanadi 4%, u Americi i Švedskoj 3%. Velik porast zahvaljuje se upravo velikom broju ljudi koji povremeno jedu meso i stoga se svrstavaju u skupinu semivegetarijanaca. U Europi se prosječno 5% populacije hrani vegetarijanskim načinom. Prednjači Velika Britanija, dok je u Francuskoj tek 2% vegetarijanaca.

Vegetarijanstvo više nije alternativa, budući da cijeli niz javnih ustanova, škola, vrtića i restorana uvrštava vegetarijanska jela i obroke u svoju ponudu. Svjedoci smo i sve bolje ponude prehrambenih proizvoda koji su prilagođeni vegetarijancima, a značajan udio imaju i proizvodi iz ekološkog uzgoja.

1.5. Vježbanje joga - utjecaj na fizičko i mentalno zdravlje

Vegetarijanstvo je i stil života, a ne samo nutritivna odrednica koji uključuje svijest o tjelovježbi i tehnikama za opuštanje. Stoga mnogi vegetarijanci danas sustavno vježbaju jogu. Joga (potječe iz sanskrta i znači povezivanje, sjedinjenje duha i tijela), drevni sustav vježbi za postizanje psihofizičke ravnoteže, čiji su korijeni u Indiji, prvi put se spominje prije 5000 godina u svetim indijskim tekstovima (Vedama). Joga je sastavni dio filozofije Istoka, cjelovita znanost o čovjeku, o čitavom njegovom biću. To je holistički i sveobuhvatan sustav koji se bavi tijelom, umom, sviješću i dušom. Temeljni cilj joga je postizanje i očuvanje fizičkog, mentalnog, duhovnog i društvenog zdravlja spajanjem pradavnih duhovnih tehnika i mudrosti Indije sa znanjem suvremenog doba. Svjetska zdravstvena organizacija još je 1977. godine priznala djelotvornost joga i ayurvede, tradicionalne indijske medicine, koja čovjeka doživljava kao cjelinu i koja nikada ne liječi njegovo tijelo, a da ne liječi i njegovu psihu, kao jedan od znanstveno verificiranih zdravstvenih i terapijskih sustava (48).

Sustav se pokazao vrlo korisnim, kako u rehabilitacijskim, tako i u preventivnim zdravstvenim mjerama, kao primjerice pri poteškoćama s vegetativnim živčanim sustavom, s

bolestima prouzročanima stresom, psihosomatskim bolestima, teškoćama sa spavanjem, kardiovaskularnim bolestima i ostalim funkcionalnim poremećajima (49-52).

U studiji koja je ispitivala kvalitetu života, fleksibilnost i funkcionalnu anatomiju vježbača joga dokazani su statistički značajno bolji rezultati u ispitanika koji vježbaju jogu u odnosu na ispitanike koji ne vježbanju jogu (53).

1.6. Homocistein

Homocistein je sulfurirana aminokiselina, koja je intermedijarna u metioninskom ciklusu, a metionin je esencijalna aminokiselina koja se u organizam unosi hranom. U zdravim stanicama metionin se vrlo brzo konvertira u druge produkte. Ne nalazi se u prirodnim proteinima, jer ne postoji DNA kod za ovu aminokiselinu pa cjelokupni homocistein u organizmu potječe iz metabolizma esencijalne aminokiseline metionina. Ako je metabolizam homocisteina oštećen bilo zbog defekta enzima ili unutarstanične deficijencije kofaktora, homocistein se akumulira u stanicama i transportira u cirkulaciju (54).

Homocistein su 1932 godine otkrili Butz i de Wigneaud kada je i dobio ime kao homolog cisteina (55). McCully je 1969. godine prvi put povezo povišenu razinu homocisteina s patogenezom ateroskleroze i bolestima srca u prvim publikacijama na ovu temu (56). Homocisteinu, kao mogućem faktoru rizika za nastanak i razvitak kardiovaskularnih bolesti se naročito posljednjih godina poklanja posebna pažnja.

Danas je prihvaćeno da je homocistein neovisan čimbenik rizika za nastanak ateroskleroze i kod ljudi koji imaju normalni nivo kolesterola, što su pokazale prospektivne i skupinske (meta) studije. Naime, homocistein i bez prisutnosti surh činitelja rizika može biti uzrok patoloških promjena na krvnim žilama te dovesti do nastanka cerebrovaskularnih, periferno-vaskularnih i srčanih bolesti (57-62). Kasnije se pokazalo da su poremećaji na razini enzima uključenih u metabolizam homocisteina (metilacija i transulfuracija) uzrokom

hiperhomocisteinemije, vaskularne patologije i neuroloških poremećaja (defekt neurološke tube) (63, 64).

1.6.1. Homocistein u plazmi

Homocistein se u plazmi nalazi u nekoliko oblika (Slika 1). Reducirani homocistein posjeduje visoko reaktivnu tiolnu skupinu izrazito osjetljivu na autooksidaciju kod fiziološkog pH, pri čemu se stvara disulfidna veza između dvije molekule ili miješani disulfidi s drugim tiolima (homocistein cistein disulfid). Oko 1% homocisteina u plazmi je u slobodnom reduciranom obliku, dok je oko 70% vezano na albumine. Ostalo su disulfidi niske molekularne mase prevenstveno s cisteinom.

Izraz homocistein, kao i cistein, odnosi se na tiole–spojeve sa slobodnom SH grupom. Znači ukoliko bi se striktno pridržavali pravila označavao bi samo slobodni reducirani oblik ove aminokiseline. Pokušaj da se problem riješi uvođenjem oznake homocist(e)in koja u sebi uključuje i oksidirane i reducirane oblike ove aminokiseline nije u potpunosti prihvaćen (65). Ukoliko se određivanje koncentracije homocisteina plazme određuje prevođenjem svih oblika homocisteina u reducirani oblik (homocistein) upotrebom reducirajućih sredstava, što je danas i najčešće, onda se on označava kao ukupni-totalni homocistein.

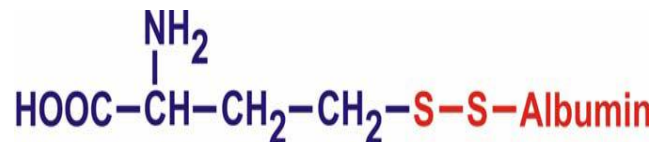
Zbroj svih oblika homocisteina naziva se ukupni homocistein. U literaturi se ponekad nalazi pojam homocistin i kao takav označava sve molekularne oblike koji se mjere. Homocistein se iz organizma odstranjuje uglavnom putem bubrega ali ne mokraćom (66).

Koncentracija plazmatskog homocisteina ovisi o dobi i spolu, pri čemu koncentracija raste s dobi. Prije puberteta vrijednosti homocisteina su relativno niske i jednake bez obzira na spol (vrijednosti homocisteina kod djece do 12 godina nalaze se u rasponu od 2,9 do 7,6 $\mu\text{mol/L}$). Za vrijeme puberteta nastupa porast koncentracije homocisteina i to više u dječaka. Tako, u dobi od 40-42 godine života, razlika u vrijednostima ukupnog homocisteina između žena i muškaraca je oko 2 mmol/L , sa srednjom vrijednosti od oko 11 $\mu\text{mol/L}$ (M) i 9 $\mu\text{mol/L}$ (Ž) (67).

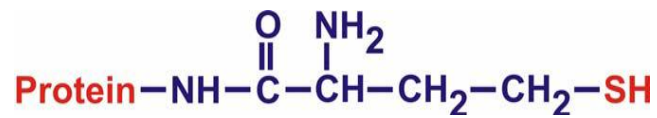
Hiperhomocisteinemija se definira kao povećana koncentracija homocisteina u plazmi, pri čemu se kao gornja granica referentnog intervala uzima vrijednost od 15 $\mu\text{mol/L}$, a vrijednosti veće od toga predstavljaju čimbenik rizika za kongenitalne malformacije, komplikacije u trudnoći i kardiovaskularne bolesti (68).

Osim toga, uočena je i veza između poremećenog metabolizma homocisteina i neuropsihijatrijskih bolesti te gubitka pamćenja u starosti, pri čemu normalizacija vrijednosti homocisteina može imati pozitivan utjecaj na gubitak pamćenja i neke neuropsihijatrijske poremećaje. Homocistein se uglavnom mjeri u serumu ili plazmi, rijetko u cerebrospinalnoj tekućini i mokraći. Uzroci nastanka povišenih vrijednosti homocisteina vidljivi su iz metaboličkih puteva pregradnje homocisteina, kao i biološki učinak manjka ili suviška pojedinih sudionika u tom metaboličkom ciklusu.

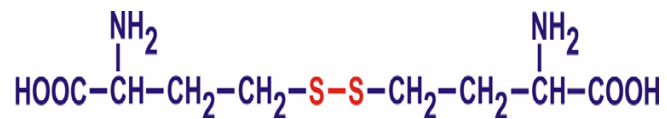
Teška hiperhomocisteinemija je posljedica nasljednih poremećaja i razina homocisteina može dosegnuti 400 $\mu\text{mol/L}$, a blaža hiperhomocisteinemija može biti uzrokovana manjkom vitamina B skupine, oslabljenom bubrežnom funkcijom, pojedinim lijekovima.



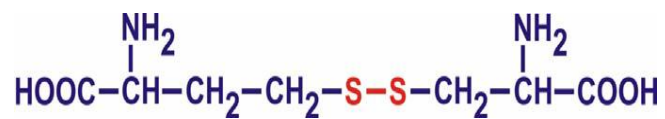
Homocistein vezan za proteine S-S vezom



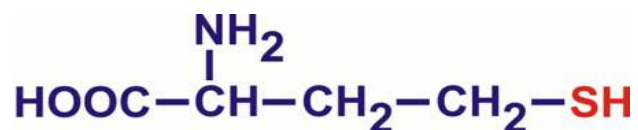
Homocistein vezan za proteine amidskom vezom



Homocistin



Homocisteine-cistein disulfid

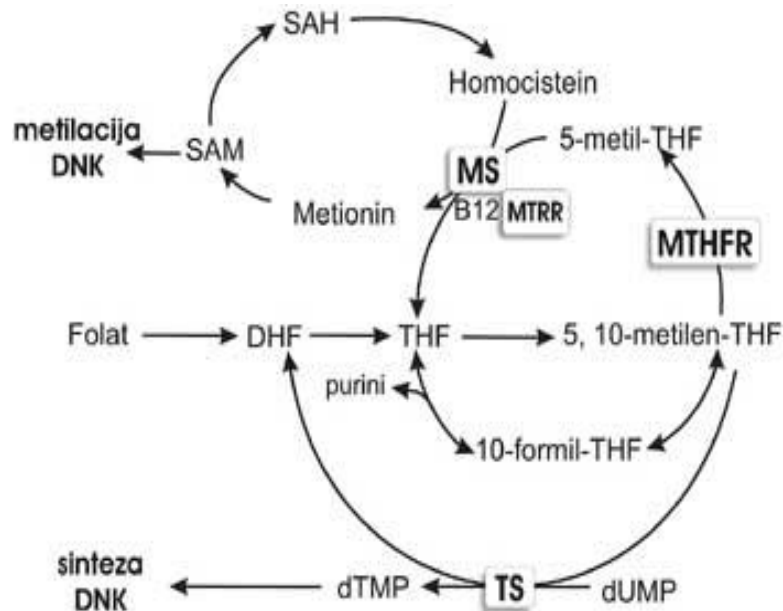


Homocistein

Slika 1. Oblici homocisteina u plazmi

1.6.2. Metabolizam homocisteina

Metabolizam homocisteina odvija se kroz dvije osnovne reakcije: transulfuracijom i metilacijom.



Slika 2. Biokemijske reakcije metabolizma homocisteina, puteva transmetilacije, transulfuracije i remetilacije

Homocistein nastaje demetilacijom metiona (Met) koji u organizam dolazi putem hrane. Metionin je jedini izvor homocisteina. Metionin sadrži metilnu skupinu koja se aktivira promjenom u S-adenozilmetionin (SAM) u reakciji koju katalizira metionin adenozil-transferaza (MAT) uz prisutnost adenzin-trifosfata (ATP). SAM je važna biološka molekula koja daje metilnu skupinu neophodnu za preko stotinu poznatih reakcija metilacije. Produkt reakcije metilacije je S-adenozilhomocistein (SAH) koji se hidrolizira u homocistein. Homocistein se u mnogim tkivima može remetilirati u metionin reakcijom koju katalizira metionin-sintaza (MS). Alternativni put remetilacije postoji u nekim tkivima, napose u jetri, a odvija se putem enzima betain-homocistein- metiltransferaze (BHMT). Remetilacija u mozgu moguća je jedino putem metionin-sintaze. SAH je snažan kompetitor S-adenozilmetionina te se iz odnosa SAM/SAH može procijeniti status metilacije. U slučaju kada nema dovoljno

metionina ili je koncentracija SAM-a mala, homocistein se pretežno usmjerava u put remetilacije. Remetilacija je katalizirana metionin-sintazom uz vitamin B12 kao kofaktor i metiltetrahidrofolat (metilTHF) kao supstrat. MetilTHF nastaje u reakciji koju katalizira metilentetrahidrofolat-reduktaza (MTHFR).

U slučaju kad je koncentracija S-adenozilmetionina visoka, homocistein se usmjerava u put transsulfuracije. Transsulfuracija se odvija u dvije reakcije ovisne o vitaminu B6, od kojih prvu katalizira cistationin-b-sintaza (CBS) i nastaje cistationin, a u drugoj nastaje cistein. Homocistein se, za razliku od cisteina, ne ugrađuje u polipeptide.

Homocistein se u plazmi nalazi u reduciranom i oksidiranom obliku. Pri tome reducirani, sulfhidrilni oblik čini oko 1%, a 98-99% oksidirani oblik (disulfid homocistein i miješani disulfidi) homocisteina. U normalnim fiziološkim uvjetima svi oblici homocisteina, osim onih vezanih na protein, filtriraju se u bubregu, reapsorbiraju i oksidacijski kataboliziraju.

1.6.3. Uzroci povišene razine homocisteina

Iz slike normalnog metabolizma metionina (Slika 2) može se vidjeti da se homocistein nalazi na raskrižju puta transsulfuracije i puta remetilacije ove aminokiseline u metion i tu leže uzroci hiperhomocisteinemije. Mutacije gena koje dovode do deficita ili smanjenja aktivnosti CBS, zatim enzima uključenih u proces remetilacije: N5,10- metilentetrahidrofolat reduktaze (MTHFR), N5-metiltetrahidrofolat transferaze (MTHFT) ili metionin sintetaze (MS) i betain homocistein metil transferaze (BHMT), su osnovni, genetski uvjetovani uzroci hiperhomocisteinemije.

Osim ovih, nedostatak vitamina B6, B12 i folne kiseline, značajnih kofaktora u navedenim biokemijskim procesima, također može dovesti do povećanja koncentracije homocisteina u plazmi i predstavlja vrlo značajne nutritivne uzroke hiperhomocisteinemije.

Opažanja da povećane vrijednosti homocisteina u plazmi dovode do kardiovaskularnih bolesti pred četrdesetak godina McCully je formulirao u homocisteinsku teoriju ateroskleroze (59).

Trebalo je proći dosta vremena da ovo otkriće zainteresira znanstvenike, no danas zahvaljujući velikom broju radova iz ovog područja prihvaćeno je da čak i blaga hiperhomocisteinemija može biti faktor rizika razvitka aterosklerotičnih vaskularnih oboljenja koronarnih, cerebralnih i perifernih krvnih žila. Brojne kliničke i epidemiološke studije koje su obuhvatile veliki broj pacijenata i rezultati istraživanja o metabolizmu i patofiziološkim posljedicama povišenih koncentracija ove aminokiseline, doprinijeli su da je homocistein i dobio naziv "kolesterol 1990-tih" (69, 70).

Na posljednjem Svjetskom kongresu posvećenom homocisteinu (7 th Conference of Homocysteine Metabolism: World Congress on Hyperhomocysteinemia, Prag, 2009), sudionici su ukazali na povezanost hiperhomocisteinemije s razvitkom kognitivnih poremećaja, demencijom, Alzheimerovom bolešću i neuropsihijatrijskim oboljenjima. Značajno mjesto pridaje se homocisteinu i u razvoju osteoporoze, pojavi kongenitalnih malformacija, razvitku malignog procesa.

Homocistein je indikator ne samo zdravstvenog stanja, nego i faktora koji negativno/ pozitivno utječu na zdravlje kao što su pušenje, konzumiranje kofeina, fizička aktivnost, vitaminski status i drugih.

1.6.3.1. Nutritivni uzroci povišenih razina homocisteina

Za normalan metabolizam homocisteina te aktivnost enzima biokemijskih reakcija i metaboličkih puteva u kojima sudjeluje, važni su kofaktori-koenzimi u čijim strukturama sudjeluju sljedeći vitamini: vitamin B12 (kofaktor za MS), vitamin B6 (kofaktor za CBS), vitamin B2 (kofaktor za MTHFR), kao i folna kiselina, neophodan supstrat u reakciji transmetilacije homocisteina.

Brojna ispitivanja, provedena na zdravoj populaciji ili pacijentima s kardiovaskularnim bolestima, utvrdila su visoko značajnu negativnu korelaciju između svih vitamina B grupe i koncentracije homocisteina (71,72,73), pokazujući da je nedostatak ovih vitamina jedan od glavnih uzroka hiperhomocisteinemije.

Značaj vitamina B grupe, kada je hiperhomocisteinemija u pitanju, povezuje se sa povećanim unosom folne kiseline, vitamina B12, piridoksina i betaina koji mogu sniziti koncentraciju homocisteina plazme. Time se otvara mogućnost relativno jednostavne, djelotvorne i bezopasne terapije kojom se koncentracija homocisteina, kao faktor rizika za nastanak brojnih bolesti, dovodi u granice referentnih vrijednosti.

Utjecaj koji vitamini B grupe imaju na koncentraciju homocisteina uočava se i na razlikama u koncentraciji ove aminokiseline u ovisnosti o zemljopisnom području tj. od različitih nutritivnih navika ispitivanih etničkih grupa. Tako se viša vrijednost koncentracije homocisteina kod Indijaca može objasniti nutritivno uvjetovanom nižom koncentracijom B12 vitamina i folata u njihovim eritrocitima (74). Koncentracije homocisteina su više kod Iraca nego kod Francuza, ali i incidencija kardiovaskularnih bolesti (75). Razlike u nutritivnim navikama mogu objasniti niži morbiditet i mortalitet od kardiovaskularnih bolesti i u djelovima Španjolske u kojima je prehrana bogatija folatima (76). Također, hiperhomocisteinemija je učestalija kod vegetarijanaca (53%) i makrobiotičara (77,78), s obzirom da ova hrana ne sadrži B12 vitamin.

Utjecaj proteinske prehrane, iako je bilo za pretpostaviti da će veći unos metionina dati i veću koncentraciju homocisteina, pokazao je inverzan odnos s koncentracijom homocisteina. Objašnjenje se traži u činjenici da možda proteinska prehrana pomaže efikasnijem metabolizmu homocisteina ili da je eventualno praćena faktorima koji snižavaju koncentraciju ove aminokiseline (79).

U svakom slučaju, nutritivni faktori imaju veliki utjecaj na koncentraciju homocisteina plazme i predstavljaju, pored genetskih faktora, najvažnije uzroke povišenih koncentracija ove aminokiseline. U isto vrijeme to su i faktori koji mogu modelirati učinke eventualnih genetski uvjetovanih enzimskih defekata u njegovom metabolizmu otvarajući novo poglavlje

nutritivne ekogenetike. Zbog toga se, kad su hiperhomocisteinemije u pitanju, njima poklanja posebna pažnja, o čemu govori i veliki broj objavljenih radova iz ovog područja.

1.6.3.1.1. Vitamin B12 i povišena razina homocisteina

Iako je davne 1969. godine po prvi put dokazano da deficit kobalamina može dovesti do hiperhomocisteinemije, prva studija koja je dokazala obrnuto proporcionalni odnos između ova dva spoja (homocisteina i kobalamina) objavljena je tek 1986. godine (80,81). Ispitivanja Svage-a i suradnika su utvrdila da se povišene koncentracije homocisteina nalaze u preko 95% osoba s klinički i laboratorijski dokazanim deficitom kobalamina (82), dok je kod asimptomatskih osoba, ali s utvrđenom nižom koncentracijom kobalamina, ovaj postotak niži, ali i dalje visok i iznosi od 38,5% do 63,8 %.

Terapija hiperhomocisteinemije izazvane deficitom kobalamina relativno se brzo (za 4-5 dana) korigira davanjem ovog vitamina, dok davanje folata u tom slučaju nema nikakvog efekta, nego može biti i kontraproduktivno. Utvrđeno je čak da deficit kobalamina može biti, uz visoke koncentracije homocisteina, praćen kako niskom, tako i visokom koncentracijom folata i da je koncentracija homocisteina najniža kad je koncentracija folata između ove dvije vrijednosti. Moguće je da visoka koncentracija folne kiseline, dihidrofolata, formil ili metil tetrahidrofolata, u situacijama deficita kobalamina, dovodi, između ostalog, do oksidacije MS kob(I)alamina u MS kob(II)alamin koji je katalitički neaktivan, doprinoseći porastu koncentracije homocisteina (83).

Reaktivacija enzima moguća je redukcijom metilacijom u kojoj je donor metil grupe SAM čija koncentracija je snižena kod B12 deficijencije (84). Ovo je jedan od razloga koji protivnici uvođenja fortifikacije hrane folatima navode kao nepoželjno djelovanje koje može utjecati na deficijenciju B12 vitamina, jer ga maskira dok se patofiziološki procesi i oštećenja do kojih dovodi nesmetano razvijaju. U svakom slučaju koncentracija homocisteina može biti pokazatelj funkcionalne interakcije folne kiseline i vitamina B12.

1.6.3.1.2. Folna kiselina i povišena razina homocisteina

Prva otkrića o povezanosti folata s povišenim koncentracijama homocisteina potječu još iz 1987. godine od strane Kang-a i suradnika (85). Osnovni uzrok je u poremećenoj, o folatima ovisnoj, remetilaciji homocisteina, ali i u njegovom povećanom izlasku iz stanica u stanjima deficijencije folata (86). Porast koncentracije homocisteina uočen je i kod osoba s koncentracijom folata u donjem djelu granica referentnih vrijednosti, a u eksperimentalnoj, dijetom izazvanoj, deficijenciji folata potvrđeno je da koncentracija homocisteina raste prije nego koncentracija folata padne ispod donje granice referentnih vrijednosti (87). Ispitivanja Jacquesa i suradnika ukazala su na 49% višu koncentraciju homocisteina kod osoba s vrijednostima folata u donjoj četvrtini dobijenih vrijednosti u odnosu na one iz gornje četvrtine (88). Ova razlika je bila prisutna i u odnosu na vitamin B12 i piridoksal fosfat, ali manjeg intenziteta (17% i 12%).

Utjecaj interakcije genotipa i nutritivnog statusa potvrdila je i nedavna meta analiza koja je uključivši 23 000 ispitanika ukazala na povećan rizik (16%) za razvitak koronarne bolesti kod osoba 677TT genotipa u odnosu na CC genotip, ali samo u Europi, a ne i u Sjevernoj Americi (89). Jedan od faktora, koji može objasniti dobivene razlike, je i u činjenici da u SAD-u, zbog obogaćivanja hrane folatima (140 µg/100mg) uvedene 1998 godine, praktično i ne postoje osobe sa deficitom folata (2001-2002. godina samo 0,2% populacije) (90), čime je kompenziran utjecaj genotipa kao faktora rizika.

Stabilna koncentracija homocisteina u granicama referentnih vrijednosti plazme postiže se tek ukoliko je dnevni unos folata 400 µg ili veći (900 µg za starije osobe) (91). Vrlo često to nije slučaj djelomično i zbog činjenice da način pripremanja hrane, termička obrada i upotreba mikrovalnih pećnica (uništavaju do 40% B12 vitamina hrane), snižavaju količinu raspoloživih folata i dovode do toga da je preporučeni dnevni unos teško ostvariti.

Povišene koncentracije homocisteina moguće je sniziti supstitucijskom terapijom folnom kiselinom i drugim vitaminima B grupe. Postotak sniženja obično je veći ukoliko su koncentracije homocisteina prije početka terapije bile više, a i koncentracije folata niže (92,

93). Sniženje koncentracije homocisteina dobiveno supstitucijskom terapijom vitaminima praćeno je promjenama brojnih patofizioloških parametara. Tako van den Berg, ali i drugi autori, nalazi poboljšanje endotelne disfunkcije, Peterson i suradnici sporiju progresiju formiranja plakova (94,95,96). Eksperimenti na kulturi stanica kojima je ispitan utjecaj homocisteina utvrdili su veću varijabilnost stanica (skoro na nivou kontrole) ukoliko su u isto vrijeme one tretirane i s folnom kiselinom (97).

Kod eksperimentalno izazvane hiperhomocisteinemije u laboratorijskih životinja smanjena funkcionalna aktivnost koagulacijskih faktora popravila se nakon dodavanja folne kiseline (98). Odgovor na pitanje da li su svi ovi efekti direktna posljedica sniženja koncentracije homocisteina nastale nakon uvođenja folata u terapiju ili nastaju direktnim djelovanjem folne kiseline mehanizmima neovisnim o homocisteinu pomoći će riješiti dilemu da li je homocistein uzročni faktor nastanka kardiovaskularnih bolesti ili samo posljedica njihovog razvitka (99).

1.6.3.2. Genetski uzroci povišenih koncentracija homocisteina

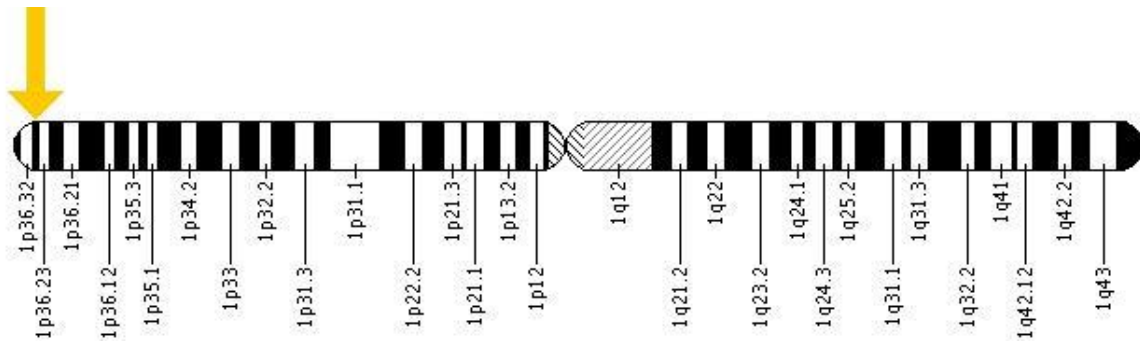
Najznačajniji genetski uzroci povišenih koncentracija homocisteina su mutacije gena čiji su enzimi direktno uključeni u metabolizam ove aminokiseline. Tri ključna enzima su sasvim sigurno N⁵,10-metilentetrahidrofolat reduktaza (MTHFR) (E.C.1.5.1.20) i N⁵-metiltetrahidrofolat homocisteina metil transferaza ili metionin sintetaza (MS) (E.C.2.1.1.13) enzimi puta remetilacije, kao i cistationin beta sintetaza (CBS) (E.C.4.2.1.22) enzim puta transulfuracije (100,101). Uz ove mutacije, veliki broj gena utječe na važne kofaktore enzima metabolizma homocisteina (vitamin B₆, B₁₂ i folna kiselina kao supstrat) te indirektno doprinose poremećaju koncentracije ove aminokiseline (102,103).

1.6.3.2.1. Metilentetrahidrofolat-reduktaza

Jedan od uzroka hiperhomocisteinemije je smanjena aktivnost enzima MTHFR koji sudjeluje u procesu remetilacije homocisteina u metionin, u reakciji redukcije N⁵,10-metilentetrahidrofolata u N⁵-metiltetrahidrofolat. 5,10-metilentetrahidrofolat-reduktaza (MTHFR) je enzim koji katalizira demetilaciju 5,10-metilentetrahidrofolata u 5-metiltetrahidrofolat. 5-metiltetrahidrofolat je prevladavajući cirkulirajući oblik folata u krvi. MTHFR je neophodna u remetilaciji homocisteina u metionin, jer daje metilnu skupinu. Blok u sintezi 5-metiltetrahidrofolata dovodi do hiperhomocisteinemije i niske razine metionina. Smanjena ili spriječena remetilacija homocisteina u metionin ima za posljedicu poremećaj rasta, diferencijaciju i funkcioniranje stanica zbog nemogućnosti odvijanja važnih bioloških sinteza (lipida, proteina i nukleinskih kiselina).

MTHFR je flavoprotein, homodimer koji se sastoji od podjedinica veličine 77 kDa (117). Peptid se sastoji od N-terminalne 40 kDa i C-terminalne 37 kDa domene. U području C-terminalne domene nalazi se vezno mjesto za S-adenozilmetionin koji djeluje kao alosterički regulator (104).

Goyette i suradnici su 1994. godine mapirali i lokalizirali gen koji se nalazi na prvom kromosomu (1p36.3) (119), a 1998. godine opisali strukturu gena za MTHFR u ljudi i miša (105). Mjesto gena za MTHFR nalazi se na prvom kromosomu 1p36.3 (Slika 3). Slijed cDNA MTHFR dužine je 2,2 kb. Gen sadrži 11 eksona i 10 introna. Dužine eksona su od 102 pb (ekson 9) do 246 pb (ekson 1), dok su dužine introna od 0,25 kb (intron 6) do 1,5 kb (intron 1 i intron 8) (105).



Slika 3. Mjesto gena za MTHFR na prvom kromosomu

1.6.3.2.2. Polimorfizam gena MTHFR

Od 5 najučestalijih polimorfizama dva su intenzivno proučavana. To je tranzicija 677C u T u eksonu 4 koja dovodi do zamjene aspartata s valinom na poziciji 222-FAD vezujućeg mjesta (A222V) (106). Snižena aktivnost MTHFR proizlazi iz termolabilne forme ovog enzima (tMTHFR) koja se javlja kod homozigotnih osoba za ovu mutaciju (107). Termolabilna forma, kod koje zagrijavanje staničnog homogenata 5 minuta na temperaturi od 46 °C dovodi do pada aktivnosti za više od 60%, nađena je u 5% ukupne populacije (107) ali i u 17% do 20% slučajeva hiperhomocisteinemije kod pacijenata sa prematurnom vaskularnom bolešću (108, 109). Međutim, 677TT genotip je udružen s porastom koncentracije homocisteina samo u slučajevima niske koncentracije folata te se može smatrati da je deficit folata odgovoran za ekspresiju MTHFR termolabilnog genotipa (110-113). Osim toga vjerojatno i utjecaj sniženog statusa riboflavina (MTHFR je B2 ovisan enzim) ima utjecaja na porast koncentracije homocisteina kod 677TT genotipa (114-116).

Drugi po značaju polimorfizam ovog gena je tranzicija 1298A u C u eksonu 7 regulatornog djela koji dovodi do substitucije glutamata s alaninom u proteinsku molekulu. Iako sama za sebe nema velikog utjecaja na aktivnost MTHFR u kombinaciji sa C677T genotipom dovodi do značajnog pada aktivnosti ovog enzima i porasta koncentracije homocisteina (117).

Kang i suradnici su 1991. godine opisali oblik MTHFR obilježen s manje od 50% normalne aktivnosti na 37 °C i značajno smanjene stabilnosti enzima zagrijavanjem na 46 °C. Dakle, ta mutacija MTHFR uzrokom je sinteze enzima koji je funkcionalan, ali smanjene specifične aktivnosti. Termolabilni oblik MTHFR prevladava u ispitanika s koronarnom bolešću (17% prema 5% u kontrolnoj skupini) u kojih je razina homocisteina značajno povišena (107). Frosst i suradnici su 1995. objasnili termolabilni fenotip MTHFR na genetskoj razini (106). Naime, supstitucija baze citozina u timin (C677T) u slijedu DNA odgovorna je za zamjenu aminokiseline alanina u valin (A222V), što dovodi do termolabilnosti i smanjene enzimske aktivnosti. Mutacija C677T MTHFR nalazi se na 4. eksonu gena za MTHFR. Ta je mutacija povezana s nesposobnošću enzima da veže folate (118). Pretpostavlja se, a što je pokazano u više znanstvenih publikacija, da je mutacija C677T gena MTHFR genetski činitelj rizika za razvoj bolesti krvnih žila, ateroskleroze (107,118,119,120), defekata neuralne tube (121-123) i kolorektalnog tumora (124). Osim toga, nađena je povezanost mutacije C677T gena MTHFR s drugim bolestima, primjerice šećernom bolešću tipa 2 (125), stanjenjem karotida i srčanim infarktom u ispitanika s šećernom bolešću tipa 2 (126), Down sindromom (127), epilepsijom (128), Alzheimerovom bolešću (129) i shizofrenijom (130). Nasljedni nedostatak gena MTHFR je autosomno recesivni poremećaj i najčešći urođeni poremećaj metabolizma folne kiseline (131).

Učestalost mutacije C677T gena MTHFR je specifična za pojedinu populaciju. U studiji Lovričević i suradnici objavljenoj u 2004. godini, provedenoj na 228 hrvatskih dobrovoljaca pronađeno je 9,21% homozigota (T/T), 44,74% heterozigota (C/T) za mutaciju, te 46,05% nositelja divljeg tipa (C/C) (9). Ovi rezultati su u skladu s učestalošću mutacija u europskoj populaciji. Prevalencija homozigota (T/T) kod bijelaca je oko 12% a heterozigota (C/T) preko 40%, ali s velikim varijacijama ovisno gdje je ispitivano područje. Zastupljenost homozigota (T/T) u Njemačkoj oko 8%, u Italiji je preko 18%, a kod Španjolaca prevalencija homozigota se kreće od 21 do 35% (132). U mnogim populacijama osobe sa TT genotipom imaju za oko 25% višu koncentraciju homocisteina, nego one sa CC genotipom (divlji tip) (133). Međutim, iako je prevalencija C677T polimorfizma visoka u Francuskoj i Španjolskoj

ukupni homocistein je relativno nizak u ovim populacijama (134, 135). Najvjerojatnije razlog je u većem vitaminskom unosu i/ili surm faktorima okoline, ali i mogućim, još nedovoljno ispitanim, utjecajima genetskih faktora.

1.7. Stil života i utjecaj na homocistein

Utjecaj na koncentraciju homocisteina plazme, pored genetskih i nutritivnih faktora imaju i faktori vezani za stil života. Tu se prije svega, kad je homocistein u pitanju, misli na utjecaj nikotina, konzumiranje kofeina, alkohola i na fizičku aktivnost.

Utjecaj nikotina

Prva velika studija koja je ukazala na povezanost pušenja i to u ovisnosti o broju popušanih cigareta na dan i koncentracije homocisteina je *Hordaland Homocysteine Study* koja je u Norveškoj obuhvatila preko 16 000 sudionika u periodu od 1992. do 1993. godine (136). Dobivene razlike u koncentraciji homocisteina plazme između pušača (više od 20 cigareta/dan) i onih koji nikad nisu pušili su potvrđene i u drugim studijama i kreću se između 1,5 do 2,3 $\mu\text{mol/L}$ ovisno o ispitivanoj populaciji što odgovara porastu koncentracije homocisteina od 1% po popušenoj cigareti kod žena tj. 0,5% kod muškaraca (137,138). Više koncentracije homocisteina kod pušača objašnjavaju se interakcijom ugljičnog monoksida iz duhanskog dima i B6 vitamina koja dovodi do oštećenja konverzije homocisteina u cistationin i smanjenja njegove eliminacije putem transsulfuracije.

Konzumiranje kofeina

Utjecaj konzumiranja kofeina na koncentraciju homocisteina plazme je također ustanovljen u Hordalandskoj studiji (136). Koncentracije homocisteina su za 2,5 $\mu\text{mol/L}$ više kod osoba koje konzumiraju kavu u odnosu na one koje je ne konzumiraju i nakon korekcije za ostale faktore (pušenje, unos voća, povrća i vitamina) ostaju više za 1,7 $\mu\text{mol/L}$.

Interventna studija Grubben-a i suradnika, u kojoj su tijekom dva tjedna ispitanici pili velike količine filtrirane kave je, dobivenim porastom koncentracije homocisteina od 1,2 $\mu\text{mol/l}$ ($\approx 10\%$), ukazala na akutni utjecaj kofeina na homeostazu homocisteina (139).

Utjecaj kofeina (metil ksantin) se može objasniti činjenicom da su ovi spojevi antagonisti vitamina B6, što je u skladu sa rezultatima Grubben-ove studije koja je objasnila sniženi nivo ovog vitamina u periodu pijenja kave. Međutim, različiti–selektivni učinci kave u ovisnosti o koncentraciji homocisteina (niže ili srednje), registrirani i u Hordalandskoj studiji, pokazuju da odgovor na konzumiranje kofeina može biti moduliran i genetskim faktorima kao u slučaju folata i MTHFR genotipa.

Konzumiranje alkohola

Promjene u metabolizmu homocisteina kod osoba koje kronično konzumiraju alkohol povezane su s metabolizmom folata koji je uveliko oštećen kod alkoholičara. Ovo se događa ne samo zbog smanjene apsorpcije folata, između ostalog i preko djelovanja na reducirani transport folata (140), nego i zbog razgradnje folata pod djelovanjem superoksida koji se oslobađa tijekom metaboliziranja etanola (141). Nižom koncentracijom folata nakon uzimanja alkohola, potvrđenom i u eksperimentalnim uvjetima (nagli pad folata u roku od 6 h nakon uzimanja alkohola), može se djelomično objasniti porast koncentracije homocisteina. Efekti koje alkohol iskazuje, bilo direktno ili preko svojih degradacijskih produkata, na djelovanje enzima metabolizma homocisteina kao što su smanjena aktivnost metionin sintetaze, betain-homocistein metiltransferaze i metionin adenozin transferaze (MAT) sigurno doprinose ovom porastu (142).

1.8. Bolesti povezane s povišenom razinom homocisteina

Na početku istraživanja vezanih uz homocistein velika pažnja istraživača bila je usmjerena na vezu između povišenih vrijednosti i razvoja ateroskleroze. Zbog toga ne čudi činjenica da su najviše ispitivani utjecaji hiperhomocisteinemije kod pacijenata s kardiovaskularnim bolestima (KVB), ishemijskim bolestima srca, moždanim udarima, oboljenjima perifernih arterija i arterijskim venskim krvnim žilama. Međutim, skupljanjem znanja o patofiziološkim efektima koje nose sa sobom povišene koncentracije ove aminokiseline otvorila su se i pitanja povezanosti hiperhomocisteinemije s mnogim drugim bolestima.

1.8.1. Kardiovaskularne bolesti i povišena razina homocisteina

Hiperhomocisteinemija je nezavisni i umjereni rizični faktor za razvoj KVB. Ispitanici s povišenim homocisteinom imaju statistički značajno veću razinu glukoze u plazmi, sistolički i dijastolički tlak te ukupni kolesterol u odnosu na ispitanike s homocisteinom $<15 \mu\text{mol/L}$. To je u skladu s navodima iz literature (143,144) gdje se inače s hiperhomocisteinemijom povezuju manje zdrave životne navike i nepovoljni biološki rizični faktori.

Razlika u HDL kolesterol-u, LDL kolesterol-u i trigliceridima između ispitanika s povišenim i normalnim homocisteinom nije statistički značajna, ali pokazuje trend višeg LDL-kolesterola i triglicerida u skupini s povišenim homocisteinom. U literaturi se napominje da je hiperhomocisteinemija povezana s niskim HDL kolesterolom i da je ta povezanost osobito bitna kod pacijenata s dijabetesom i metaboličkim sindromom. Učinak homocisteina na HDL-kolesterol je vjerojatno u svezi s inhibicijom brojnih enzima koji sudjeluju u združivanju HDL partikula (145). Dvije velike prospektivne studije kod kojih je uzorak krvi uzet prije nego što je dijagnosticirano kardiovaskularno oboljenje su također ukazale na značaj povišene koncentracije ove aminokiseline (146,147).

1.8.2. Osteoporoza i povišena razina homocisteina

Razvitku osteoporoze i povišenim koncentracijama homocisteina posljednjih godina sve se više poklanja pažnja, što upućuje i na mnoštvo radova na tu temu (148,149).

Zbog slabljenja koštanog tkiva, za koje se smatra da, između ostalog, nastaje i kao posljedica nakupljanja homocisteina i njegovog vezivanja za kolagen, kod ovih osoba postoji veći rizik za nastanak fraktura. Određivanjem biokemijskih markera relevantnih za »burn over« koštanog tkiva kod pacijenata s hiperhomocisteinemijom ukazano je na prevagu procesa koštane resorpcije.

1.8.3. Endokrine bolesti i povišena razina homocisteina

Od endokrinih bolesti koje su praćene promjenama koncentracije homocisteina plazme najviše su ispitivani šećerna bolest i bolesti štitnjače. Za hipotireoidizam su karakteristične povišene koncentracije homocisteina (150,151) koje mogu biti jedan od razloga povećanog rizika za razvitak ateroskleroze kod ovih bolesnika.

Koncentracije homocisteina kod šećerne bolesti variraju u ovisnosti od tipa bolesti, primijenjene terapije, vitaminskog statusa, bubrežne funkcije i prisutnih komplikacija karakterističnih za ovu bolest. Tako Wollesen i suradnici nalaze niže vrijednosti homocisteina i kod dijabetesa tip 1 i tip 2 nezavisno od uzrasta pacijenata (152). Veldman i suradnici također niže vrijednosti homocisteina objašnjavaju povećanim renalnim klirensom zbog hiperfiltracije (153), a Mazza i suradnici čak 35% nižu koncentraciju homocisteina objašnjavaju utjecajem kronične hiperglikemije na bubrežnu ekskreciju homocisteina (154). Međutim, u velikom broju studija dokazane su povišene vrijednosti homocisteina naročito kod dijabetesa tip 2 (155-157) ukazujući na njihov značaj kao faktora rizika za razvitak kardiovaskularnih i drugih komplikacija kod dijabetičara. Velika multicentrična studija provedena u 13 europskih zemalja kod pacijenata sa šećernom bolesti tipa 1 ukazala je na značaj povišenih koncentracije homocisteina u patogenezi vaskularnih komplikacija kod ove

bolesti (158). Vitaminski status, naročito nizak nivo B12 vitamina koji se često sreće kod dijabetičara, česti je uzrok povišenih koncentracija homocisteina kod ovih pacijenata.

1.9. Kvaliteta života

1.9.1. Definicija kvalitete života

U literaturi o kvaliteti života nalazimo stotinjak definicija i modela. Danas prisutan velik broj različitih definicija i modela kvalitete života govori o različitom poimanju tog koncepta. Također postoji niz teorija, a posljedično i upitnika za mjerenje kvalitete života. Međutim, još uvijek ne postoji slaganje oko definicije kvalitete života, niti univerzalno prihvaćen "zlatni standard" mjerenja. Obzirom da ne postoji jedna, univerzalno prihvaćena definicija kvalitete života, ovdje će biti prikazane neke od najčešće citiranih.

Svjetska zdravstvena organizacija (SZO) definira kvalitetu života kao pojedinačnu percepciju pozicije u specifičnom kulturološkom, društvenom te okolišnom kontekstu (159). Jednu od sveobuhvatnijih definicija kvalitete života iznose Felce i Perry (160) definirajući kvalitetu života kao sveukupno, opće blagostanje koje uključuje objektivne čimbenike i subjektivno vrednovanje fizičkog, materijalnog, socijalnog i emotivnog blagostanja, uključujući osobni razvoj i svrhovitu aktivnost, a sve promatrano kroz osobni sustav vrijednosti pojedinca. Cummins (161) kvalitetu života također definira multidimenzionalno navodeći da kvaliteta života podrazumijeva i objektivnu i subjektivnu komponentu. Subjektivna kvaliteta života uključuje sedam domena: materijalno blagostanje, emocionalno blagostanje, zdravlje, produktivnost, intimnost, sigurnost i zajednicu.

1.9.2. Pristupi u mjerenju i mjerenje kvalitete života

Povijesno gledano dva su osnovna pristupa u mjerenju kvalitete života. Jedan pristup podrazumijeva mjerenje kvalitete života u cjelini i on se naziva jednodimenzionalnim, jer

promatra kvalitetu života kao jedinstven entitet. Prema drugom pristupu kvaliteta života se poima kao složena konstrukcija diskretnih domena (162-164). U mjerenju kvalitete života koriste se upitnici kojima se procjenjuje više različitih područja života pojedinca. Usprkos izostanku slaganja oko definiranja kvalitete života, među istraživačima danas postoji slaganje oko dva osnovna aspekta koncepta kvalitete života: subjektivnost i multidimenzionalnost.

Subjektivnost se odnosi na činjenicu da se kvaliteta života može razumjeti samo iz perspektive pojedinca. Multidimenzionalnost potječe iz psihometrijske tradicije mjerenja zdravstvenog statusa (jer je zdravlje tradicionalno prepoznato kao multidimenzionalni konstrukt) i iz rezultata istraživanja koja sistematski pokazuju da postoje brojna različita područja života pojedinca važna za njegovu kvalitetu života.

Objektivne okolnosti čine relativno trajni uvjeti koji određuju mogućnost zadovoljenja osobno važnih potreba (socio-ekonomski status pojedinca i njegove obitelji, prirodna okolina, kriminal, itd.) kao i sadašnji događaji koji su značajni za ispunjenje ciljeva pojedinca (gubitak posla, bolest, gubitak voljene osobe itd.). Emocionalne reakcije su prema definiciji, ovisne o trajnim dimenzijama ličnosti kao što su to ekstraverzija i neuroticizam, te psihoticizam. Iako svi navedeni faktori predstavljaju relativno stabilne determinante kvalitete života, specifični, važni životni događaji (značajno zdravstveno, materijalno, socijalno i psihološko pogoršanje ili poboljšanje) također mogu imati snažan utjecaj na kvalitetu života.

1.9.2.1. Zdravstveni status - upitnik SF- 36

Izbor Upitnika SF-36 („The short form 36 health survey questionnaire - SF 36”) (165) kao jednog od najčešće korištenog za evaluaciju zdravstvenog stanja potaknut je nizom rezultata istraživanja širom svijeta, ali i u Hrvatskoj (166-169). Danas je to najčešće korišten instrument znanstvenih i stručnih istraživanja o subjektivnom zdravlju. Upitnik SF-36 reprezentira teorijski utemeljenu i empirijski provjerenu operacionalizaciju dvaju generalnih koncepta zdravlja – fizičko zdravlje i psihičko zdravlje te dvije njegove općenite manifestacije – funkcioniranje i dobrobit. S tim u skladu, upitnik sadrži četiri vrste skala ili četiri

konceptualno različite mjere zdravlja. One se odnose na sljedeće procjene ili pokazatelje zdravlja: a) funkcioniranje na ponašajnoj razini, b) percipiranu dobrobit, c) ograničenja vezana uz socijalni život i ostvarenje različitih životnih uloga, d) osobnu procjenu (percepciju) ukupnog zdravlja.

Na manifestnoj razini, svaka od čestica upitnika odnosi se na jedno od osam različitih područja zdravlja, unutar dva općenita koncepta zdravlja, psihičkog i fizičkog. Na taj način Upitnik SF-36 sadrži osam različitih skala zdravlja, a ukupan se rezultat prikazuje u formi profila.

1.9.2.2. Stres i percepcija stresa

Istraživanja o povezanosti zadovoljstva životom, emocionalne kontrole i percipiranog stresa sve su češća, jer su sve više i razine stresa. Percipirani stres ima veliku ulogu u procjeni nečije kvalitete života. Osobe s većim razinama percipiranog stresa procjenjuju svoju kvalitetu života nižom od osoba koje percipiraju manji stres, odnosno imaju uspješnije strategije suočavanja sa stresom (170,171). Istodobno, istraživanja pokazuju da osobe s većim životnim zadovoljstvom percipiraju manji stres od onih koje su manje zadovoljne životom (172).

Pojam stresa definira se kao tjelesna i psihološka reakcija na vanjske i unutarnje stresore (173). Odnosi se na stanje tjelesne ili psihičke napetosti pod utjecajem poremećene psihofizičke ravnoteže izazvane fizičkom, psihičkom ili socijalnom ugroženošću same osobe ili nekog njemu bliskog (173). Postoje tri pristupa u shvaćanju pojma stresa. Prvi ga konceptualizira kao objektivni podražaj koji izaziva stresni odgovor, drugi pristup shvaća stres kao odgovor organizma na neki podražaj, dok ga treći pristup definira kao interakciju pojedinca i okoline (174).

Pojam stres ne odnosi se na sam događaj, nego na odgovor osobe na taj događaj. Naime, reakcije na stres subjektivne su i svaki pojedinac različito će percipirati zahtjeve i pritiske koji su pred njim. Lazarus (175) smatra da će se stres pojaviti samo u slučaju kod

osoba prošla kroz dvije procjene. Primarna procjena odnosi se na percepciju događaja kao prijetnje osobnim ciljevima pojedinca, a sekundarna procjena na procjenu osobe da nema mehanizama potrebnih za suočavanje sa zahtjevima prijetećeg događaja.

Stresovi se dijele na akutne, koje uzrokuju nagle i kratkotrajne promjene u okolini pa izazivaju i nagle promjene u organizmu te kronične, koji su uzrokovani trajnom neugodnom situacijom i dugoročno izazivaju stres kod pojedinca. Kronični stres više će se očitovati u emotivnim promjenama, a manje u fiziološkim. Neki autori proširuju ovu podjelu pa navode četiri oblika stresa: akutni, epizodni akutni stres, traumatski stres i kronični stres (175). Prema ovoj podjeli akutni stres podrazumijeva iznenadne zahtjeve koji su stavljeni pred osobu dok se epizodni akutni stres odnosi na ponavljane epizode akutnog stresa. Traumatski stres podrazumijeva veliku količinu akutnog stresa čiji utjecaj može trajati godinama, pa čak i cijeli život. Za razliku od akutnih stresova, kronični stres traje znatno duže. Osim podjele prema trajanju, stres se može podijeliti i prema jakosti na male svakodnevne stresove, velike životne stresove i traumatske životne stresove. Mali životni stres, koji se događa svakodnevno, ne uzrokuju značajne negativne promjene kod pojedinca te čak može imati i pozitivne posljedice, jer omogućava pojedincu vježbanje suočavanja sa stresnim situacijama. S druge strane, najčešći izvor stresa kod većine ljudi upravo su svakodnevne brige. Iako slabijeg intenziteta od velikih i traumatskih životnih stresova, one su kronične i ponavljajuće dok su veliki životni i traumatski stresovi za većinu ljudi rijetki.

Zdravstveni psiholozi smatraju da stres ima aditivne učinke, što znači da se učinci stresa zbrajaju i akumuliraju u osobi tijekom vremena. U slučajevima visokog stresa, kod osobe se mogu javiti jake fiziološke promjene koje mogu uzrokovati tjelesne smetnje, odnosno određene psihosomatske simptome koji se zatim mogu razviti i u određene psihosomatske bolesti.

Bolesti kod kojih stres ima posebno velik utjecaj su bolesti srca i krvnih žila (npr. povišen arterijski krvni tlak, srčane aritmije), bolesti probavnog sustava (npr. ulkusna bolest), bolesti žlijezda s unutrašnjim izlučivanjem (npr. hipertireoza, dijabetes), bolesti dišnog

sustava (npr. astma), bolesti sustava organa za kretanje (npr. psihogeni reumatizam), kožne bolesti i nesanicu.

Zbog važne uloge koju stres ima u nastanku i oporavku od bolesti sve je više istraživanja kojima se nastoje utvrditi obrasci djelovanja različitih oblika stresa s obzirom na različite varijable i psihosocijalne posrednike na funkcioniranje pojedinca, zdravstvene ishode, a time i na kvalitetu života. Obzirom da je područje istraživanja odrednica kvalitete života vrlo široko, a istraživanja ne daju jednoznačne rezultate, razni autori odlučuju se istraživati različite konstrukte i stanja u odnosu na subjektivnu kvalitetu života.

Postoji veliki broj istraživanja koja istražuju utjecaj čitavog niza kroničnih bolesti na kvalitetu života, koristeći kao mjerni instrument SF-36 i skalu percepcije stresa. U literaturi nismo naišli na istraživanje koje procjenjuje kvalitetu života u zdravoj populaciji i to kod vegetarijanaca koji vježbaju jogu, vegetarijanaca koji ne vježbaju jogu, nevegetarijanaca koji vježbaju jogu i nevegetarijanaca koji ne vježbaju jogu. Rezultati pilot studije koji su pratili vegane i sirovojedce pokazuju značajno bolje rezultate u mentalnom i emocionalnoj percepciji zdravlja, a također se i percipirani stres značajno smanjio 12 tjedana nakon provođenja veganske prehrane (176).

2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

Hipoteza ovog istraživanja je da vegetarijanski način prehrane iako ne utječe značajno na promjene vrijednosti pojedinačnih parametara u krvi (homocisteina, vitamina B12, folata, hematoloških, biokemijskih i fizikalnih parametara) doprinosi unaprijeđenju kvalitete života.

Cilj istraživanja je da se pomoću hematoloških, biokemijskih i fizikalnih parametara provjeri u kojoj mjeri vegetarijanska prehrana i stil života unaprijeđuju kvalitetu života. Određivanjem polimorfizma MTHFR C677T, provjerit će se mogući genetski utjecaj na metabolizam homocisteina kod ispitanika koji su homozigoti (T/T) ili heterozigoti (C/T) za ovu mutaciju, koja kodira nedovoljno učinkovit enzim u metabolizmu homocisteina.

Specifični ciljevi:

1. Ustanoviti da li vegetarijanska prehrana utječe na nutritivni status vitamina B12, folata i razinu homocisteina
2. Ustanoviti postoji li razlika u hematološkim, biokemijskim i fizikalnim parametrima u grupi vegetarijanaca koji su na vegetarijanskoj prehrani minimalno dvije godine i kontrolne grupe nevegetarijanaca
3. Ustanoviti postoji li razlika u nutritivnom statusu vitamina B12, folata i homocisteina, hematološkim, biokemijskim i fizikalnim parametrima u grupi vegetarijanaca koji vježbaju, odnosno ne vježbaju jogu i kontrolne grupe nevegetarijanaca koji vježbaju, odnosno ne vježbaju jogu
4. Ustanoviti postoji li razlika u kvaliteti života između vegetarijanaca i kontrolne grupe (nevegetarijanaca)

5. Ustanoviti postoji li razlika u kvaliteti života između ispitanika koji vježbaju jogu i kontrolne grupe ispitanika koji ne vježbaju jogu

6. Ustanoviti genotip mutacije MTHFR C677T kod svih ispitanika (vegetarijanaca i kontrolne grupe nevegetarijanaca)

7. Ustanoviti da li polimorfizam MTHFR C677T ima utjecaj na metabolizam vitamina B12, folata i homocisteina kod ispitanika koji su homozigoti ili heterozigoti za ovu mutaciju u skupini vegetarijanaca u usporedbi s kontrolnom skupinom nevegetarijanaca.

3. ISPITANICI I METODE

3.1. Ispitanici

U istraživanju su sudjelovali ispitanici koji su podijeljeni u četiri grupe: vegetarijanci koji vježbaju jogu, vegetarijanci koji ne vježbaju jogu, a minimalno su 2 godine na vegetarijanskoj prehrani te kontrolna grupa nevegetarijanaca koji vježbaju odnosno ne vježbaju jogu. Definiranje podskupine (vegetarijanci i nevegetarijanci) je kontrolirano na tri načina: 1) ispitanikova definicija osobne prehrane, 2) dvostruka provjera na ponuđenom popisu namirnica životinjskog podrijetla (crveno meso, meso peradi, jaja, mlijeko, sir, jogurt, riba, školjke, med), ispitanici su označili namirnice koje ne konzumiraju, a zatim su na ponovljenom jednakom popisu označili koje namirnice konzumiraju te koliko puta mjesečno.

U ispitivanje je bilo uključeno ukupno 100 zdravih ispitanika, od toga 47 vegetarijanaca i 53 nevegetarijanca prosječne životne dobi 43 godina (Tablica 1), od toga oni koji vježbaju jogu 54 ispitanika, a 46 ispitanika koji ne vježbaju jogu (Tablica 2). Informativni letak u kojem je opisan osnovni koncept studije i navedene obaveze potencijalnih ispitanika dostavljen je u elektronskom ili tiskanom obliku u udruhu Joga u svakodnevnom životu Rijeka, svim članovima. Također je elektronski ili tiskanim oblikom upućen poziv i ostalim zainteresiranim dobrovoljcima. Selekcija zainteresiranih ispitanika izvršena je prema kriteriju zdravstvenog statusa, spola i dobi.

Tablica 1. Opći podaci za ispitanike obzirom na tip prehrane

| | N | Z(%) | M(%) | Prosječna dob u god. (SD) |
|-----------------|-----|---------|---------|---------------------------|
| Vegetarijanci | 47 | 31 (66) | 16 (34) | 42,31 (11,70) |
| Nevegetarijanci | 53 | 42 (79) | 11 (21) | 43,26 (12,16) |
| Ukupno | 100 | 73 (73) | 27 (27) | 42,82 (11,90) |

Tablica 2. Opći podaci za ispitanike obzirom na vježbanje i ne vježbanje joge

| | N | Ž (%) | M (%) | Prosječna dob u god. (SD) |
|------------------|----|---------|---------|---------------------------|
| Vježbaju jogu | 54 | 43 (80) | 11 (20) | 44,22 (12,70) |
| Ne vježbaju jogu | 46 | 30 (65) | 16 (35) | 41,17 (10,79) |

Prva faza studije sastojala se od prikupljanja prehrambenog upitnika, upitnika kvalitete života (zdravstveni upitnik Sf-36 i skala percipiranog stresa). Druga faza sastojala se od vađenja krvi, analize biokemijskih pokazatelja i molekularne analize genotipa MTFHR C677T. Iz istraživanja su isključeni ispitanici mlađi od 18 i stariji od 69 godina, ispitanici koji su imali neku kroničnu bolest, uzimali hormone ili druge lijekove.

Ispitivanje je provedeno na Klinici za internu medicinu i u Kliničkom zavodu za laboratorijsku dijagnostiku (KZLD) Kliničkog bolničkog centra Rijeka, a za molekularne analize u Laboratoriju za molekularnu dijagnostiku Zavoda za patologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Rijeci. Svi su sudionici istraživanja potpisali informirani pristanak.

Ispitanike se na sudjelovanje u studiji motiviralo povratnom informacijom o zdravlju i vitaminskom statusu folata i vitamina B12.

3.2. Metode

3.2.1. Antropometrijska mjerenja

Svim je ispitanicima izmjerena visina i tjelesna masa iz čega im se odredio indeks tjelesne mase (ITM). ITM izračunat je kao visina u kilogramima podijeljena s kvadratom visine u metrima.

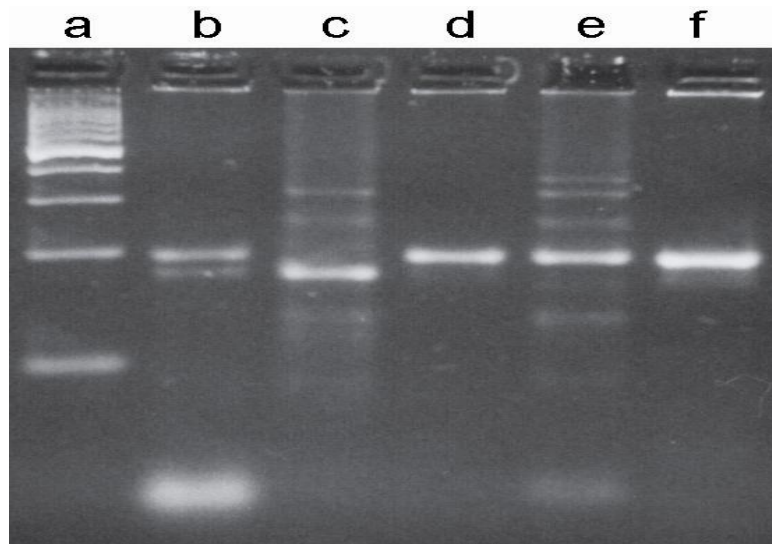
3.2.2. Analiza hematoloških i biokemijskih parametara

Hematološke i biokemijske pretrage učinjene su KZLD. Iz uzorka periferne krvi određivane su hematološke pretrage, a iz seruma ili plazme vrijednosti glukoze, ukupnog kolesterola, triglicerida, HDL i LDL-kolesterola, kreatinina, ukupnog homocisteina, folata i vitamina B12 prema preporuci proizvođača komercijalnih testova. Rutinske hematološke pretrage učinjene su na hematološkom analizatoru Cell Dym 3700 (Abbott, USA), biokemijske na analizatoru COBAS 6000 (Roche, Njemačka), a koncentracija homocisteina (Architect Homocysteine Reagent, Abbott, USA), folata (Architect Folate Reagent, Abbott, USA) i vitamina B12 (Architect B12 Reagent, Abbott, USA) određivana je hemiluminiscentnom metodom (CMIA) na automatiziranom imunoanalizatoru Architect (Abbott Laboratories, USA).

3.2.3. Analiza MTHFR C677T polimorfizma

Molekularne analize učinjene su u Laboratoriju za molekularnu dijagnostiku Zavoda za patologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Rijeci. Za utvrđivanje polimorfizma C677T MTHFR gena, izolirana je DNA iz leukocita periferne krvi pomoću NucleoSpin Blood kita (Machery-Nagel, Duren, Njemačka). Preme metodi Frosst i sur. (1995.)** i Goyette i sur.

(2007) metodom lančane reakcije polimerazom (PCR) umnožen je ciljani fragment genomske DNA, veličine 198 parova baza. Genotip MTHFR C677T svakog ispitanika određen je digestijom dobivenog PCR produkta s restriksijskim enzimom Hinf I, prema preporuci proizvođača enzima (Takara, Japan). Nakon digestije, dobiveni DNA fragmenti razdvojeni su na 3% agaroznom gelu (Slika 4 i 5). MTHFR 677 C/C genotip (divlji tip) nema restriksijsko mjesto, tako da nakon digestije ostaje iste veličine – 198 parova baza. MTHFR 677 C/T genotip nakon digestije se nalazi u tri restriksijska fragmenta – 198, 175 i 23 parova baza, a MTHFR 677T/T genotip pokazuje dva fragmenta veličine – 175 i 23 parova baza.

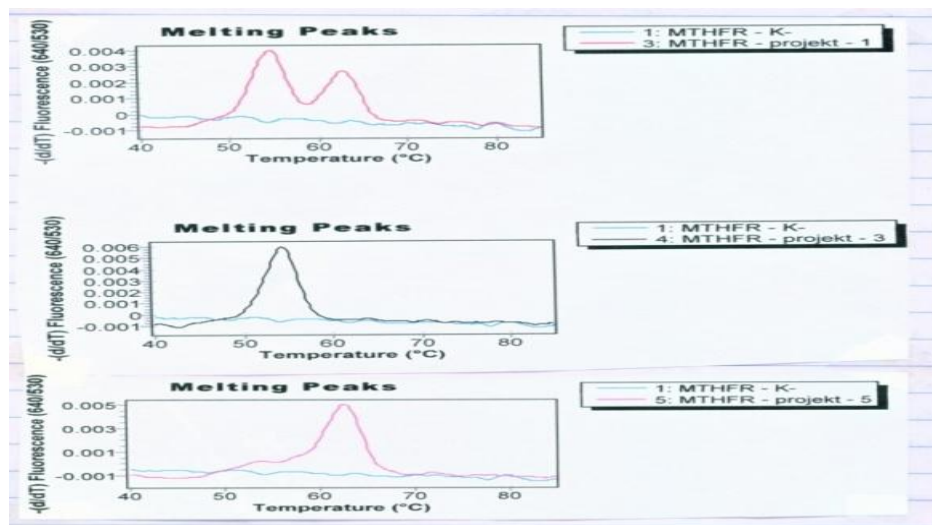


Slika 4. Elektroforeza fragmenata DNA nakon restrikcije sa Hinf I enzimom, na agaroznom gelu 3%

Na pozicijama d, e i f su homozigotni genotipovi MTHFR 677C/C. Veličina PCR produkta je 198 pb, a produkt ne posjeduje Hinf I restriksijsko mjesto.

Na poziciji b se nalazi heterozigotni genotip MTHFR 677C/T. Ispitanik ima oba alela istog gena. Nakon restrikcije s Hinf I enzimom uočavaju se dvije vrpce: jedna veličine 198 pb i druga veličine 175 pb.

Na poziciji c se nalazi homozigotni genotip za MTHFR 677T/T. Restrikcijom se dobiju dvije vrpce veličine 175 i 23 pb.



Slika 5. Krivulje taljenja PCR produkata MTHFR C677/T po metodi fluorescentnog Real-time PCR- a (Roche diagnostics)

- A. MTHFR 677C/T (heterozigot divlji tip/ mutacija T)
- B. MTHFR 677T/T (homozigot- T/T aleli)
- C. MTHFR 677C/C (homozigot“ divlji tip“ - C/C aleli)

3.2.4. Upitnici

3.2.4.1. Anamnestički podaci

U anamnestičkim podacima analizirane su prehrambene navike, konzumiranje alkohola, pušački status, tjelesna aktivnost i obiteljska anamneza.

3.2.4.2. Prehrana

Prehrana je procijenjena upitnikom praćenja dnevnog unosa hrane kvantitativni upitnik o učestalosti konzumiranja hrane i pića (FFQ) za procjenu unosa kalcija, folata, i procjena kakvoće prehrane. Na temelju ovog upitnika postavljene su mjere za određivanje skupine ispitanika: vegetarijanci i nevegetarijanci.

3.2.4.3. Vježbanje joge

Za procjenu utjecaja prakticiranja joge uzeti su sljedeći pokazatelji: redovito bavljenje jogom najmanje godinu dana u sustavu Joga u svakodnevnom životu dva puta tjedno.

3.2.4.4. Procjena kvalitete života

3.2.4.4.1. Upitnik SF- 36

Prilikom procjene zdravstvenog statusa koristili smo se upitnikom SF-36 koji omogućava procjenu zdravstvenog statusa u više kategorija.

SF-36 je višefunkcionalna skraćena skala koja ispituje dva generalna koncepta zdravlja: tjelesno i psihičko zdravlje. Izradila ga je Svjetska zdravstvena organizacija (SZO),

instrument je validiran u nas (274). Sadrži 36 čestica koje opisuju tjelesno i mentalno zdravlje osobe kroz osam skala: Tjelesno funkcioniranje (PF), Ograničenja u ostvarenju životnih uloga zbog tjelesnog zdravlja (RL), Tjelesni bolovi (BP), Opće zdravlje (GH), Vitalnost (energija/umor) (VE), Socijalno funkcioniranje (SF), Ograničenja u ostvarenju životnih uloga zbog emocionalnih problema (MH) i Emocionalna dobrobit (MH).

Svaka skala sastoji se od različitog broja čestica. Odgovor ispitanika na pojedinoj čestici transformira se u broj bodova na skali od 0 do 100 prema uputama (275). Vrijednost 100 predstavlja najveću razinu funkcioniranja odnosno zdravlja, a 0 najmanju moguću. Time se mogu usporediti pojedine manifestacije zdravlja koje mjeri ovaj upitnik. Ukupan rezultat ispitanika najčešće se izražava kroz ukupno tjelesno i mentalno zdravlje te kao sumarni rezultat ukupno zdravlje. Ukupan rezultat najčešće se prikazuje u obliku profila (276).

Mjera ukupnog tjelesnog zdravlja (TZ) prikazana je kao prosječan rezultat ispitanika na skalama Tjelesno funkcioniranje (PF), Ograničenja u ostvarenju životnih uloga zbog tjelesnog zdravlja (RL), Tjelesni bolovi (BP), Opće zdravlje (GH). Mjera ukupnog mentalnog zdravlja (MZ) prikazana je kao prosječan rezultat ispitanika na skalama Socijalno funkcioniranje (SF), Ograničenja u ostvarenju životnih uloga zbog emocionalnih problema (MH) i Emocionalna dobrobit (MH).

Pouzdanost tipa interne konzistencije (Cronbach alfa) za dimenziju ukupno fizičko zdravlje je 0,76 a za dimenziju mentalno zdravlje 0,78.

Važno je napomenuti da se većina čestica odnosi na procjenu zdravstvenog stanja unazad posljednja četiri tjedna. Instrument posjeduje zadovoljavajuće psihometrijske karakteristike. Utvrđena je korelacija od 0,40 ili veća s većinom poznatih mjerila općeg zdravlja. Test-retest u većini slučajeva postiže vrijednost višu od 0,80. Metodološka utemeljenost koja je pratila razvoj Upitnika zdravlja SF-36 te njegova pozitivna internacionalna reputacija razlog su uvrštavanja navedenog upitnika u ovo istraživanje.

Korištena je hrvatska verzija licencirana u Školi narodnog zdravlja Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

3.2.4.4.2. Ljestvica percipiranog stresa

Ovom ljestvicom mjeri se stupanj u kojem ispitanici svoj život doživljavaju nepredvidljivim, nekontrolabilnim i preopterećujućim, trima osnovnim komponentama doživljaja stresa. Pitanja su općenita i time neovisna o kontekstu ili populaciji koja se ispituje, na primjer, „U proteklih mjesec dana, koliko ste se često osjećali nesposobnim kontrolirati bitne stvari u svom životu?“. Sastoji od 10 čestica na koje ispitanici odgovaraju koliko često su se u proteklih mjesec dana osjećali ili razmišljali na određeni način. Na skali Likertovog tipa od 0 - nikada do 4 vrlo često, ispitanici procjenjuju stupanj stresa.

Ukupan rezultat dobiva se zbrajanjem svih odgovora pri čemu veći rezultat znači veći percipirani stres sudionika. S obzirom na to da na procjenu stresa ovom ljestvicom utječu svakodnevne brige, veliki životni događaji i promjene u suočavanju sa stresom, prediktivna vrijednost ljestvice opada nakon četiri do osam tjedana zbog čega nije preporučljivo ispitivati osjećaje i misli dalje od unazad mjesec dana.

Za provjeru latentne strukture Skale percipiranog stresa učinjena je eksplorativna faktorska analiza, oblimin rotacija uz ekstrakciju faktora metodom najveće sličnosti („*maximum likelihood*“). Cattellov grafički prikaz opadanja vrijednosti karakterističnog korijena (scree plot) upućuje na postojanje jednog faktora (prvih četiri eigen vrijednosti 4.42, 1.29, 0.85 i 0.83) koji objašnjava 44% zajedničke varijance. Koeficijent unutarnje pouzdanosti (Cronbach alfa) u ovom istraživanju iznosi 0.85.

3.3. Statistička obrada podataka

Podaci su obrađeni multivarijatnim statističkim postupcima (analiza varijance, faktorska ANOVA). Sumarni rezultat Ljestvice percipiranog stresa prikazan je deskriptivnom metodom (aritmetička sredina i standardna devijacija) i korištena je kao nezavisna varijabla. Podaci prikupljeni Upitnikom SF-36 transformirani su u postotne bodove i prikazani kroz sumarni rezultat na osam skale te sumarni rezultat tjelesnog, mentalnog zdravlja i ukupnog zdravlja.

Provjerene su metrijske karakteristike odnosno pouzdanost Upitnika SF-36. Deskriptivnim metodama prikazan je genotip MTFHR.

Utjecaj genotipa i prehrane na razinu homocistina provjeren je faktorskom ANOVAOM i neparametrijskom zamjenom Mann-Withney U testom. Hijerarhijskom regresijskom analizom utvrdio se utjecaj nezavisnih varijabli (dobi, spola, navika pušenja, konzumiranja alkohola, vježbanja i tipa prehrane) na razinu homocisteina.

Za statističku obradu podataka korišten je statistički paket SPSS verzija 17. Rezultati su interpretirani na 1% odnosno 5%-tnoj razini značajnosti, a značajnom je smatrana svaka razlika veća od 5%.

3.4. Etički aspekti istraživanja

Istraživanjem je osigurano poštivanje bioetičkih standarda, odnosno četiriju temeljnih bioetičkih principa (osobni integritet - autonomnost, pravednost, dobročinstvo i neškodljivost) te privatnost, a u skladu s Nürnberškim kodeksom, najnovijom revizijom Helsinške deklaracije te ostalim mjerodavnim dokumentima.

Medicinski podaci prikupljeni su u skladu s bioetičkim standardima, osigurana je privatnost (medicinska tajna) ispitanika uključenih u istraživanje i zaštita tajnosti podataka. Ispitanici su bili upoznati s medicinskim i ostalim dodatnim istraživanjima i svoj pristanak na sudjelovanje u istraživanju potvrdili potpisivanjem informirane suglasnosti.

Dobivena je i suglasnost etičkog povjerenstva Kliničkog bolničkog centra Rijeka i Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Rijeci za izvođenje studije.

4. REZULTATI

4.1. Usporedba statusa vitamina B12, folata i vrijednosti homocisteina između vegetarijanaca i nevegetarijanaca

U istraživanju je sudjelovalo 47 osoba na vegetarijanskoj prehrani i 53 osobe na nevegetarijanskoj prehrani. Kako bi se utvrdilo postoji li razlika među ispitanicima vegetarijancima i nevegetarijancima u nutritivnom statusu vitamina B12, folata i vrijednosti homocisteina provedena je jednosmjerna analiza varijance.

Tablica 3. Vrijednosti vitamina B12, folne kiseline i homocisteina u ispitanika vegetarijanaca i nevegetarijanaca

| Parametri | Vegetarijanci (N=47) | | Nevegetarijanci (N=53) | | p |
|-----------------------|----------------------|---------------|------------------------|---------------|--------|
| | M (SD) | CI (95%) | M (SD) | CI (95%) | |
| Vitamin B12 (pmol/L) | 237,21 (SD=117,81) | 202,62-271,80 | 320,77 (SD=102,16) | 292,61-348,93 | <0,000 |
| Folna kiselina (g/mL) | 8,17 (SD=4,04) | 6,98-9,35 | 9,16(SD=5,21) | 7,72-10,60 | 0,295 |
| Homocistein (mol/L) | 14,10 (SD=6,69) | 12,13-16,06 | 10,49 (SD=2,41) | 9,82-11,15 | <0,000 |

Legenda: M- aritmetička sredina, SD- standardna devijacija, CI- interval pouzdanosti, p-razina značajnosti

Utvrđene su statistički značajne razlike u nutritivnom sastavu vitamina B12, folata i razine homocisteina među ispitanicima na vegetarijanskoj prehrani i onima na nevegetarijanskoj prehrani (Tablica 3). Vegetarijanci imaju statistički značajno nižu razinu vitamina B12 i višu razinu homocisteina u odnosu na nevegetarijance. Ne postoje statistički značajne razlike među vegetarijancima i nevegetarijancima u odnosu na razinu folne kiseline.

4.2. Usporedba hematoloških, biokemijskih i fizikalnih parametara između vegetarijanaca i nevegetarijanaca

Kako bi se utvrdilo postoji li razlika u hematološkim, biokemijskim i fizikalnim parametrima među ispitanicima koji su minimalno dvije godine na vegetarijanskoj prehrani i nevegetarijancima provedena je jednosmjerna analiza varijance.

Tablica 4. Hematološki, biokemijski i fizikalni parametri u ispitanika vegetarijanaca i nevegetarijanaca

| Parametri | Vegetarijanci (N=47) | | Nevegetarijanci (N=53) | | p |
|---|----------------------|-------------|------------------------|-------------|--------|
| | M (SD) | CI (95%) | M (SD) | CI (95%) | |
| Glukoza (mmol/L) | 4,88 (SD=0,53) | 4,72-5,03 | 4,89 (SD=0,44) | 4,77-5,01 | 0,922 |
| Kolesterol (mmol/L) | 4,58 (SD=1,46) | 4,15-5,01 | 5,53 (SD=0,94) | 5,26-5,78 | <0,000 |
| Trigliceridi (mmol/L) | 0,90 (SD=0,38) | 0,78-1,01 | 0,98 (SD=0,35) | 0,88-1,07 | 0,277 |
| HDL-kolesterol (mmol/L) | 1,52 (SD=0,35) | 1,41-1,62 | 1,63 (SD=0,46) | 1,51-1,76 | 0,164 |
| LDL-kolesterol (mmol/L) | 2,76 (SD=0,99) | 2,46-3,04 | 3,43 (SD=0,81) | 3,20-3,65 | <0,000 |
| Kreatinin (umol/L) | 69,83 (SD=12,23) | 66,23-73,42 | 76,11 (SD=13,84) | 72,29-79,92 | <0,019 |
| Željezo (umol/L) | 15,76 (SD=7,20) | 13,64-17,87 | 15,76 (SD=6,40) | 13,91-17,44 | 0,950 |
| UIBC (umol/L) | 47,35 (SD=12,89) | 43,56-51,13 | 45,18 (SD=10,36) | 42,32-48,03 | 0,353 |
| TIBC (umol/L) | 63,00 (SD=8,41) | 60,53-65,47 | 59,92 (SD=8,67) | 57,52-62,30 | 0,074 |
| ITM (indeks tjelesne mase) kg/m ² | 23,34 (SD=2,86) | 22,49-24,17 | 24,04 (SD=3,34) | 23,11-24,96 | 0,264 |

Legenda: M- aritmetička sredina, SD- standardna devijacija, CI- interval pouzdanosti, p-razina značajnosti

Utvrđena je statistički značajna razlika u razini kolesterola, LDL kolesterola i kreatinina među vegetarijancima i nevegetarijancima, a u ostalim hematološkim, biokemijskim i fizikalnim parametrima nema statistički značajnih razlika.

Vegetarijanci imaju nižu razinu kolesterola (M=4,58, SD=1,46), LDL kolesterola (M=2,76, SD=0,99) i kreatinina (M=69,83, SD=12,23) od nevegetarijanaca.

4.3. Usporedba statusa vitamina B12, folata, koncentracije homocisteina, hematoloških, biokemijskih i fizikalnih parametra između ispitanika koji vježbaju jogu i kontrolne grupe koja ne vježba jogu

Kako bi se utvrdilo postoji li razlika između ispitanika koji vježbaju jogu i onih koji ne vježbaju jogu u statusu vitamina B12, folata, razine homocisteina, hematološkim, biokemijskim i fizikalnim parametrima provedena je jednosmjerna analiza varijance.

Tablica 5. Vrijednosti vitamina B12, folata, razine homocisteina, hematološkim, biokemijskim i fizikalnim parametrima u ispitanika koji vježbaju jogu i onima koji ne vježbaju

| Parametri | Vježbaju joge (N=54) | | Ne vježbaju jogu (N=46) | | p |
|---|----------------------|---------------|-------------------------|---------------|------------------|
| | (M,SD) | CI (95%) | (M,SD) | CI (95%) | |
| Vitamin B12 (pmol/L) | 283,39 (SD=119,99) | 250,63-316,14 | 279,28 (SD=114,66) | 245,23-313,33 | 0,862 |
| Folna kiselina (g/mL) | 9,09 (SD=0,57) | 7,94-10,22 | 8,24 (SD=5,27) | 6,67-9,80 | 0,371 |
| Homocistein (mol/L) | 11,45 (SD=4,93) | 10,40-13,09 | 12,71 (SD=5,53) | 11,06-14,34 | 0,362 |
| Glukoza (mmol/L) | 4,84 (SD=0,53) | 4,69-4,98 | 4,95 (SD=0,41) | 4,82-5,07 | 0,253 |
| Kolesterol (mmol/L) | 4,99 (SD=1,44) | 4,59-5,38 | 5,19 (SD=0,16) | 4,86-5,51 | 0,451 |
| Trigliceridi (mmol/L) | 0,93 (SD=0,34) | 0,83-1,02 | 0,96 (SD=0,40) | 0,83-1,07 | 0,733 |
| HDL-kolesterol (mmol/L) | 1,62 (SD=0,33) | 1,52-1,70 | 1,54 (SD=0,49) | 1,39-1,68 | 0,361 |
| LDL-kolesterol (mmol/L) | 3,04 (SD=1,01) | 2,75-3,31 | 3,20 (SD=0,90) | 2,93-3,46 | 0,395 |
| Kreatinin (umol/L) | 69,74 (SD=11,80) | 66,51-72,96 | 77,17 (SD=14,20) | 72,95-81,39 | <0,005 |
| Željezo (umol/L) | 15,68 (SD=5,96) | 14,05-17,30 | 15,76 (SD=7,65) | 13,48-18,03 | 0,952 |
| UIBC (umol/L) | 46,33 (SD=11,00) | 43,32-49,32 | 46,06 (SD=12,40) | 42,37-49,74 | 0,909 |
| TIBC (umol/L) | 61,89 (SD=8,41) | 59,59-64,18 | 60,75 (SD=8,96) | 58,09-63,41 | 0,514 |
| ITM (indeks tjelesne mase) kg/m ² | 23,19 (SD=2,65) | 22,46-23,90 | 24,32 (SD=3,54) | 23,26-25,37 | 0,070 |

Legenda: M- aritmetička sredina, SD- standardna devijacija, CI- interval pouzdanosti, p-razina značajnosti

Utvrđena je statistički značajna razlika samo u razini kreatinina među ispitanicima koji vježbaju jogu i onima koji ne vježbaju. Ispitanici koji vježbaju jogu imaju nižu razinu kreatinina ($M=69,74$, $SD=11,80$) od ispitanika koji ne vježbaju jogu ($M=77,17$; $SD=14,20$).

4.4. Usporedba kvalitete života između vegetarijanaca i nevegetarijanaca

Za procjenu kvalitete života koristio se Upitnik zdravlja SF-36. Ukupno je u obradi sudjelovalo 99 ispitanika, jer su kod jednog ispitanika nedostajali podaci.

Tablica 6. Aritmetička sredina, standardna devijacija, minimum i maksimum rezultata ispitanika na Upitniku SF-36

| SF-36 | M | SD | Min | Max |
|-------------------|-------|-------|-------|--------|
| Tjelesno zdravlje | 84,77 | 13,54 | 34,65 | 100,00 |
| Mentalno zdravlje | 75,88 | 15,76 | 28,00 | 100,00 |
| Ukupno zdravlje | 80,32 | 12,95 | 33,15 | 100,00 |

Legenda: M - aritmetička sredina; SD - standardna devijacija; Min - minimum; Max – maksimum

Ukupan prosječni rezultat ispitanika na dimenziji ukupnog tjelesnog zdravlja je 84,77 ($SD=13,53$), što znači da uz svoje zdravlje vežu uglavnom pozitivne percepcije i zadovoljstvo. Ispitanici koji na ovim mjerama postižu maksimalnih 100 bodova ne primjećuju nikakvih zdravstvenih ograničenja, navode pozitivna stanja i samoprocjenjuju svoje zdravlje poželjnim (Tablica 6).

Na dimenziji psihičkog zdravlja ukupan prosječni rezultat je viši od 75,88 ($SD=15,76$). Ukupan prosječni rezultat na dimenziji ukupnog zdravlja je 80,33 ($SD=12,95$) što ukazuje na povoljnu samoprocjenu ukupnog zdravlja.

Kako bi se utvrdilo postoji li razlika u samoprocjenjenoj kvaliteti života između vegetarijanaca i nevegetarijanaca provedena je jednosmjerna analiza varijance.

Tablica 7. Samoprocjenjena kvaliteta života u vegetarijanaca i nevegetarijanaca

| SF-36 | Vegetarijanci (N=47) | | Nevegetarijanci (N=53) | | p |
|-------------------|----------------------|-------------|------------------------|-------------|--------|
| | M (SD) | CI (95%) | M (SD) | CI (95%) | |
| Tjelesno zdravlje | 90,93 (6,81) | 88,92-92,92 | 79,21 (15,62) | 74,86-83,55 | <0,000 |
| Mentalno zdravlje | 79,92 (12,70) | 76,18-83,64 | 72,23 (17,42) | 67,37-77,07 | <0,015 |
| Ukupno zdravlje | 85,42 (8,54) | 82,91-87,92 | 75,72 (14,52) | 71,67-79,76 | <0,000 |

Legenda: M- aritmetička sredina, SD- standardna devijacija, CI- interval pouzdanosti, p-razina značajnosti

Utvrđeno je da postoje statistički značajne razlike u samoprocjenjenoj kvaliteti života između vegetarijanaca i nevegetarijanaca na svim dimenzijama: tjelesnom i mentalnom, odnosno ukupnom zdravlju. Vegetarijanci imaju višu razinu samoprocijenjenog tjelesnog (M=90,93, SD=6,81) i mentalnog zdravlja (M=79,91, SD=12,70) i shodno tome ukupnog zdravlja (M=85,42, SD=8,54) u odnosu na nevegetarijanace.

4.4.1. Usporedba razine stresa između vegetarijanaca i nevegetarijanaca

Samoprocjenjena razina stresa mjerena je Ljestvicom percipiranog stresa.

Ukupan rezultat ispitanika dobiven je zbrajanjem svih odgovora pri čemu veći rezultat znači veći percipirani stres ispitanika.

Tablica 8. Aritmetička sredina, standardna devijacija, minimum i maksimum rezultata ispitanika na Ljestvici percipiranog stresa

| Ljestvica | N | M | SD | Min | Max | Raspon |
|-----------|-----|-------|-------|-------|-------|--------|
| stres | 100 | 23,65 | 6,412 | 11,00 | 39,00 | 0-40 |

Legenda: M - aritmetička sredina, SD - standardna devijacija, Min – minimum, Max - maksimum

Prosječna vrijednost na Ljestvici percipiranog stresa ukazuje na povećane razine percipiranog stresa kod ispitanika ovog istraživanja (M=23,65; SD=6,41), što je iznad normativnih vrijednosti za ispitanu populaciju (M=14,2; SD=6,2).

Tablica 9. Percepcija stresa u ispitanika vegetarijanaca i nevegetarijanaca

| Ljestvica | Vegetarijanci (N=47) | | Nevegetarijanci (N=53) | | p |
|-----------|----------------------|-----------|------------------------|-----------|-------|
| | M (SD) | CI (95%) | M (SD) | CI (95%) | |
| Stres | 2,25 (0,65) | 2,05-2,43 | 2,46 (0,62) | 2,29-2,63 | 0,093 |

Legenda: M- aritmetička sredina, SD- standardna devijacija, CI- interval pouzdanosti, p-razina značajnosti

Utvrđeno je da nema statistički značajne razlike u percepciji stresa između vegetarijanca i nevegetarijanca (Tablica 9). Međutim, vegetarijanci percipiraju manju razinu stresa (M=2,25, SD=0,65) od nevegetarijanaca (M=2,46, SD=0,62) a razlika je relativno blizu razine statističke značajnosti ($p < ,093$).

4.5. Usporedba kvalitete života između ispitanika koji vježbaju jogu i onih koji ne vježbaju jogu

Za utvrđivanje razlika u kvaliteti života između ispitanika koji vježbaju jogu i onih koji ne vježbaju jogu provedena je jednosmjerna analiza varijance.

Tablica 10. Samoprocjenjena kvaliteta života u ispitanika koji vježbaju jogu i onih koji ne vježbaju

| SF-36 | vježbaju joge (N=54) | | ne vježbaju jogu (N=46) | | p |
|-------------------|----------------------|-------------|-------------------------|-------------|--------|
| | M (SD) | CI (95%) | M (SD) | CI (95%) | |
| Tjelesno zdravlje | 89,02 (8,49) | 86,67-91,35 | 79,88 (16,43) | 75,00-84,76 | <0,001 |
| Mentalno zdravlje | 78,42 (15,15) | 74,24-82,60 | 72,94 (16,11) | 68,16-77,72 | 0,085 |
| Ukupno zdravlje | 83,72 (10,61) | 80,79-86,64 | 76,41 (14,35) | 72,15-80,67 | <0,005 |

Legenda: M- aritmetička sredina, SD- standardna devijacija, CI-interval pouzdanosti p-razina značajnosti

Utvrđeno da postoje statistički značajne razlike u samoprocjenjenoj kvaliteti života između ispitanika koji vježbaju jogu i onih koji ne vježbaju jogu u dimenziji tjelesnog i ukupnog zdravlja. Ispitanici koji vježbaju jogu imaju višu samoprocijenjenu razinu tjelesnog zdravlja (M=89,02, SD=8,49) i ukupnog zdravlja (M=83,72, SD=10,61) od onih koji ne vježbaju jogu. Ispitanici koji vježbaju jogu imaju višu samoprocijenjenu razinu mentalnog zdravlja od kontrolne skupine, a razlika je blizu razine statističke značajnosti (Tablica 10).

4.5.1. Usporedba razine stresa između ispitanika koji vježbaju jogu i onih koji ne vježbaju jogu

Kako bi se utvrdilo postoji li razlika u percepciji razine stresa među ispitanicima koji vježbaju jogu i onima koji ne vježbaju jogu provedena je jednosmjerna analiza varijance.

Tablica 11. Percepcija stresa u ispitanika koji vježbaju jogu i onih koji ne vježbaju

| Ljestvica | vježbaju joge (N=54) | | ne vježbaju jogu (N=46) | | p |
|-----------|----------------------|-----------|-------------------------|-----------|-------|
| | M (SD) | CI (95%) | M (SD) | CI (95%) | |
| Stres | 2,27 (0,64) | 2,09-2,44 | 2,47 (0,63) | 2,28-2,65 | 0,118 |

Legenda: M- aritmetička sredina, SD- standardna devijacija, CI-interval pouzdanosti, p-razina značajnosti

Ne postoji statistički značajna razlika u percepciji razine stresa između ispitanika koji vježbaju jogu i onih koji ne vježbaju jogu. Međutim, ispitanici koji vježbaju jogu percipiraju manju razinu stresa (M=2,27, SD=0,64) od kontrolne grupe koja ne vježba (M=2,47, SD=0,63) (Tablica 11).

4.6. Analiza genetskog statusa enzima MTHFR C677/T

U tablici 12.i 13. prikazani su rezultati analize genetskog statusa enzima MTHFR C677/T na ukupnom uzorku ispitanika (N=100).

Tablica 12. Učestalost genotipova MTHFR C677T polimorfizma

| MTHFR C677T | N | % |
|------------------------------|-----|-------|
| Homozigoti za MTHFR 677T/T | 13 | 13,0 |
| Heterozigoti za MTHFR 677C/T | 43 | 43,0 |
| Homozigoti za MTHFR 677 C/C | 44 | 44,0 |
| Ukupno | 100 | 100,0 |

Tablica 13. Učestalost genotipova MTHFR C677T polimorfizma prema Hardy-Weinbergovoj raspodjeli

| MTHFR C677T | Opažene frekvencije f_{op} | Očekivane frekvencije prema Hardy-Weinberg načelu, $f_{o\check{c}}$ | $(f_{op}-f_{o\check{c}})^2/f_{o\check{c}}$ |
|------------------------------|------------------------------|---|--|
| Homozigoti za MTHFR 677T/T | 13 | 11,90 | 0,101 |
| Heterozigoti za MTHFR 677C/T | 43 | 45,20 | 0,107 |
| Homozigoti za MTHFR 677 C/C | 44 | 42,90 | 0,028 |
| Ukupno | 100 | 100,00 | 0,236 |

Rezultat testiranja $\chi^2=0,236$, što daje (za $df=1$) $p=0,887$, dakle raspodjela genotipova ne odstupa značajno od Hardy-Weinbergove raspodjele.

U ovom uzorku je 44% ispitanika koji nisu nositelji mutacije, 43% su heterozigotni nositelji, dok je 13% homozigotnih nositelja.

U tablici 14. prikazana je učestalost genotipova MTHFR C677T polimorfizma u skupini vegetarijanaca i nevegetarijanaca.

Tablica 14. Učestalost genotipova MTHFR C677T polimorfizma prema vegetarijanskoj i nevegetarijanskoj prehrani

| Vegetarijanci | | | |
|------------------------------|----|-------|-------|
| MTHFR C677T | N | % | kum% |
| Homozigoti za MTHFR 677T/T | 4 | 8,3 | 8,3 |
| Heterozigoti za MTHFR 677C/T | 22 | 47,9 | 56,3 |
| Homozigoti za MTHFR 677C/C | 21 | 43,8 | 100,0 |
| Ukupno | 47 | 100,0 | |

| Nevegetarijanci | | | |
|------------------------------|----|-------|-------|
| MTHFR C677T | N | % | kum% |
| Homozigoti za MTHFR 677T/T | 9 | 17,3 | 17,3 |
| Heterozigoti za MTHFR 677C/T | 21 | 38,5 | 55,8 |
| Homozigoti za MTHFR 677 C/C | 23 | 44,2 | 100,0 |
| Ukupno | 53 | 100,0 | |

U populaciji vegetarijanaca je 8,3% homozigotnih nositelja mutacije, 47,9% su heterozigotni nositelji i 43,8% ispitanika nisu nositelji mutacije, dok je među ispitanicima nevegetarijancima 17,3% homozigotnih nositelja mutacije, 38,5% su heterozigotni nositelji i 44,2% nisu nositelji mutacije (Tablica 14).

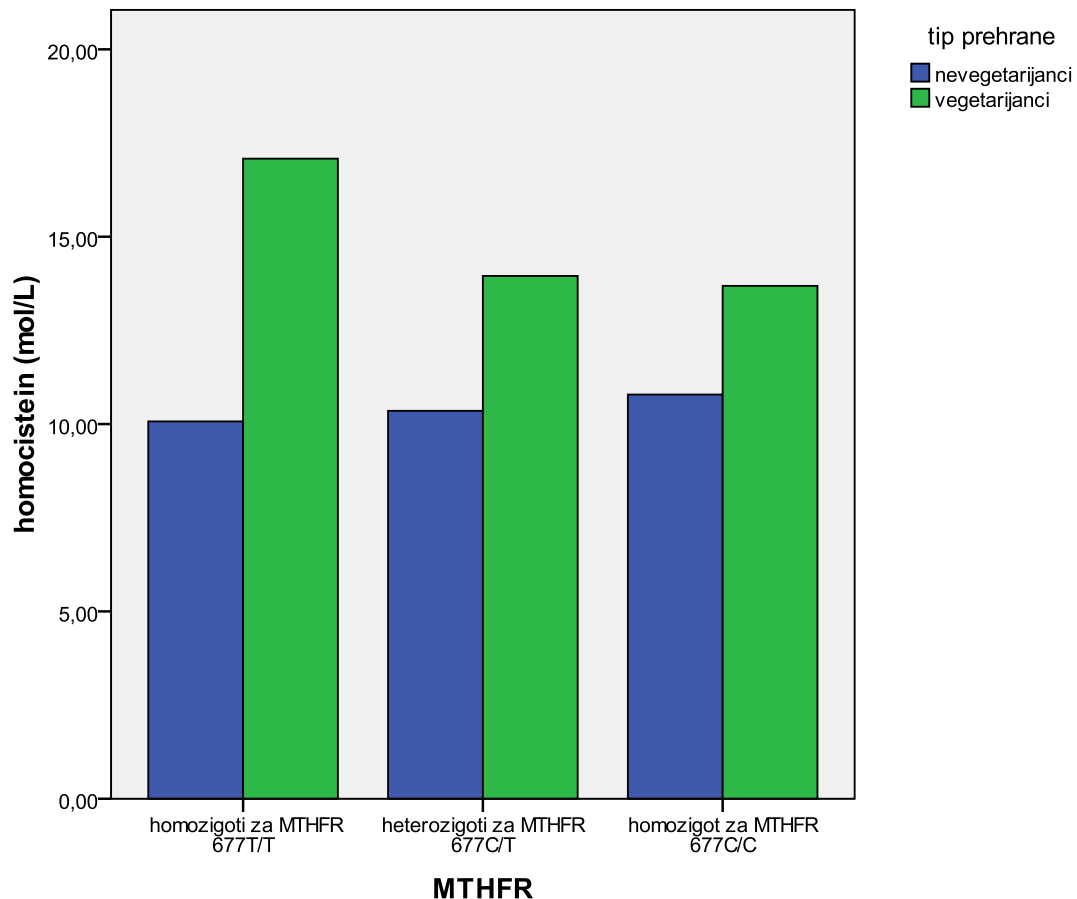
Veća frekvencija homozigotnih nosioca mutacije MTHFR C677T je u skupini nevegetarijanaca (17%), a manja zastupljenost ove mutacije u skupini vegetarijanaca (8%).

4.7. Utjecaj polimorfizma MTHFR C677T na metabolizam vitamina B12, folata i homocisteina prema tipu prehrane

Kako bi se ispitala povezanost razine vitamina B12, folne kiseline i homocisteina izračunat je Pearsonov koeficijent korelacije. Utvrđeno je da je velika i značajna negativna povezanost razine homocisteina i vitamina B 12 ($r=-0,548$, $p < 0,01$) te folne kiseline ($r=-0,387$, $p < 0,01$). Što je viša razina homocisteina to su niže vrijednosti vitamina B12 i folne kiseline.

Kako bi se utvrdio utjecaj polimorfizma MTHFR C677T na razinu homocisteina provedena je faktorska ANOVA. Nema statistički značajnog utjecaja polimorfizma MTHFR C677T ($F(2,94)=0,83$, $p > 0,05$) na razinu homocisteina, dok je utjecaj vegetarijanske prehrane ($F(1,94)=13,58$, $p < 0,01$) statistički značajan (Slika 7).

Interakcija genotipa i vegetarijanstva nije značajna ($p=0,471$) pa su učinci vegetarijanstva i genotipa provjereni neparametrijskim Mann-Whitney U. Nema statistički značajnih razlika u razini homocisteina prema genotipu ispitanika, ali postoji prema tipu prehrane. Vegetarijanci imaju statistički značajno višu razinu homocisteina (59,87) u odnosu na nevegetarijance (42,19).



Slika 7. Usporedba ispitanika homozigota za MTHFR 677T/T, heterozigota za MTHFR 677C/T i homozigota MTHFR 677C/C i vegetarijanske prehrane na metabolizam homocisteina

Interakcija genotipova i vegetarijanstva nije značajna ($p=0,471$). Nema statistički značajnih razlika u razini homocisteina prema genotipu ispitanika, ali postoji prema tipu prehrane. Vegetarijanci imaju statistički značajno višu razinu homocisteina (59,87) u odnosu na nevegetarijance (42,19).

Efekti vegetarijanstva i genotipova u razini homocisteina provjereni su neparametrijskim Mann-Whitney U testom (Tablica 15).

Tablica 15. Razlika u razini homocisteina između ispitanika genotipa MTHFR 677T/T i MTHFR 677C/T na vegetarijanskoj prehrani

| parametri | MTHFR | N | PR | U | z | p |
|---------------------|--------------|----|-------|---------|-------|-------|
| Homocistein(mmol/L) | MTHFR 677T/T | 4 | 15,50 | 36,000 | -,569 | 0,607 |
| | MTHFR 677C/T | 22 | 13,14 | | | |
| Homocistein(mmol/L) | MTHFR 677T/T | 4 | 14,88 | 34,500 | -,556 | 0,592 |
| | MTHFR 677C/C | 21 | 12,64 | | | |
| Homocistein(mmol/L) | MTHFR 677C/T | 22 | 22,55 | 219,000 | -,292 | 0,782 |
| | MTHFR 677C/C | 21 | 21,43 | | | |

Legenda: PR –prosječan rang; U- Mann Withney U koeficijent, Z-aproksimacija z vrijednostiza utvrđene značajne razlike, p-razina značajnosti,

Nema statistički značajnih razlika u razini homocisteina između homozigota za MTHFR 677T/T i heterozigota za MTHFR 677C/T ($p=0,607$), homozigota za MTHFR 677T/T i homozigota za MTHFR 677C/C ($p=0,592$) i heterozigota za MTHFR 677C/T i homozigota za MTHFR 677C/C ($p=0,782$).

Kako bi se utvrdilo postoje li razlike u razini homocisteina prema genotipu ispitanika u odnosu na prehranu proveden je Mann Whitney U test (Tablica 16).

Tablica 16. Razlika u razini homocisteina prema genotipovima MTHFR C677T u odnosu na prehranu

| MTHFR | prehrana | N | PR | U | z | p |
|---------------------|-----------------|----|-------|--------|--------|--------------|
| MTHFR 677T/T | nevegetarijanci | 9 | 6,11 | 10,00 | -1,236 | 0,246 |
| | vegetarijanci | 4 | 9,00 | | | |
| MTHFR 677C/T | nevegetarijanci | 21 | 17,69 | 140,50 | -2,119 | 0,027 |
| | vegetarijanci | 22 | 26,11 | | | |
| MTHFR 677C/C | nevegetarijanci | 23 | 19,57 | 174,00 | -1,586 | 0,116 |
| | vegetarijanci | 21 | 25,71 | | | |

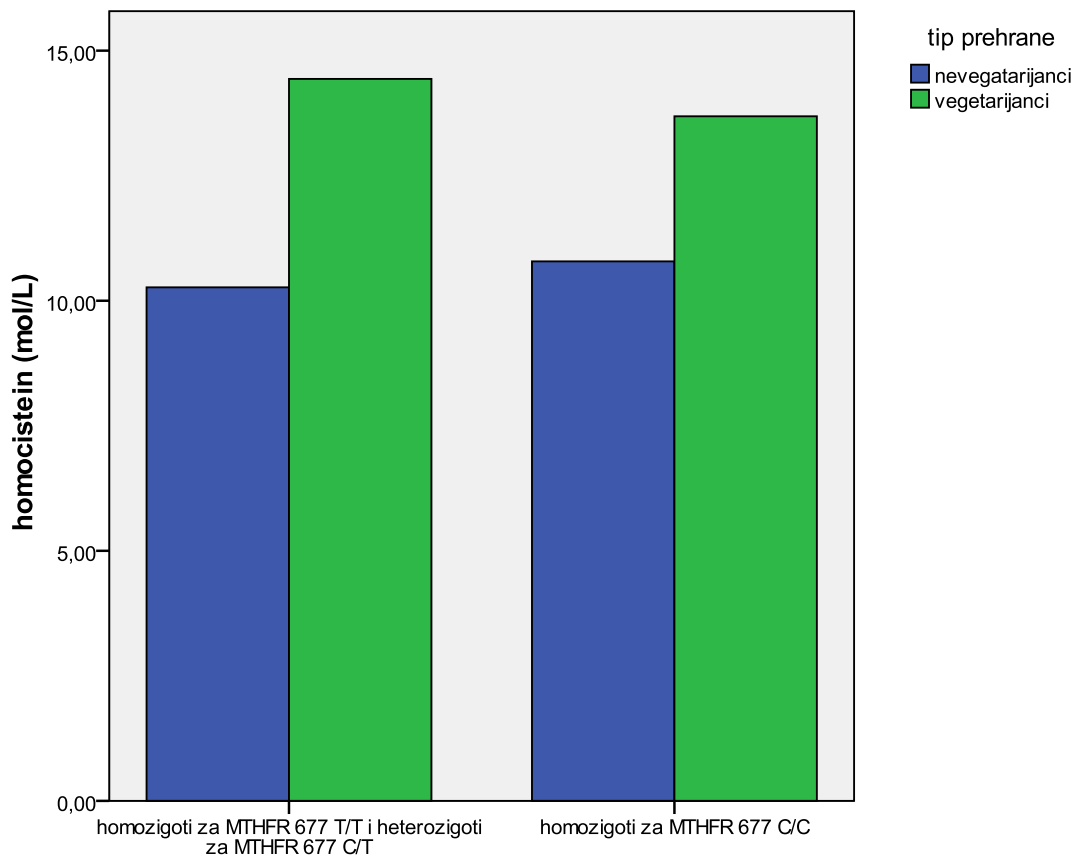
Legenda: PR –prosječan rang; U- Mann Withney U koeficijent, Z-aproksimacija z vrijednostiza utvrđene značajne razlike, p-razina značajnosti,

Postoje statistički značajne razlike u razini homocisteina u heterozigota za MTHFR 677C/T u odnosu na prehranu ($p < 0,05$). Vegetarijanci heterozigoti za MTHFR 677C/T imaju statistički značajno višu razinu homocisteina od nevegetarijanaca.

Nema statistički značajnih razlika u razini homocisteina u homozigota za MTHFR 677T/T i homozigota za MTHFR 677C/C u odnosu na prehranu.

Obzirom da homozigotni i heterozigotni nositelji mutacije imaju promijenjen genotip koji utječe na metabolizam homocisteina učinjena je ista obrada u kojoj su jednu skupinu činili svi ispitanici nositelji mutacije (N=56) a drugu skupinu ispitanici koji nisu nositelji mutacije (N=44).

Faktorskom ANOVOM provjerio se utjecaj polimorfizma MTHFR C677T i vegetarijanske prehrane na razinu homocisteina. Nema statistički značajnog utjecaja genotipa MTHFR ($F(1,94)=0,13$, $p>0,05$) na razinu homocisteina, dok je utjecaj vegetarijanske prehrane ($F(1,94)=12,51$, $p<0,01$) statistički značajan. Interakcija genotipova i vegetarijanstva nije značajna ($p<0,53$). Vegetarijanci imaju statistički značajno višu razinu homocisteina (59,87) u odnosu na nevegetarijance (42,19) (Slika 8).



Slika 8. Usporedba ispitanika nositelja genotipa MTHFR 677T/T i MTHFR 677C/T s ispitanicima koji nisu nositelji genotipa MTHFR 677C/C i vegetarijanske prehrane na metabolizam homocisteina

Efekti vegetarijanstva i genotipova MTHFR 677T/T i C/T i genotipa MTHFR 677 C/C u razini homocisteina provjereni su neparametrijskim Mann-Whitney U testom (Tablica 17).

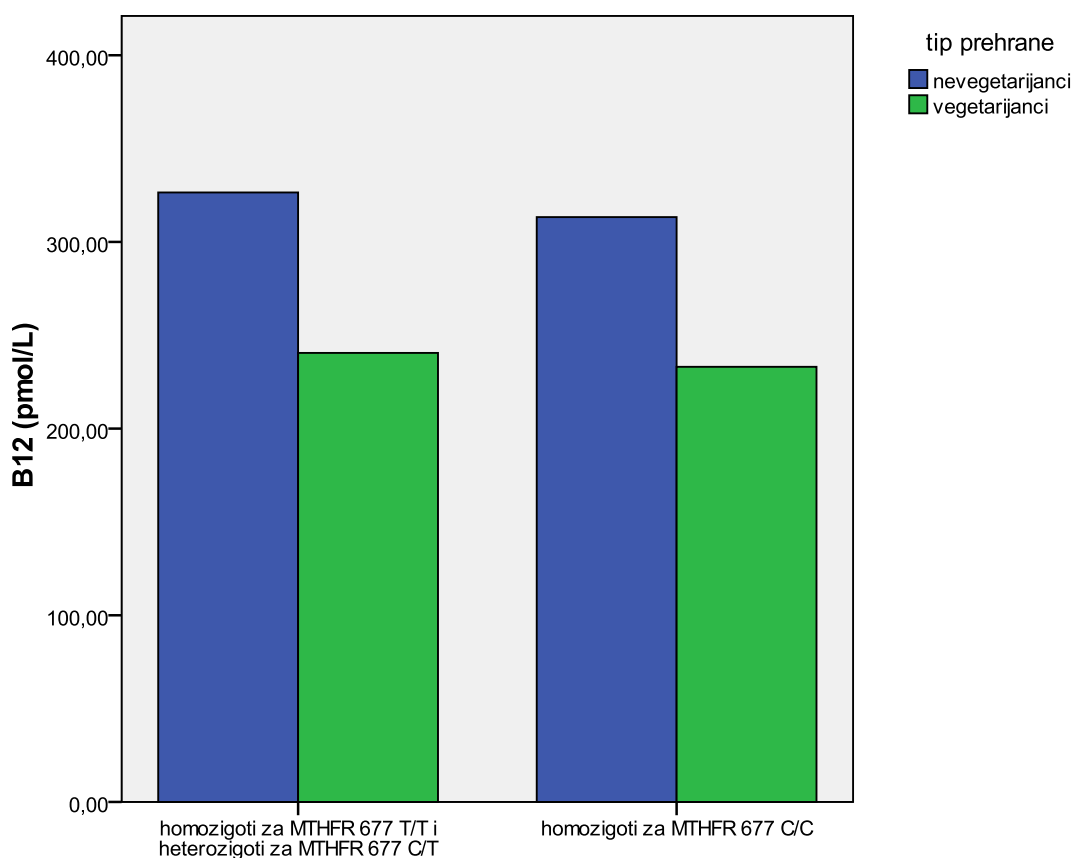
Tablica 17. Razlika u razini homocisteina između ispitanika genotipova MTHFR 677T/T i C/T i genotipa MTHFR 677 C/C na vegetarijanskoj prehrani

| parametri | MTHFR | N | PR | U | z | p |
|----------------------|--------------------|----|-------|---------|-------|-------|
| Homocistein (mmol/L) | MTHFR 677T/T i C/T | 26 | 24,75 | 253,500 | -,417 | 0,683 |
| | MTHFR 677 C/C | 21 | 23,07 | | | |

Legenda: PR –prosječan rang; U- Mann Withney U koeficijent, Z-aproksimacija z vrijednostiza utvrđene značajne razlike, p-razina značajnosti,

Nema statistički značajnih razlika u razini homocisteina između ispitanika genotipova homozigota za MTHFR 677T/T i heterozigota za MTHFR 677C/T i homozigota za MTHFR 677C/C (p=0,683).

Faktorskom ANOVOM provjerio se utjecaj polimorfizma MTHFR C677T i vegetarijanske prehrane na razinu B12. Nema statistički značajnog utjecaja genotipa MTHFR ($F(1,96)=0,21, p>0,05$) na vrijednosti vitamina B12, dok je utjecaj vegetarijanske prehrane ($F(1,96)=13,81, p<0,01$) statistički značajan. Interakcija genotipova i vegetarijanstva nije značajna ($p<0,898$).



Slika 9. Usporedba ispitanika nositelja genotipa MTHFR 677T/T i MTHFR 677C/T s ispitanicima koji nisu nositelji genotipa MTHFR 677C/C i vegetarijanske prehrane na metabolizam vitamina B12

Efekti vegetarijanstva i genotipova MTHFR 677T/T i C/T i genotipa MTHFR 677 C/C na razinu vitamina B12 provjereni su neparametrijskim Mann-Whitney U testom (Tablica 18).

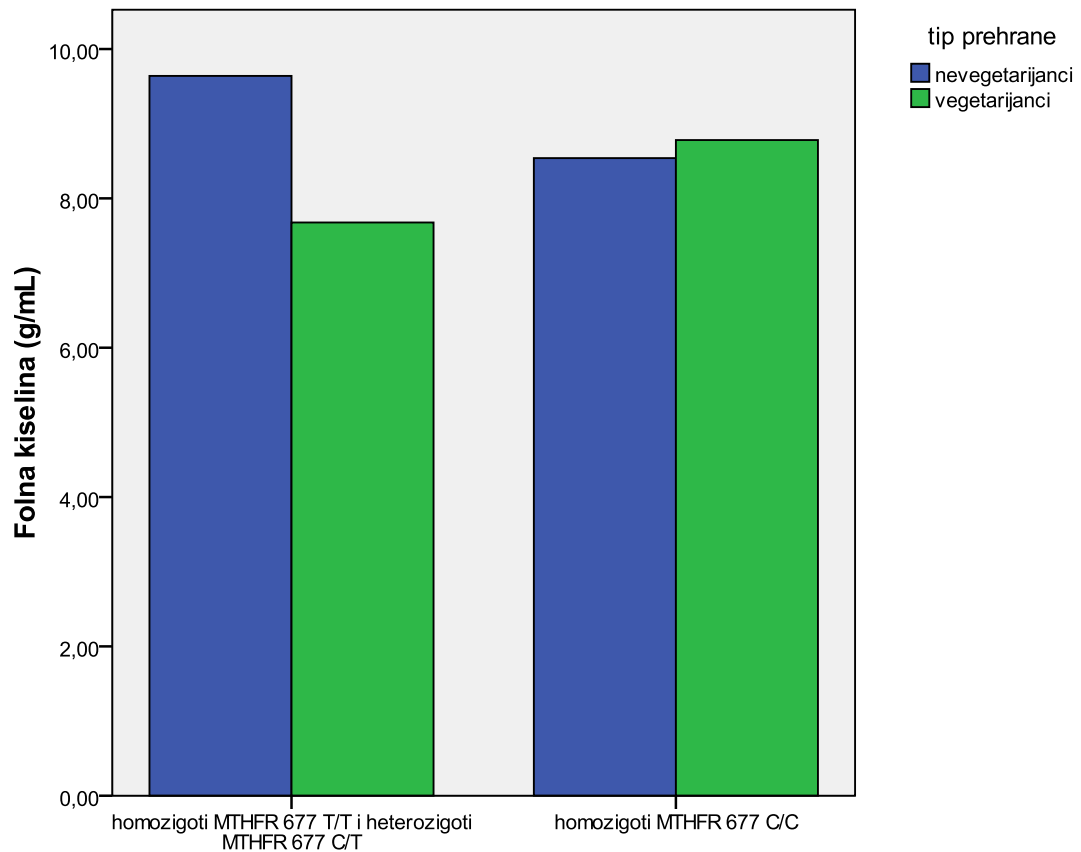
Tablica 18. Razlika u vrijednosti vitamina B 12 između ispitanika genotipova MTHFR 677T/T i C/T i genotipa MTHFR 677 C/C na vegetarijanskoj prehrani

| parametri | MTHFR | N | PR | U | z | p |
|----------------------|--------------------|----|-------|---------|-------|-------|
| Vitamin B12 (pmol/L) | MTHFR 677T/T i C/T | 26 | 24,31 | 265,000 | -,171 | 0,874 |
| | MTHFR 677 C/C | 21 | 23,62 | | | |

Legenda: PR –prosječan rang; U- Mann Withney U koeficijent, Z-aproksimacija z vrijednosti za utvrđene značajne razlike, p-razina značajnosti

Nema statistički značajnih razlika u vrijednosti vitamina B12 između ispitanika genotipova homozigota za MTHFR 677T/T i heterozigota za MTHFR 677C/T i homozigota za MTHFR 677C/C (p=0,874).

Faktorskom ANOVOM provjerio se utjecaj polimorfizma MTHFR C677T i vegetarijanske prehrane na vrijednosti folata. Nema statistički značajnog utjecaja genotipa MTHFR ($F(1,96)=0,00$, $p>0,05$) niti vegetarijanske prehrane ($F(1,96)=0,81$, $p>0,05$) na vrijednosti folata.



Slika 10. Usporedba ispitanika nositelja genotipa MTHFR 677T/T i MTHFR 677C/T s ispitanicima koji nisu nositelji genotipa MTHFR 677C/C i vegetarijanske prehrane na metabolizam folne kiseline

Efekti vegetarijanstva i genotipova MTHFR 677T/T i C/T i genotipa MTHFR 677 C/C na vrijednosti folne kiseline provjereni su neparametrijskim Mann-Whitney U testom (Tablica 19).

Tablica 19. Razlika u razini folne kiseline između ispitanika genotipova MTHFR 677T/T i C/T i genotipa MTHFR 677 C/C na vegetarijanskoj prehrani

| parametri | MTHFR | N | PR | U | z | p |
|-----------------------|--------------------|----|-------|---------|-------|-------|
| Folna kiselina (g/mL) | MTHFR 677T/T i C/T | 26 | 22,54 | 235,000 | -,813 | 0,423 |
| | MTHFR 677 C/C | 21 | 25,81 | | | |

Legenda: PR –prosječan rang; U- Mann Withney U koeficijent, Z-aproksimacija z vrijednosti za utvrđene značajne razlike, p-razina značajnosti

Nema statistički značajnih razlika u vrijednosti folne kiseline između ispitanika genotipova homozigota za MTHFR 677T/T i heterozigota za MTHFR 677C/C i homozigota za MTHFR 677C/C (p=0,423).

4.7.1 Utjecaj prediktora na razinu homocisteina

Kako bi se provjerilo može li se predvidjeti razina homocistina na temelju tipa njihove prehrane, uz kontrolu dobi, spola, homozigotnog statusa, konzumiranja alkohola, pušenja, kave, vježbanja, provedena je hijerarhijska regresijska analiza.

Homocistein je zavisna varijabla (veći rezultat odražava veću vrijednost) u regresijskom modelu, u kojem su u prvom koraku unesene nezavisne varijable: dob (veći rezultat odražava višu kronološku dob), spol (vrijednost 0 dodijeljena je ženskim ispitanicima a vrijednost 1 muškim ispitanicima) i homozigotni statusi (vrijednost 0 dodijeljena je homozigotima za MTHFR 677T/T i heterozigotima za MTHFR 677C/T, a vrijednost 1 homozigotima MTHFR 677C/C). U drugom koraku uz te varijable unesene su varijable: vježbanje, konzumiranje kave, alkohola i pušenja (za sve varijable korištene su indikator varijable u kojima je vrijednost 0 dodijeljena konzumentima, a vrijednost 1 ispitanicima koji ne vježbaju i ne konzumiraju). U trećem koraku u model je, uz ostale, unesena nezavisna varijabla vegetarijanska prehrana (vrijednost 0 dodijeljena je

ispitanicima koji nisu na vegetarijanskoj prehrani, a vrijednost 1 ispitanicima koji su na vegetarijanskoj prehrani).

Tablica 20. Rezultati hijerarhijske regresijske analize prediktora homocisteina

| | Model 1 | | | Model 2 | | | Model 3 | | |
|-------------------------|---------|-----------------|----------------|---------|-----------------|----------------|---------|----------------|----------------|
| | B | SE B | β | B | SE B | β | B | SE B | β |
| Dob | ,031 | ,041 | ,070 | | | | | | |
| Spol | 4,971 | 1,086 | ,426*** | | | | | | |
| Homozigoti MTHFR 677T/T | -,281 | ,967 | -,027 | | | | | | |
| Dob | | | | ,033 | ,041 | ,076 | | | |
| Spol | | | | 5,629 | 1,124 | ,482*** | | | |
| Homozigoti MTHFR 677T/T | | | | -,492 | ,964 | -,047 | | | |
| Vježba | | | | -1,900 | 1,463 | -,123 | | | |
| Kava | | | | ,196 | ,979 | ,019 | | | |
| Alkohol | | | | 1,876 | ,978 | ,187 | | | |
| Ppusenje | | | | ,719 | 1,487 | ,045 | | | |
| Dob | | | | | | | ,032 | ,040 | ,074 |
| Spol | | | | | | | 4,859 | 1,134 | ,416*** |
| Homozigoti MTHFR 677T/T | | | | | | | -,394 | ,937 | -,038 |
| Vježba | | | | | | | -1,691 | 1,425 | -,110 |
| Kava | | | | | | | ,212 | ,952 | ,020 |
| Alkohol | | | | | | | ,878 | 1,029 | ,087 |
| Pusenje | | | | | | | ,390 | 1,451 | ,024 |
| Vegetarijanska prehrana | | | | | | | 2,582 | 1,022 | ,249*** |
| R ² | | ,180 | | | ,232 | | | ,283 | |
| F za R ² | | 7,017*** | | | 3,977*** | | | 4,483** | |

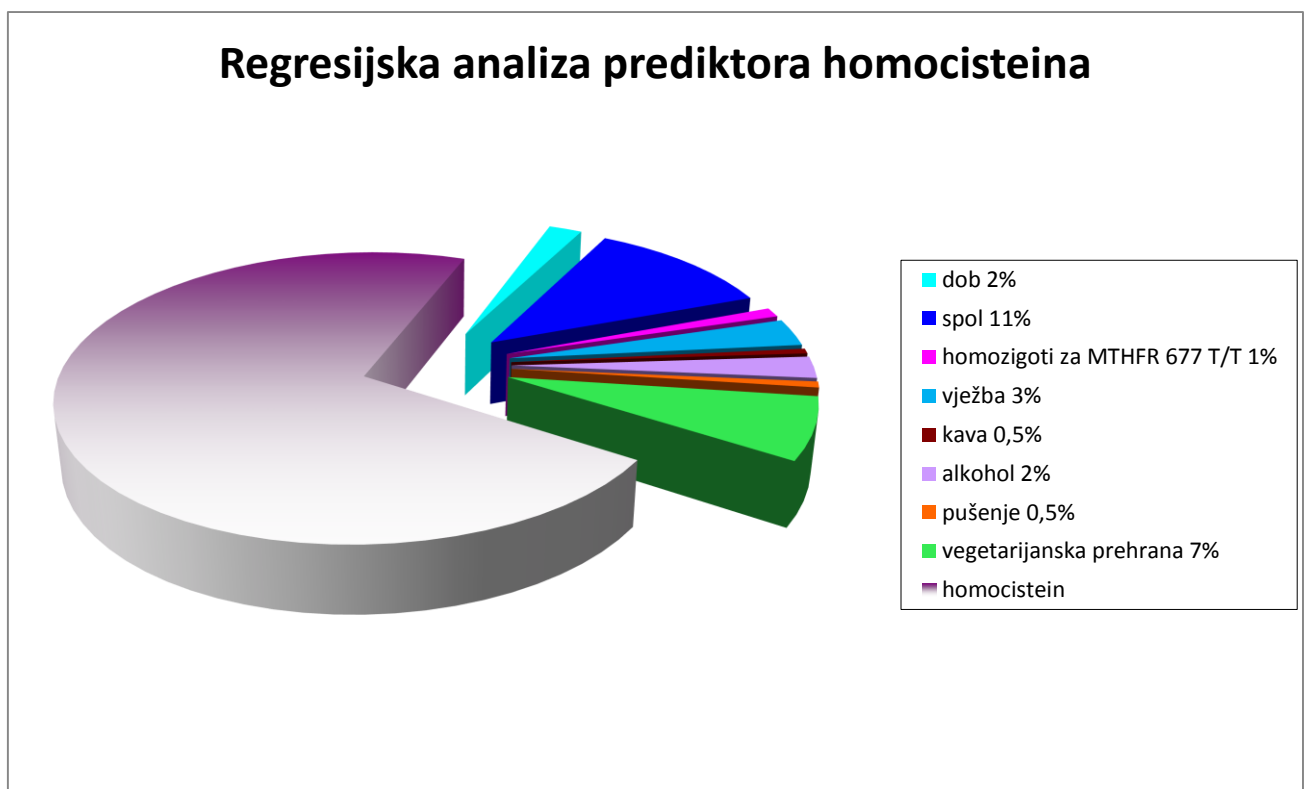
Legenda: *p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,00

Kao što je bilo očekivano, spol ispitanika značajan je prediktor razine homocistina, povrh sociodemografskih determinanti, koje objašnjavaju 18% zajedničke varijance zavisne varijable i imaju statistički značajan doprinos objašnjavanju zavisne varijable (Tablica 20 i Slika 11). Muški ispitanici imaju višu razinu homocisteina od žena. Dob i polimorfizam MTHFR C677T ne objašnjavaju razinu homocisteina.

U drugom koraku ovog modela istražilo se može li se na dodatni dio varijance razine homocisteina objasniti konzumacija alkohola, kave i pušenja te redovita tjelesna aktivnost. Objašnjena varijanca povećala se s 18% na 23%. Konzumacija alkohola, kave i pušenja te redovita tjelesna aktivnost ne objašnjavaju razinu homocisteina, a spol ispitanika je ostao jedini značajni prediktor razine homocisteina.

U trećem koraku unešen je tip prehrane, objašnjena varijanca razine homocisteina povećala se na 28%. Uz spol ispitanika vegetarijanska prehrana objašnjava razinu homocisteina.

Utvrđeno je da u ovom modelu nema multivarijantog ekstremnog rezultata (sve Cook. Dist <1) te da prediktori nisu kolinearni (za svaki prediktor VIF <10).



Slika 11. Hijerarhijska analiza prediktora homocisteina

5. RASPRAVA

Brojne studije pokazuju značajne i mjerljive prednosti različitih komponenti u ispitanika na vegetarijanskoj prehrani, odnosno preventivni učinak na mnoge bolesti i povećanje dugovječnosti. S druge strane vegetarijanska prehrana, kao i svaka restriktivnija dijeta ima i potencijalne rizike za zdravlje zbog ograničenog unosa esencijalnih nutrijenata koje treba adekvatno nadomjestiti dobro uravnoteženom i obogaćenom prehranom.

U ovom radu potvrđeno se utjecaj vegetarijanske prehrane na nižu vrijednost ukupnog i LDL-kolesterola te kreatinina, kao i u drugim istraživanjima (177-179). Oksfordska vegetarijanska studija dugotrajno je prospektivno istraživanje koje je uključilo više od 11 000 zdravih dobrovoljaca vegetarijanaca i nevegetarijanaca u Velikoj Britaniji, a pokazala je da vegetarijanci imaju manju koncentraciju ukupnog i LDL-kolesterola od skupine koja konzumira meso (177). Mnogobrojne studije ukazale su na važnost redukcije životinjskih masnoća iz prehrane te njihov utjecaj na kardiovaskularne, ali i kronične degenerativne bolesti. Podaci iz literature govore da je vrijednost kolesterola u krvi vegetarijanaca 14% niža nego u nevegetarijanaca (180,181). Thorobood i sur. izvješćuju o značajnoj razlici u vrijednosti lipida plazme u vegetarijanaca u odnosu na nevegetarijance (182,183). Ove vrijednosti mogu bitno utjecati na smanjenje rizika za kardiovaskularne bolesti koji se prati kroz biokemijske, fizikalne i hematološke parametre. U velikom broju studija dokazane su niže vrijednosti HDL- kolesterola u vegetarijanskih ispitanika (184-186) što se objašnjava činjenicom manjeg unosa prehrambenih masnoća i niskim unosom alkohola (186). Vegetarijanci konzumiraju malo masnoća životinjskog podrijetla i imaju nizak unos zasićenih masti u prehrani, dok je veganska prehrana u potpunosti slobodna od kolesterola, jer biljna hrana ne sadrži kolesterol.

Drugi radovi utvrdili su utjecaj vegetarijanske prehrane na niži ITM, nižu koncentraciju glukoze u krvi te niži krvni tlak, što u ovom radu nije potvrđeno. Engleska studija koja je brojala 4000 ispitanika kao i *Adventist Healthy Study* uspoređivale su ITM kod

vegetarijanaca i nevegetarijanaca te ukazale na niže vrijednosti ITM kod vegetarijanaca, no tu nije bio uključen faktor vježbanje (187). Vegetarijanci imaju niži indeks tjelesne mase od nevegetarijanaca i razlike su blizu razine statističke značajnosti. Biljna hrana bogata vlaknima, posebice soja i mahunarke snižavaju povišene vrijednosti glukoze i lipida u krvi, doprinose smanjenju tjelesne težine u pretilih te pomažu u smanjenju nastanka šećerne bolesti tip 2. Smrtnost od ishemične bolesti srca je 24% manja u vegetarijanaca, nego u nevegetarijanaca (179), što govori da vegetarijanska prehrana djeluje kao protektivni faktor.

Poznata je potencijalna rizičnost vegetarijanske prehrane na metabolizam vitamina B12 (185,188). Status folata je u tim studijama niži, što u ovom radu nije slučaj. Rezultati istraživanja pokazuju da vegetarijanci imaju više vrijednosti homocisteina od nevegetarijanaca i niže vrijednosti vitamina B12. Dva glavna razloga manjka vitamina B12 su nedovoljan unos (ne konzumiranja hrane životinjskog podrijetla zbog siromaštva ili dobrovoljno, vegetarijanska prehrana) i malapsorpcija (gastritis, manjak unutarnjeg faktora, Crohnova bolest, alkoholizam, itd.) pri čemu je malapsorpcija daleko češći razlog klinički vidljivog manjka vitamina B12. Pretpostavlja se da je razlog niže razine vitamina B12 u ispitanika u ovoj studiji nedovoljan unos namirnica životinjskog porijekla. Time se potvrđuje nejednoznačan utjecaj vegetarijanske prehrane. Ona je s jedne strane preventivni čimbenik u razvoju kardiovaskularnih bolesti, a s druge rizičan čimbenik na metabolizam vitamina B12 koji utječe na povišenu razinu homocisteina (132,133,134).

Dobro je poznata povezanost homocisteina i vitamina B12 koju navode i druge studije (189,190,191). Brojne studije su pokazale da je najčeći razlog umjerene hiperhomocisteinemije nedostatak vitamina (81,82). Vitamini cijankobalamin (B12), piridoksal fosfat (B6) i folna kiselina djeluju kao kofaktori, koji potpomažu izražavanje katalitičke sposobnosti enzima u metionin homocistein-metionin ciklusu.

Uz njih prehrana, godine života i posebna fiziološka stanja reguliraju odnos vitamina B12 i hiperhomocisteinemije na način da: (1) nekvalitetna prehrana ili malapsorpcija ovih vitamina

povećava rizik za nastanak hiperhomocisteinemije, (2) pravilna prehrana kod zdravih osoba osigurava optimalnu razinu ovih vitamina i homocisteina, (3) starije osobe radi malapsorpcije cijankobalamina i folne kiseline imaju povišen homocistein i (4) posebna fiziološka stanja poput trudnoće radi manjka folne kiseline imaju mogućnost razvoja potencijalne hiperhomocisteinemije.

Očekivani razlog povišenog homocisteina među vegetarijancima je lošiji status vitamina B12, ali ne i lošiji status folata, što potvrđuju i naši rezultati. Pregledni radovi o statusu vitamina B12 i razini homocisteina među vegetarijancima ukazuju na smanjene vrijednosti vitamina B12 i povišene razine homocisteina te navode da se vegetarijancima, a posebice veganima preporuča redovita kontrola statusa vitamina B12 te ako je potrebno i adekvatno preventivno uzimanje hrane obogaćene folatima ili suplementacija folnom kiselinom i vitaminom B12 (189).

Međutim neke studije ukazuju na to da vegetarijanci, a značajnije vegani mogu biti u većem riziku za sideropeničnu anemiju zbog nutritivne deficijencije (192-194) i pojavnosti kardiovaskularnih, metaboličkih i neuroloških bolesti zbog povišene razine homocisteina, kao činitelja rizika (181).

Povišena razina homocisteina u vegetarijanaca može eventualno doprinijeti povećanom riziku za razvoj degenerativnih bolesti, no epidemiološki podaci snažno podupiru hipotezu da visoka potrošnja voća i povrća koje je bogato mononezasićenim i polinezasićenim masnim kiselinama, vitaminima, mineralima, vlaknima, flavonoidima i antioksidansima zajedno s inače zdravim načinom života štite od degenerativnih bolesti.

Prve pozitivne znanstvene spoznaje o korelaciji povećane razine homocisteina i učestalosti kardiovaskularnih bolesti navedene su u radovima iz 1992 i 1993 (195,196). Na temelju spomenutih i mnogobrojnih meta-analiza koje su uključile do 4000 ispitanika, po prvi puta se spominje mogućnost utjecaja homocisteina kao nezavisnog faktora rizika za nastanak kardiovaskularnih bolesti (196). Danas se često postavlja pitanje kakav je

međusoban odnos udjela pojedinih faktora rizika za nastanak neželjene posljedice primjerice koronarne bolesti. Sigurno najvažniji rizici su hipertenzija, pušenje i lipidni status. Relativno veliki broj studija dokazuje pozitivnu korelaciju ukupnog kolesterola, HDL i LDL-kolesterola i ukupnog homocisteina (61,70). Dobiveni podaci iz velikog broja istraživanja ukazuju da je umjerena hiperhomocisteinemija prisutna u 21% bolesnika s koronarnom bolešću, u 24% bolesnika s cerebrovaskularnom bolesti te u 32% s perifernom vaskularnom bolesti. Na patološke razine homocisteina utječu genetski defekti u metabolizmu vitamina B skupine, kao i prehrambeni nedostaci folne kiseline i vitamina B12. Nedavno su provedena istraživanja koja pokazuju da je homocistein povišen i kod osoba koje imaju Chronovu bolest, ulcerozni kolitis, osteoporozu i Alzheimerovu bolest (197).

Pored nutritivnih faktora i stila života, veliki utjecaj na zdravstveni status kao i na koncentraciju homocisteina ima i genetski faktor. Najučestaliji nasljedni poremećaj u metabolizmu homocisteina koji rezultira umjerenom hiperhomocisteinemijom je točkasta mutacija C677T gena za enzim MTHFR. Moguće objašnjenje za ispitanike s povišenim homocisteinom uz nutritivne faktore i niske razine B12 je i genetski polimorfizam. Osobe koje su homozigoti za MTHFR 677T/T imaju smanjenu specifičnu aktivnost i povećanu termolabilnost enzima što dovodi do povišenja razine homocisteina.

U ovom istraživanju 44% ispitanika nisu nositelji mutacije, 43% su heterozigotni nositelji, dok je 13% homozigotnih nositelja. Prevalancija ove mutacije je različita po etničkim grupama (130-132). Široka rasprostranjenost MTHFR C677T mutacije i njena visoka frekvencija navodi na pitanje da li se radi o genetskom poremećaju sa štetnim učinkom na fenotip, ili mutacija predstavlja selektivnu prednost. Na osnovu velike učestalosti ove mutacije u globalnoj populaciji može se pretpostaviti da je ona evolutivno dosta stara. Kao objašnjenje za ovo postoje dvije hipoteze: (1) nestašica hrane i reducirana aktivnost MTHFR, koja vodi smanjenju metilacije homocisteina, omogućila je da C1 jedinice tetrahidrofolatnog metabolizma budu dostupne za vitalno značajnu sintezu nukleotida i (2) mutacija predstavlja selektivno prednost zbog toga što pojedinci koji nasljeđuju mutirani alel

imaju manji rizik za dobivanje kolorektalnog karcinoma (198). Navedene pretpostavke mogle bi se smatrati mogućim razlozima zbog kojih, djelovanjem pozitivne selekcije, tijekom vremena učestalost ove mutacije postepeno raste. Međutim, potrebna su dalja istraživanja za utvrđivanje interakcija između MTHFR C677T genotipa i fenotipa.

U mnogim studijama potvrđena je povezanost polimorfizma MTHFR C677T s razinom homocisteina (218,169,199). U ovom istraživanju nije utvrđena povezanost homozigotnog statusa na razinu homocisteina, vitamina B12 i folata, a vegetarijanska prehrana utječe na povišenu razinu homocisteina, dok su vegetarijanci heterozigotni nositelji mutacije MTHFR 677C/T imali povišene vrijednosti homocisteina u odnosu na nevegetarijance. U nekim istraživanjima dobiven je utjecaj fenotipa i genotipa na koronarne bolesti. Tako je utjecaj interakcije genotipa i nutritivnog statusa potvrdila meta analiza koja je uključivši 23 000 ispitanika prikazala povećan rizik (16%) za razvitak koronarne bolesti kod osoba 677TT genotipa u odnosu na CC genotip, ali samo u Europi, a ne i u Sjevernoj Americi (88). Evidentan je i vrlo važan utjecaj folata na smanjenje negativne ekspresije MTHFR (201).

Toj genetski determiniranoj predispoziciji dodatno pogoduju ostali rizični čimbenici, uz nutritivne i nedovoljna tjelesna aktivnost, pušenje, starija dob i muški spol (202,203). Fiziološki faktori koji utječu na razinu homocisteina su: starost, spol i način života. Srednja koncentracija ukupnog homocisteina povećava se starenjem. Osobe starije od 50 godina imaju ovisno o populacijskoj skupini, prosječno i do 1,9 mmol/L višu razinu homocisteinije, nego mlađe, od ove kritične starosne granice. Kod žena je ova razlika još izraženija i iznosi do 2,2 mmol/L, dok je kod muškaraca 1,6 mmol/L. Koncentracija ukupnog homocisteina kod muškaraca je za oko 25% viša nego kod premenopausalnih žena (178).

Nutritivni faktor i spol značajni su prediktori razine homocisteina što se potvrdilo i u ovoj studiji. Muški spol i vegetarijanska prehrana objašnjavaju višu razinu homocisteina (Slika 11). Ostali čimbenici poput dobi, konzumacije alkohola, kave i pušenja te redovita tjelesna aktivnost nisu se pokazali kao utjecajna determinanta, za razliku od inozemnih studija (182,183,204,205). Također homozigotni status nije prediktor razine homocisteina.

U budućim istraživanjima trebalo bi uključiti veći broj ispitanika vegetarijanaca, kao i nevegetarijanaca.

Sve veći broj istraživanja bavi se pitanjima kvalitete života. Povećani interes za kvalitetu života ukazuje da se uz fizičke utjecaje poput prehrambenih navika te genotipa i psihološki utjecaji mogu učinkovito odraziti na zdravlje pojedinca. Ukoliko se mjere samo objektivni indikatori, gube se vrijedne informacije o tome kako se ljudi osjećaju u svom životu, kako reagiraju na stres te kako percipiraju vlastito tjelesno i mentalno zadovoljstvo. Zbog toga je potrebno uključiti i subjektivne indikatore kao primjerice kako se ispitanici osjećaju i koliko su zadovoljni određenim aspektima svog života. Subjektivni indikatori nisu supstitucija za objektivne, već su važna nadopuna za procjenu kvalitete života i unaprijeđenje zdravlja ispitanika.

Zdrav način života kao što su redovito vježbanje joge te izbjegavanje štetnih navika poput konzumacije alkohola, nikotina i kofeina također mogu utjecati na pozitivne zdravstvene ishode u vegetarijanaca. Neke studije izvješćuju da promjena stila života koja uključuje vegetarijansku prehranu, lagano vježbanje poput joge, apstinenciju od konzumiranja alkohola, kave i nikotina, može bitno utjecati na smanjenje rizika za kardiovaskularne bolesti koje se prate kroz biokemijske, fizikalne i hematološke parametre (183).

Joga je drevni sustav prakse temeljen na znanstvenim principima vježbanja, disanja i meditacije te filozofskih uvjerenja o životu. Randomizirana, kontrolirana istraživanja objavljena u vodećim medicinskim časopisima pokazala su da joga može znatno utjecati na široki raspon zdravstvenih parametara kako u naizgled zdravih tako i u kronično oboljelih skupina (206,207). Vježbanje joge može pomoći u smanjenju indeksa tjelesne mase i glukoze u krvi, smanjenju ukupnog kolesterola i triglicerida te pomoći podizanju HDL-kolesterola u bolesnika sa šećernom bolesti tip 2 i kod kardiovaskularnih oboljenja.

U ovoj studiji ispitanici koji vježbaju jogu imaju niže vrijednosti kreatinina od kontrolne skupine. U ostalim parametima nema razlika među ispitanicima koji vježbaju jogu i kontrolne skupine. Ispitanici koji vježbaju jogu imaju niži indeks tjelesne težine vrlo blizu razine statističke značajnosti.

Danas je stres gotovo neizbježan aspekt života, stoga kako će se njegov učinak na organizam i kvalitetu života pojedinca odraziti, ovisi o sposobnosti prilagodbe i suočavanja sa stresom. Sve je više istraživanja koja upućuju na veliki utjecaj osobnosti na zdravstveno funkcioniranje i psihološku dobrobit pojedinca (208). Kako bi se detaljno utvrdio odnos između percipiranog stresa i osobne kvalitete života, potrebno je posvetiti veliku pažnju istraživanjima u ovom području s obzirom na to da je danas stres sve prisutniji dio svakodnevice, da sve više utječe na osobnu kvalitetu života i da se zna koliki utjecaj ima osobnost na njegovu procjenu i suočavanje s njim. Navedeno predstavlja preduvjete uspješne borbe protiv stresa.

Povećana razina percipiranog stresa kod svih ispitanika ovog istraživanja je uskladu s hrvatskim istraživanjima u kojima su dobivene slične prosječne vrijednosti (167). Zbog čega hrvatski ispitanici percipiraju veći razinu stresa bilo bi zanimljivo objasniti nekim daljnjim istraživanjima.

Postoje najmanje dva mehanizma kojima prakticiranje joge ili vježbanje mogu poboljšati kognitivne sposobnosti, raspoloženje i smanjiti stres. Niski stupanj raspoloženja povezan je s opadanjem kognitivnog funkcioniranja, a joga podiže raspoloženje u usporedbi s aerobnom vježbom (209), tako da je ovo jedan potencijalni mehanizam. Osim toga prakticiranje joge naglašava svijest o tijelu i uključuje fokusiranu pažnju na disanje, na određene mišiće ili dijelove tijela, stoga je moguće da joga može poboljšati sposobnost pažnje i usmjerenost na vlastito zdravlje (210).

Ispitivana je kvaliteta života upitnikom zdravlja SF-36 i ispitanici uz svoje zdravlje vežu uglavnom pozitivne percepcije i zadovoljstvo. Vegetarijanci procjenjuju svoje tjelesno i mentalno zdravlje, što znači ukupno zdravlje procjenjuju boljim od nevegetarijanaca. Slične

studije s zdravom populacijom (210) pokazale su da vegetarijanci imaju bolje psihičko zdravlje u odnosu na kontrolnu nevegetarijansku skupinu.

Također ispitanici koji vježbaju jogu imaju više samoprocjenjene razine tjelesnog i ukupnog zdravlja. Poznato je da fizička aktivnost i vježbanje joga može imati izravan i neizravan učinak na kvalitetu života te da je identificiran i potencijalni učinak na samopoštovanje, u mnogim studijama provedenim kako na zdravim, ali i bolesnim ispitanicima (211). Dobiveni rezultati, upućuju na povezanost vježbanja joga kao i prehrane na doživljaj stresa i kvalitetu života.

Ova studija usmjerila se na ispitivanje povezanosti vegetarijanske prehrane, stila života odnosno vježbanja joga, kvalitete života, razine percipiranog stresa i genotipa MTHFR na metabolizam homocisteina. Provedena je na relativno reprezentativnom uzorku zbog ograničavajućih faktora (mali broj vegetarijanskih ispitanika u općoj populaciji 3.7 %) i daje vrijedne rezultate koji se mogu dodatno ispitati.

Zaključno, rezultati ovog istraživanja pokazuju da vegetarijanska prehrana utječe na nižu razinu vitamina B12, ukupnog i LDL kolesterola i kreatinina te na višu razinu homocisteina. Vježbanje joga utječe na nižu razinu kreatinina. Razina homocisteina pod utjecajem je nutritivnih faktora, stila života i genetskog faktora te se u ovoj studiji koristila relativno rijetka analiza genotipa kako bi se dobio dublji uvid u povezanost prehrane i genotipa.

Polimorfizam MTHFR 677T/C i vegetarijanska prehrana utječu na razinu homocisteina, na način da vegetarijanci heterozigotni nositelji mutacije MTHFR 677C/T imaju statistički značajno višu razinu homocisteina u odnosu na nevegetarijance. Ovi rezultati upućuju na genetski polimorfizam kao čimbenik rizika za povišene vrijednosti homocisteina. Međutim, obzirom da je u ovom istraživanju sudjelovao relativno mali broj ispitanika vegetarijanaca (48), od čega samo četiri vegetarijanca s genotipom homozigota za MTHFR 677T/T, moguće je razlog ne utvrđenih statistički značajnih razlika polimorfizma

MTHFR C677T u odnosu na razinu vitamina B12, folata i homocisteina u homozigotnih nositelja mutacije i ispitanika koji nisu nositelji mutacije.

Značenje ovog istraživanja je u činjenici da smo pomoću hematoloških i biokemijskih parametara utvrdili da vegetarijanska prehrana, kao i genotip MTHFR 677C/T utječu na vrijednosti homocisteina te ukoliko vegetarijansku prehranu uravnotežimo i dobro planiramo i znamo mogući rizični genotip, prehrana i stil života mogu doprinijeti unaprijeđenju kvalitete živote i prevenciji zdravlja.

6. ZAKLJUČCI

1. Vegetarijanci imaju nižu razinu vitamina B12 i višu razinu vrijednosti homocisteina u odnosu na nevegetarijance.
2. Vegetarijanci imaju statistički značajno niže vrijednosti kolesterola, LDL–kolesterola i kreatinina od nevegetarijanaca.
3. Ispitanici koji vježbaju jogu imaju statistički značajno niži kreatitin u odnosu na kontrolnu skupinu koja ne vježba jogu.
4. Vegetarijanci imaju bolju kvalitetu života, zadovoljniji su svojim fizičkim, mentalnim i ukupnim zdravljem od nevegetarijanaca.
5. Ispitanici koji vježbaju jogu imaju bolju kvalitetu života, zadovoljniji su svojim fizičkim i ukupnim zdravljem od ispitanika koji ne vježbaju jogu.
6. U skupini vegetarijanaca je 8,3% homozigotnih nositelja mutacije, 47,9% su heterozigotni nositelji i 43,8% ispitanika nisu nositelji mutacije.
U skupini nevegetarijanaca 17,3% su homozigotni nositelji mutacije, 38,5% su heterozigotni nositelji i 44,2% nisu nositelji mutacije.
7. Polimorfizam MTHFR C677T ima utjecaj na razinu homocisteina u odnosu na tip prehrane. Vegetarijanci heterozigoti za MHTFR 677T/C imaju statistički značajno višu razinu homocisteina od nevegetarijanaca.
Zbog malog broja ispitanika vegetarijanaca s genotipom homozigota za MTHFR 677T/T potrebno je provjeriti ove rezultate u daljnjim analizama.

8. Muški spol i vegetarijanska prehrana statistički značajno objašnjavaju višu razinu homocisteina, dok homozigotni nositelji MTHFR 677T/T nisu značajan prediktor razine homocisteina.

7. REFERENCIJE

1. Jacobs DR, Haddad EH, Lanou AJ, Messina MJ. Food, plant food, and vegetarian diets in the US dietary guidelines: conclusions of an expert panel. *Am J Clin Nutr* 2009;89:1549S-1552S.
2. Stabler SP, Allen RH. Vitamin B12 deficiency as a worldwide problem. *Annu Rev Nutr* 2004; 24: 299-326.
3. Boushey CJ, Beresford SA, Omenn GS, Motulsky AG. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. Probable benefits of increasing folic acid intakes. *JAMA* 1995;274:1049-1057.
4. Herrman M, Widmann T, Herrmann W. Homocysteine - a newly recognised risk factor for osteoporosis. *Clin Chem Lab Med* 2005;43:1111-1117.
5. Durand P, Prost M, Blache D. Folate deficiencies and cardiovascular pathologies. *Clin Chem Lab Med* 1998;36:419-29.
6. Tripodi A, Mannucci PM. Laboratory investigation of thrombophilia. *Clin Chem* 2001;47:1597-606.
7. Goyette P, Sumner JS, Milos R i sur. Human methylenetetrahydrofolate reductase: isolation of cDNA, mapping and mutation identification. *Nat Genet* 1994;7:195-200.
8. Fletcher O, Kessling AM. MTHFR association with arteriosclerotic vascular disease. *Hum Genet* 1998; 103:11-21.
9. Lovričević I, Franjić BD, Tomičić M, Vrkić N, de Syo D, Hudorović N i sur. 5,10-Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) 677 C-T genetic polymorphism in 228 Croatian volunteers. *Coll Antropol* 2004;28:647-54.
10. Uusi-Rasi K, Sieveanen H, Pasanen M, Oja P, Uuasi I. Association of physical activity and calcium intake the maintenance of bone mass in premenopausal women. *Osteoporosis Int* 2002;13(3):211-7.
11. Lau EM, Kwok T, Woo J, Ho SC. Bone mineral density in Chinese female vegan, vegetarians, lacto-vegetarians and omnivores. *Eur J Clin Nutr* 1998;52(1):60-4.
12. Nestle M. Animal v. plant foods in human diets and health: is the historical record unequivocal? *Proc Nutr Soc* 1999;58:211-218.
13. WHO. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. Technical Report Series 16;2003:str,157.
14. Maurice E. Shils i sur: Modern nutrition in health and disease; tenth edition, Lippincott Williams & Wilkins; 2006:str,372-376.
15. Position of the American Dietetic Association and Dietitians of Canada: Vegetarian diets. *J Am Diet Assoc* 2003;103: 748-765.
16. Fraser GE. Associations between diet and cancer, ischemic heart disease, and all-cause mortality in non-Hispanic white California Seventh-day Adventists. *Am J Clin Nutr*. 1999;Sep;70(3 Suppl):532S-538S.
17. Key TJ, Fraser GE, Thorogood M, Appleby PN, Beral V, Reeves G, Burr ML i sur. Mortality in vegetarians and nonvegetarians: detailed findings from a collaborative analysis of 5 prospective studies. *Am J Clin Nutr*. 1999;70(3 Suppl):516S-524S.
18. Ball MJ, Bartlett MA. Dietary intake and iron status of Australian vegetarian women. *Am J Clin Nutr* 1999;70:353-8.

19. Kipple KF, Ornelas KC. The Cambridge world history of food. Cambridge: Cambridge University Press, UK; 2000, str. 278-286.
20. Krause's Food, Nutrition and Diet Therapy. Philadelphia: Saunders Company; 2000, str. 28-36.
21. Whitney EN, Rolfes SR. Understanding Nutrition. Belmont: Wadsworth/Thomson Learning; 2002, str. 125-131.
22. Rauma AL, Mykkanen H. Antioxidant status in vegetarians versus omnivores. Nutrition, 2000; 16(2):111-9.
23. Key TJ, Appleby PN, Rosell MS. Health effects of vegetarian and vegan diets. Proc Nutr Soc. 2006; 65(1):35-41.
24. Joan Sabate: Vegetarian Nutrition; CRC Press 2001
25. Rajaram S, Sabate J. Health benefits of a vegetarian diet. Nutrition. 2000; 16 (7-8):531-3.
26. Wolfgang H, Rima O, Schorr H, Hübner U, Geisel J, Sand H M, Nayyar A i sur. Enhanced bone metabolism in vegetarians - the role of vitamin B12 deficiency. Clin Chem Lab Med 2009; 12.
27. Rima O, Wolfgang H. Homocysteine and Cholesterol: Guilt by Association? Stroke 2009; 21.
28. Rima O, Kasoha M, Kirsch SH, Munz W, Wolfgang H. Concentrations of unmetabolized folic acid and primary folate forms in pregnant women at delivery and in umbilical cord blood. Am J Clin Nutr. 2010; 15.
29. Dholakia KR, Dharmarajan TS, Yadav D, Oiseth S, Norkus EP, Pitchumoni CS. Vitamin B12 deficiency and gastric histopathology in older patients. World J Gastroenterol. 2005; 11:7078-7083.
30. Allen LH. How common is vitamin B-12 deficiency? Am J Clin Nutr 2009; 89:693S-696S.
31. Ball GFM. Vitamins in foods : analysis, bioavailability, and stability, CRC Florida, Boca Raton: Press, Taylor & Francis Group; 2006, str. 390-401
32. Davey GK, Spencer EA, Appleby PN, Allen NE, Knox KH, Key TJ. EPIC Oxford: lifestyle characteristics and nutrient intakes in a cohort of 33 883 meat-eaters and 31 546 non meat-eaters in the UK. Public Health Nutr 2003; 6:259-269.
33. Krajcovicova-Kudlackova M, Blazicek P, Kopcova J, Bederova A, Babinska K. Homocysteine levels in vegetarians versus omnivores. Ann Nutr Metab 2000; 44:135-138.
34. Majchrzak D, Singer I, Männer M, Rust P, Genser D, Wagner KH, Elmadfa I. B-Vitamin Status and Concentrations of Homocysteine in Austrian Omnivores, Vegetarians and Vegans. Ann Nutr Metab 2006; 50: 485-491.
35. Luchsinger JA, Mayeux R. Dietary factors and Alzheimer's disease. Lancet Neurol 2004; 3: 579-587.
36. Dweyer JT. Health aspects of vegetarian diets. Am J Clin Nutr 1988; 49:712-38.
37. Bederova A, Kudlackova M, Simoncic R, Magalova T, Grancicova E, Klvanova J. Comparison of nutrient intake and corresponding biochemical parameters in adolescent vegetarians and non-vegetarians. Cas Lek Cesk 2000; 139(13):396-400.
38. Manary MJ, Krebs NF, Gibson RS, Broadhead RL, Hambridge KM. Community-based dietary phytate reduction and its effects on iron status in Malawian children. Ann Trop Paediatr 2002; 22:133-136.

39. Messina V, Melina V, Mangels AR. A new food guide for North American vegetarians. *J Am Diet Assoc* 2003;103:771-775.
40. Craig WJ. Iron status of vegetarians. *Am J Clin Nutr* 1994;59:1233S-7S.
41. Alexander D, Ball MJ, Mann J. Nutrient intake and hematological status of vegetarians and age-sex matched omnivores. *Eur J Clin Nutr* 1994;48:538-46.
42. Reddy S, Sanders TA. Hematological studies on pre-menopausal Indian and Caucasian vegetarians compared with Caucasian omnivores. *Br J Nutr*.1990;64:331-8.49.
43. Salonen JT. The role of iron as a cardiovascular risk factor. *Curr Opin Lipidol* 1993;4:277-82.
44. Messina V, Mangels AR. Considerations in planning vegan diets: Children. *J Am Diet Assoc*. 2001;101: 661-669
45. Colić Barić I, Šatalić Z, Lukešić Ž. Nutritive value of meals, dietary habits and nutritive status in Croatian university students according to gender. *Int J Food Sci Nutr*. 2003;54:473-484.
46. Phillips F. Vegetarian nutrition. *Nutrition Bulletin* 2005;30: 132-167.
47. Willett WC. Convergence of philosophy and science: the third international congress on vegetarian nutrition. *Am J Clin Nutr*. 1999;70: 434S-438S.
48. National Center for Complementary and Alternative Medicine. What is complementary and alternative medicine? 2012 siječanj 23. <http://nccam.nih.gov/health/whatiscom/>
49. Innes KE, Vincent HK. The influence of yoga-based programs on risk profiles in adults with type 2 diabetes mellitus: A systematic review. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2007;4:469–86.
50. Yang K. A review of yoga programs for four leading risk factors of chronic diseases. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2007;4:487–91.
51. Gordon LA, Morrison EY, McGrowder DA, Young R, Fraser YT, Zamora EM, i sur. Effect of exercise therapy on lipid profile and oxidative stress indicators in patients with type 2 diabetes. *BMC Complement Alternat Med*. 2008;13:8:21.
52. Franco-Álvarez N, Avila-Funes JA, Ruiz-Arreguı́ L, Gutierrez-Robledo LM. Determinants of malnutrition risk among the older adult community: A secondary analysis of the Health, Wellbeing, and Aging Study (SABE) in Mexico. *Rev Panam Salud Publica*. 2007;22:369-75.
53. Gonçalves LC, Vale RG, Barata NJ, Varejão RV, Dantas EH. Flexibility, functional autonomy and quality of life (QoL) in elderly yoga practitioners. *Arch Gerontol Geriatr*. 2011;53(2):158-62.
54. Milošević-Tošić M, Borota J. Hiperhomocisteinemija–faktor rizika okluzivnih vaskularnih bolesti. *Med Pregl* 2002;9-10:385-91.
55. Butz LW, du Vigneaud V. The formation of a homologue of cystine by the decomposition of methionine with sulfuric acid. *J Biol Chem* 1932; 99: 135-142.
56. McCully KS. *The homocysteine revolution*. Los Angeles Keats Publishing:1999.
57. Refsum H, Nygard O. Homocysteine and cardiovascular disease. *Annu Rev Medicine* 1998; 49:31-62.
58. Janneke Brouwer DA, Walten HTM, Reijngoud DJ, Doormaal JJ, Muskiet FAJ. Plasma folic acid cut off value, derived from its relationship with homocysteine. *Clin Chem* 1998; 44:1545-50.

59. McCully KS. Vascular pathology of homocysteinemia: Implications for the pathogenesis of arteriosclerosis. *Am J Pathol* 1969; 56:111-28.
60. Bolander-Gouaille C. Determination of homocysteine: why, when and how. Stockholm: Bryne Offset, 1999: 11-54.
61. Clarke R, Daly L, Robinson K i sur. Hyperhomocysteinemia: an independent risk factor for vascular disease. *New Engl J Med* 1991; 324:1149-55.
62. McCully KS. Homocysteine and vascular disease. *Nature Med* 1996; 2:386-9.
63. Boers GHJ, Smals AG, Trijbels FJ i sur. Heterozygosity for homocystinuria in premature peripheral and cerebral occlusive arterial disease. *New Engl J Med* 1985; 313:709-15.
64. Rozen R. Molecular genetics of MTHFR deficiency. *J Inherit Metab Dis* 1996; 19:585-94.
65. Mudd HS, Levy HL. Plasma homocyst(e)ine or homocysteine? *N Engl J Med* 1995;33(5):325.
66. Bertoni E, Marcuccu R, Zanazzi M, Rosati A, Brunelli T, Fedi S i sur. Hyperhomocysteinemia in renal transplant patients: An independent factor of cardiovascular disease. *J Nephrol* 2001;14(1):36-42.
67. Refsum H, Fiskerstrand T, Guttormsen AB, Ueland PM. Assessment of homocysteine status. *J Inherit Metab Dis* 1997;20:286-94.
68. Limbach HJ, Fahr A, Porsch G. Specialized laboratory analyses 2002/2003, Laborlimbach, Heidelberg.
69. Boushey CJ, Beresford SAA, Omenn GS, Motulsky AG. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease: Probable benefits of increasing folic acid intakes. *JAMA* 1995;274:1049-57.
70. Wald DS, Law M, Morris JK. Homocysteine and cardiovascular disease: evidence on causality from meta-analysis. *BMJ* 2002;325:1202-6.
71. Perry IJ, Refsum H, Morris RW, Ebrahim SB, Ueland PM, Shaper AG. Prospective study of serum total homocysteine concentration and risk of stroke in middle-aged British men. *The Lancet* 1995;346:1395-8.
72. Selhub J, Jacques PF, Wilson PW, Rush D, Rosenberg IH. Vitamin status and intake as primary determinants of homocysteinemia in an elderly population. *JAMA* 1993;270:2693-8.
73. Robinson K, Mayer EL, Miller DP, Green R, van Lente F, Gupta A i sur. Hyperhomocysteinemia and low Pyridoxal Phosphate: Common and Independent Reversible Risk Factors for Coronary Artery Disease. *Circulation* 1995;92(10):2825-30.
74. Chambers JC, Obeid OA, Refsum H, Ueland P, Hackett D, Hooper J i sur. Plasma homocysteine concentrations and risk of coronary heart disease in UK Indian Asians and European men. *Lancet* 2000;355:523-7.
75. Mallinow MR, Ducimetiere P, Luc G, Evans AE, Arveiler D, Cambien F i sur. Plasma homocysteine levels and graded risk for myocardial infarction: Findings in two populations at contrasting risk for coronary heart disease. *Atherosclerosis* 1996;126:27-34.
76. Medrano MJ, Sierra MJ, Almazan J, Olalla MT, Lopez-Abente G. The association of dietary folate, B6, and B12 with cardiovascular mortality in Spain: An ecological analysis. *Am J Public Health* 2000;90:1636-8.

77. Schneede J, Dagnelie PC, Van Staveren WA, Vollset SE, Refsum H, Ueland PM. Methylmalonic acid and homocysteine in plasma as indicator of functional cobalamin deficiency in infants on macrobiotic diets. *Pediatr Res* 1994;36:194-201.
78. Majchrzak D, Singer I, Manner M, Rust P, Genser D, Wagner KH, Elmadfa I. B vitamin status and concentrations of homocysteine in Austrian omnivores, vegetarians and vegans. *Ann Nutr Metab* 2007;50(6):485-91.
79. Jacob RA, Wu MM, Henning SM, Swendseid ME. Homocysteine increases as folate decreases in plasma of healthy men during short-term dietary folate and methyl group restriction. *J Nutr* 1994;124:1072-80.
80. Hollowell JG, Hall WK, Coryell ME, McPherson J, Hahn DA. Homocystinuria and organic aciduria in a patient with vitamin-B12 deficiency. *Lancet* 1969;2:1428.
81. Swift ME, Schultz TD. Relationship of vitamins B6 and B12 to homocysteine level: Risk for coronary heart disease. *Nutr Rep Int* 1986;34:1-14.
82. Svage DG, Lindenbaum J, Stabler SP, Allen RH. Sensitivity of serum methylmalonic acid and total homocysteine determinations for diagnosis of cobalamin and folate deficiencies. *Am J Med* 1994;96:239-46.
83. Selhub J, Morris MS, Jacques PF. In vitamin B12 deficiency, higher serum folate is associated with increased total homocysteine and methylmalonic acid concentrations. *PNAS* 2007;104(50):19995-20000.
84. Jarret JT, Hoover DM, Ludwig ML, Matthews RG. The mechanism of adenosylmethionine-dependent activation of methionine synthase: A rapid kinetic analysis of intermediates in reductive methylation of cob(II)alamin enzyme. *Biochemistry* 1998;37:12649-58.
85. Kang SS, Wong PWK, Norusis M. Homocysteinemia due to folate deficiency. *Metabolism* 1987;36:458-62.
86. Guttormsen AB, Schneede J, Ueland PM, Refsum H. Kinetics of total plasma homocysteine in subjects with hyperhomocysteinemia due to folate or cobalamin deficiency. *Am J Clin Nutr* 1996;63:194-202.
87. Jacques PF, Bostom AG, Wilson PWF, Rich S, Rosenberg IH, Selhub J. Determinants of plasma total homocysteine concentration in the Framingham Offspring cohort. *Am J Clin Nutr* 2001;73:613-21.
88. Jacques PF, Bostom AG, Williams RP, Rosenberg IH, Selhub J. Relation between folate status and a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Circulation* 1996;93:7-9.
89. Klerk M, Verhoef P, Clarke R, Blom HJ, Kok FJ, Schouten EG et al. MTHFR677C→T Polymorphism and Risk of Coronary Heart Disease: A meta-analysis. *JAMA* 2002;288 (16):2023-31.
90. Kafai MR. Trends in serum folate, RBC folate, and circulating total homocysteine concentrations in the United States: analysis of data from National Health and Nutrition Examination Surveys, 1988-1994, 1999-2000, 2001-2002. *J Nutr* 2006;136(1):153-8.
91. Rydlewicz A, Simpson JA, Taylor RJ, Bond CM, Golden MHN. The effect of folic acid supplementation on plasma homocysteine in an elderly population. *Q J Med* 2002;95:27-35
92. Clarke R, Armitage J. Vitamin supplements and cardiovascular risk: Review of the randomized trials of homocysteine-lowering vitamin supplements. *Semin Thromb Hemost* 2000;26(3):341-8.

93. Clarke R, Lewington S, Scherliker P, Armatage J. Effects of B-vitamins on plasma homocysteine concentrations and on risk of cardiovascular disease and dementia. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2007;10:32-9.
94. van den Berg M, Boers FHJ, Franken DG, Blom HJ, van Kamp GJ, Jakobs C i sur. Hyperhomocysteinemia and endothelial dysfunction in young patients with peripheral occlusive disease. *Eur J Clin Invest* 1995;25(3):176-81.
95. Peterson J, Spence J. Vitamin and progression of atherosclerosis in hyperhomocysteinemia. *Lancet* 1996;351:263.
96. Schnyder G, Roffi M, Pin R, Flammer Y. Decreased rate of coronary restenosis after lowering of plasma homocysteine levels. *ACC Current Journal Review* 2002;11(3):301.
97. Kwon YH, Kim HJ, Cho HK. The protective activity of folic acid agains endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis in neuronal cells. *FASEB J* 2006;20:A601-A602.
98. Ebbesen LS, Ingerslev J. Folate Deficiency-Induced Hyperhomocysteinemia Attenuates and Folic Acid Supplementation Restores, the Functional Activities of Rat Coagulation Factors XII, X, and II. *Biochemical and Molecular Actions of Nutrients* 2005;135:1836-40.
99. Doshi S, McDowel IFW, Moat SJ, Lang D, Newcombe RG, Kredan MB i sur. Folate Improves Endothelial Function in Coronary Artery Disease. *Atherosclerosis and Lipoproteins* 2001;21:1196-2009.
100. Kraus JP, Kozich V. Cystationine β -Synthase and its deficiency. In: Carmel R, Jacobsen DW, eds. *Homocysteine in health and disease*. Cambridge, United Kingdom: Cambridge University Press, 2001;223–44.
101. Sebastio G, Sperandeo MP, Panico M, De Franchis R, Kraus JP, Andria G. The molecular basis of homocystinuria due to cystathione beta-synthase deficiency in Italian families, and report of four novel mutations. *Am J Hum Genet*;1995;56(6):1324-33.
102. Dekou V, Gudnason V, Hawe E, Miller GJ, Stasbie D, Humphries SE. Geneenvironment and gene-gene interaction in the determination of plasma homocysteine levels in healthy middle-aged men. *Thromb Haemost* 2001;85(1):67-74.
103. Lievers KJ, Kluijtmans LA, Hell SG, Boers GH, Verhoef P, van Oppenraay D i sur. A 31 bp VNTR in the cystathionine beta-synthase (CBS) gene is associated with reduced CBS activity and elevated post-load homocysteine levels. *Eur J Hum Genet* 2001;9:583-9.
104. Matthews RG, Vanoni MA, Hainfeld JF, Wall J. Methylenetetrahydrofolate reductase. Evidence for spatially distinct subunit domains obtained by scanning transmission electron microscopy and limited proteolysis. *J Biol Chem* 1984; 259:11647-50.
105. Goyette P, Pai A, Milos R i sur. Gene structure of human and mouse methylenetetrahydroflate reductase (MTHFR). *Mammalian Genome* 1998; 9:652-6.
106. Frosst P, Blom HJ, Milos R i sur. A candidate genetic risk factor for vascular disease:a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat Genet* 1995;10:111-3.
107. Kang SS, Wong PW, Susmano A, Sora J, Norusis M, Riggie N. Thermolabile methylenetetrahydroflate reductase: an inherited risk factor for coronary artery disease. *Am J Hum Genet* 1991; 48:536-45.
108. Verhoeff BJ, Trip MD, Prins MH, Kastelein JJP, Reitsma PH, i sur. The effect of acommon methyleneterahydrofolate reductase mutation on the levels of homocysteine, folate, vitamin B 12 and on the risk of premature atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1998;141:161-6.
109. Motulsky AG. Nutritional ecogenetics: Homocysteine – related arteriosclerotic vascular disease, neural tube defect and folic acid. *Am J Hum Genet* 1996;58:17-20.

110. Engbersen AMT, Franken DG, Boers GHJ, Stevens EMB, Trijbels FJM, Blom HJ. Thermolabile 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase as a cause of mild hyperhomocysteinemia. *Am J Hum Genet* 1995;56:142-50.
111. Kelly P, Rosand J, Kistler J, Shih V, Silveira S, Plomaritoglou A i sur. Homocysteine, MTHFR 677C>T polymorphism, and risk of ischemic stroke: Results of a meta-analysis. *Neurology* 2002;59(4):529-36.
112. Jacques PF, Bostom AG, Williams RR, Ellison RC, Eckfeldt JH, Rosenberg IH, Selhub J, Rozen R i sur. Relation between folate status, a common mutation in methylenetetrahydro-folate reductase, and plasma homocysteine concentrations. *Circulation* 1996;93:7-9.
113. Clarke R, Woodhouse P, Ulvik A, Frost C, Sherliker P, Refsum H i sur. Variability and determinants of total homocysteine concentrations in plasma in an elderly population. *Clin Chem* 1998;44:1:102-7.
114. Mc Nulty H, McKinley MC, Wilson B, McPartlin J, Strain JJ, Weir WG i sur. Impaired functioning of thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase is dependent on riboflavin status: implications for riboflavin requirements. *Am J Clin Nutr* 2002;76:436-41.
115. Estrada DA, Billet HH. Racial variation in fasting and random homocystein levels. *Am J Hematology* 2001;66:252-6.
116. Pepe G, Camacho Vanegas O, Guisti B, Brunelli T, Marcucci R, Attanasio O i sur. Heterogeneity in world distribution of the thermolabile C677T mutation in 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase. *Am J Hum Genet* 1998;63:917-20.
117. Weisberg IS, Jacques PF, Selhub J, Bostom AG, Chen Z, Ellison RC i sur. The 1298 A→C polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR): In vitro expression and association with homocysteine. *Atherosclerosis* 2001;156(2):409-15.
118. Van der Put NMJ, Gabreels F, Stevens EMB i sur. A second common mutation in the methylenetetra-hydrofolate gene - an additional risk factor for neural tube defects. *Am J Hum Genet* 1998; 62:1044-51.
119. Fletcher O, Kessling AM. MTHFR association with arteriosclerotic vascular disease. *Hum Genet* 1998; 103:11-21.
120. Morita H, Taguchi J, Kurihara H i sur. Genetic polymorphism of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) as a risk factor for coronary artery disease. *Circulation* 1997; 95:2032-6.
121. Ou CY, Stevenson RE, Brown VK i sur. 5,10- methylenetetrahydrofolate reductase genetic polymorphism as a risk factor for neural tube defects. *Am J Med Genet* 1996; 63:610-4.
122. Shaw GM, Rozen R, Finnell RH, Todoroff K, Lammer EJ. Infant C667T mutation in MTHFR, maternal periconceptional vitamin use, and cleft lip. *Am J Med Genet* 1998; 80:196-8.
123. Christensen B, Arbour L, Tran P i sur. Genetic polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase and methionine synthase, folate levels in red blood cells, and risk of neural tube defects. *Am J Med Genet* 1999; 84:151-7.
124. Ma J, Stampfer MJ, Giovannucci E, Artigas C i sur. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism, dietary interactions, and risk of colorectal cancer. *Cancer Res* 1997; 57:1098-102.
125. Arai K, Yamasaki Y, Kajimoto Y i sur. Association of MTHFR gene polymorphism with carotid arterial thickening and myocardial infarction risk in NIDD. *Diabetes* 1997; 46:906-11.

126. Wirta V, Huang XH, Wirta O i sur. Mutation C677T of methylenetetrahydrofolate reductase gene is not associated with coronary artery disease, but possibly with albuminuria, in type 2 diabetic patients. *Clin Chem Lab Med* 1998; 36:625-8.
127. James SJ, Pogribna M, Pogribny IP i sur. Abnormal folate metabolism and mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene may be maternal risk factors for Down syndrome. *Am J Clin Nutr* 1999; 70:495-501.
128. Joo JH, Hong SB. A common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene is a determinant of hyperhomocysteinemia in epileptic patients receiving anticonvulsants. *Metabolism: Clinical and Experimental* 1999; 48:1047-51.
129. Regland B, Blennow K, Germagard T, Koch-Schmidt AC, Gottfries CG. The role of the polymorphic genes apolipoprotein E and methylenetetrahydrofolate reductase in development of dementia of the Alzheimer type. *Dement Geriatr Cogn Disord* 1999;10:245-251.
130. Kunugi H, Fukuda R, Hattori M i sur. C677T polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase gene and psychoses. *Molecular Psychiatry* 1998; 3:435-7.
131. Goyette P, Sumner JS, Milos R i sur. Human methylenetetrahydrofolate reductase: isolation of cDNA, mapping and mutation identification. *Nat Genet* 1994;7:195-200.
132. Pepe G, Camacho Vanegas O, Guisti B, Brunelli T, Marcucci R, Attanasio O i sur. Heterogeneity in world distribution of the thermolabile C677T mutation in 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase. *Am J Hum Genet* 1998;63:917-20.
133. Fletcher O, Kessling AM. MTHFR association with arteriosclerotic vascular disease. *Hum Genet* 1998; 103:11-21.
134. Estrada DA and Billet HH. Racial variation in fasting and random homocysteine levels. *Am J Hematology* 2001;66:252-6.
135. Jacques PF, Bostom AG, Williams RR, Ellison RC, Eckfeldt JH, Rosenberg IH, Selhub J, Rozen R i sur. Relation between folate status, a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase, and plasma homocysteine concentrations. *Circulation* 1996;93:7-9.
136. Nygard O, Vollset SE, Refsum H, Stensvold I, Tverdal A, Nordrehaug JE i sur. Total plasma homocysteine and cardiovascular risk profile. The Hordaland homocysteine Study. *JAMA* 1995;274:1526-33.
137. McCarty MF. Increased homocyst(e)ine associated with smoking, chronic inflammation, and aging may reflect acute-phase induction of pyridoxal phosphatase activity. *Med Hypotheses* 2000;55(4):289-93.
138. O'Callaghan P, Meleady R, Fitzgerald T, Graham I, Brattstrom L, Daly L i sur. Smoking and plasma homocysteine. *Eur Heart J* 2002;23(20):1580-6.
139. Grubben MJ, Boers GH, Blom HJ, Broekhuizen R, De Jong R, Van Rijt L i sur. Unfiltered coffee increases plasma homocysteine concentrations in healthy volunteers: A randomized trial. *Am J Clin Nutr* 2000;71:480-4.
140. Mennen LI, de Coucy GP, Guillard JC, Ducros V, Zarebska M, Bertrais S i sur. Relation between homocysteine concentrations and the consumption of different types of alcoholic beverages: the French Supplementation with Antioxidant Vitamins and Minerals Study. *Am J Clin Nutr* 2003;78:334-8.
141. Villanueva JA, Devlin AM, Halsted CH. Reduced folate carrier: Tissue distribution and effects of chronic ethanol intake in the micropig. *Alcoholism: Clin Exp Res* 2001;25:415-20.

142. Shaw S, Jayatilleke E, Herbert V, Colman N. Cleavage of folates during ethanol metabolism. Role of acetaldehyde/xanthine oxidase-generated superoxide. *Biochem J* 1989; 257:277-80.
143. den Heijer M, Keijzer MBAJ. Hyperhomocysteinemia as a risk Factor for Venous Thrombosis. *Clin Chem Lab Med* 2001; 39 (8): 710–3.
144. Jacobsen DW, Gatautis VJ, Green R, Robinson K, Savon SR, Secic M, Sylvia de Jong. Hyperhomocysteinemia in Patients with Peripheral Arterial Occlusive Disease. *Clin Che Lab Med* 2001; 39: 714–6.
145. Wald DS, Law M, Morris JK. Homocysteine and cardiovascular disease: evidence on causality from a meta-analysis. *BMJ* 2002;325: 1202-1206.
146. Bostom AG, Jacques PF, Nadeau MR, Williams RR, Ellison RC, Selhub J. Post-methionine load hyperhomocysteinemia in persons with normal fasting total plasma homocysteine: initial results from the NHLBI Family Heart Study. *Atherosclerosis* 1995; 116:147–51.
147. The Homocysteine Studies Collaboration. Homocysteine and risk of ischemic heart disease and stroke: a meta- analysis. *JAMA* 2002; 288: 2015-2022.
148. Herrmann M, Schmidt JP, Umanskaya N, Wagner A, Taban-Shomal O, Widmann T, Colaianni G i sur. The role of hyperhomocysteinemia as well as folate, vitamin B6 and B12 deficiencies in osteoporosis - a systematic review. *Clin Chem Lab Med* 2007;45:1621-1632.
149. van Meurs JB, Dhonukshe-Rutten RA, Pluijm SM, van der Klift M, de Jonge R, Lindemans J, de Groot LC i sur. Homocysteine levels and the risk of osteoporotic fracture. *N Engl J Med* 2004; 350:2033-2041.
150. Hussein WI, Green R, Jacobsen DW, Faiman C. Normalization of hyperhomocysteinemia with levothyroxine in hypothyroidism. *Ann Intern Med* 1999;131:348 51.
151. Lien EA, Nedrebo BG, Varhaug JE, Nygard O, Aakvaag A, Ueland PM. Plasma total homocysteine during short-term iatrogenic hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Meta* 2000;85:1049-53.
152. Wollesen F, Brattstrom L, Refsum H, Ueland PM, Berglund L, Berne C. Plasma total homocysteine and cysteine in relation to glomerular filtration rate in diabetes mellitus. *Kidney Int* 1999;55:1028-35.
153. Veldman BAJ, Vervoort G, Blom H, Smits P. Reduced plasma total homocysteine in Type 1 diabetes mellitus is determined by increased renal clearance. *Diabetic Med* 2005;22:301-5.
154. Mazza A, Bossone E, Mazza F, Distante A. Reduced serum homocysteine levels in type 2 diabetes. *Nutr Metab Cardiovasc* 2004;15:118-24.
155. Passaro A, Delia K, Pareschi PL, Calzoni F, Carantotoni M, Fellin R, Solini A. Factors influencing plasma homocysteine levels in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2000;23:420-1.
156. Chiarelli F, Pomilio M, Mohn A, Tumini S, Vanelli M, Morgese G i sur. Homocysteine levels during fasting and after methionine loading in adolescents with diabetic retinopathy and nephropathy. *J Pediatr* 2000;137:386-92.
157. Agullo-Ortuno MT, Albaladejo MD, Rodriguez-Manotas M, Fenollar M, Ruiz-Espejo F, Tebar J i sur. Plasmatic homocysteine concentration and its relationship with complications associated to diabetes mellitus. *Clin Chim Acta* 2002;326:105-12.
158. Soedamah-Muthu SS, Chaturvedi N, Teerlink T, Idzor-Walus B, Fuller JH, Stehouwer CDA. Plasma homocysteine and microvascular and macrovascular complication in type 1 diabetes: A cross-sectional nested case-control study. *J Inter Med* 2005;258:450-9.

159. World Health Organization. Development of the World Health Organization WHOQOLBREF quality of life assessment. The WHOQOL Group. *Psychological Medicine* 1998;28, 551-8.
160. Felce D, Perry J. *Quality of life: A contribution to its definition and measurement*. Cardiff: Mental Handicap in Wales Applied Research Unit. 1993
161. Cummins RA. Quality of life definition and terminology: a discussion document from the International Society for Quality of Life Studies. *International Society for Quality of Life Studies* 1998;1-43.
162. Breslin S. Quality of life: How is it measured and defined? *Urologia Internationalis*, 1991;46,246-251.
163. Buchholz M. Assessment of Quality of Life. *New England Journal of Medicine* 1996;335(7),520-521.
164. Liu B. Quality of life: Concept, measure and results. *American Journal of Economics and Sociology* 1975;34,1-13.
165. Ware JE, Kosinsky M, Keller SD. *SF-36 Physical and Mental Health Summary Scales: A User's Manual*. The Health Institute, New England Medical Center, Boston. 1994
166. Ware JE, Snow KK, Kosinski M, Gendek B. *SF-36 Health Survey: Manual and Interpretation Guide*. Boston: The Health Institute, New England Medical Center, Boston. 1993.
167. Vuletić G. *Generacijski i transgeneracijski čimbenici kvalitete života vezani za zdravlje studentske populacije (doktorska disertacija)*. Zagreb: Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. 2004
168. Bowling A. *Measuring health: A review of quality of life measurement scales*. Milton Keynes: Open University Press 1991.
169. Jureša V, Ivanković D, Vuletić G, Babić-Banaszak A, Srček I, Mastilica M, Budak A. The Croatian Health Survey - SF-36: I. General quality of life assessment. *Collegium Antropologicum* 2000; 24(1), 69-78.
170. Matheny KB, Tovar BER, Curlette WL. Perceived stress, coping, resources and life satisfaction among US and Mexican college students: a cross cultural study, *Anales de psicología*, 2008;24(1), 49-57.
171. Deniz M. Relationships among coping with stress, life satisfaction, decision-making styles and decision self-esteem: an investigation with Turkish university students. http://findarticles.com/p/articles/mi_qa3852/is_200601/ai_n17187261
172. Cummins RA. *Personal Well-being indeks: 4th Edition*. Australian Centre on Quality of Life, Deakin University, Melbourne, Australia. 2006
173. Havelka M. *Zdravstvena psihologija*. Jastrebarsko: Naklada Slap. 1998.
174. Hudek-Knežević J, Kardum I. *Stres i tjelesno zdravlje*. Jastrebarsko: Naklada Slap. 2006.
175. Larsen RJ, Buss DM. *Psihologija ličnosti- područja znanja o ljudskoj prirodi*. Jastrebarsko: Naklada Slap. 2008
176. Link LB, Hussaini SN, Jacobson JS. Change in quality of life and immune markers after a stay at a raw vegan institute: a pilot study. *Complementary Therapies in Medicine*;2008;16,(3):124-130.
177. den Heijer M, Keijzer MBAJ. Hyperhomocysteinemia as a risk Factor for Venous Thrombosis. *Clin Chem Lab Med* 2001; 39 (8):710–3.

178. Mirković D. Prospektivna studija o statusu homocisteina kod karakterističnih grupa pacijenata. *Jug Med Biohem* 2002;2;114.
179. Israelsson B, Brattstrom LE, Hultberg BL. Homocysteine and myocardial infarction. *Atherosclerosis* 1988;71: 227–33.
180. Resnicow K, Barone J, Engle A, Miller S, Haley NJ, Fleming D i sur. Diet and serum lipids in vegan vegetarians: A model for risk reduction. *J Am Diet Assoc* 1991;91:447- 453.
181. Key TJ, Fraser GE, Thorogood M, Appleby PN, Bernal V, Reeves G i sur. Mortality in vegetarians and nonvegetarians: Detailed findings from a collaborative analysis of 5 prospective studies. *Am J Clin Nutr* 1999;70:516S-524S.
182. Thorogood M, McPherson K, Mann J. Relationship of body mass indeks, weight, and height to plasma lipid levels in people with different diets in Britain. *Community Med* 1989;11:230-233.
183. Thorogood M, Dietary intake and plasma lipid levels; lessons from a study of the diet of health conscious groups. *BMJ* 1990;300:1297-1301.
184. Mosca L, Grundy SM, Judelson D, King K, Limacher M, Oparil S i sur. AHA/ACC Scientific Statement: Consensus Panel Statement: Guide to preventive Cardiology for Women. *Circulation* 1999;99:2480-2484.
185. Sacks FM, Ornish D, Rosner B, McLanahan S, Castelli WP, Kass EH. Plasma lipoprotein levels in vegetarians: the effect of ingestion of fats from dairy products. *JAMA* 1985;254:1337-41.
186. Brown L, Rosner B, Willet WW, Sacks FM. Cholesterol- Lowering effects of dietary fiber: A meta-analysis. *Am J Clin Nutr* 1999;69:30-42.
187. Gary E, Fraser GE: Associations between diet and cancer, ischemic heart disease, and all-cause mortality in non-Hispanic white California Seventh-day Adventists. *Am J Clin Nutr* 1999;70 (3),532S-538S.
188. Gibson RS. Content and bioavailability of trace elements in vegetarian diets. *Am J Clin Nutr* 1994;59:1223S-1232S.
189. Cravo ML, Gloria LM, Selhub J, Nadeau MR, Camilo ME, Resende MP. Hyperhomocysteinemia in chronic alcoholism: Correaltion with folate, vitamin B-12, and vitamin B-6 status. *Am J Clin Nutr* 1996;63:220-4.
190. Lussier-Cacan S, Xhignesse M, Piolot A, Selhub J, Davignon J, Genest J. Plasma total homocysteine in healthy subjects: Sex-specific relation with biological traits. *Am J Clin Nutr* 1996;64:587-93.
191. de Bree A, Verschuren WMM, Blom JH, Kromhout D. Lifestyle Factors and Plasma Homocysteine Concentrations in a General Population Sample. *Am J Epidemiol* 2001;154:150-4.
192. Monsen ER. Iron nutrition and absorption: dietary factors which impact iron bioavailability. *J Am Diet Assoc* 1988;88:786-90.
193. Gibson RS, Hotz C. Dietary diversification/ modification strategies to enhance micronutrient content and bioavailability of diets in developing countries. *Br J Nutr* 2001;85(2): S159-S166.
194. Latta D, Liebman M. Iron and zinc status of vegetarian and non- vegetarian males. *Nutr Rep Int* 1984;30:141-9.
195. Vermaak WJ, Ubbink JB, Delport R, Becker PJ, Bissport SH, Ungerer JP. Ethnic Immunity to coronary Heart Disease. *Atherosclerosis* 1991; 89: 155–62.

196. Obeid OA, Mannan N, Perry G, Iles RA, Boucher BJ. Homocysteine in healthy east London Bangladeshis. *Lancet* 1998; 352: 1829–30.
197. Miller JW. Homocysteine, Alzheimer's disease, and cognitive function. *Nutrition* 2000;16:675-7
198. Hubner RA, Houlston RS. MTHFR C677T and colorectal cancer: A meta-analysis of 25 populations. *Int J Cancer* 2006;120(5):1027-35.
199. Fodinger M, Horl W, Sunder-Plassman G. 2000. Molecular biology of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase. *Journal of nephrology*, 13 (1): 20.
200. Bos MJ. Homocysteine lowering by B vitamins and the secondary prevention of deep vein thrombosis and pulmonary embolism: a first randomized, placebo-controlled, double-blind trial. *Blood*, 104: 142a. Abstract
201. Mudd SH, Levy HL, Skovby F. *The Metabolic Basis of Inherited Disease*. New York; Mc Graw- Hill, 1989; 693–734.
202. Venn A, Britton J. Exposure to Secondhand Smoke and Biomarkers of Cardiovascular Disease Risk in Never-Smoking Adults. *Circulation* 2007;115:990-5.
203. Stolzenberg-Solomon RZ, Miller ER, Maguire MG, Selhub J, Appel LJ. Association of dietary protein intake and coffee consumption with serum homocysteine concentrations in an older population. *Am J Clin Nutr* 1999;69:467-75.
204. Hultberg B, Berglund M, Andersson A, Frank A. Elevated plasma homocysteine in alcoholics. *Alcohol Clin Exp Res* 1993;17:687-9.
205. Van Der Gaag MS, Ubbink JB, Sillanaukee P, Nikkari S, Hendriks HFJ. Effect on consumption of wine, spirits, and beer on serum homocysteine. *Lancet* 2000;355(9214):1522.
206. Innes KE, Vincent HK. The influence of yoga-based programs on risk profiles in adults with type 2 diabetes mellitus: A systematic review. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2007;4:469–86.
207. Yang K. A review of yoga programs for four leading risk factors of chronic diseases. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2007;4:487–91.
208. Cotman CW, Berchtold NC. Exercise: a behavioral intervention to enhance brain health and plasticity. *Trends Neurosci*. 2002;25:295–301.
209. Saper RB, Eisenberg DM, Davis RB, Culpepper L, Phillips RS. Prevalence and patterns of adult yoga use in the United States: results of a nation survey. *Altern Ther Health Med* 2004;10:44-49.
210. Oken BS, Zajdel D, Kishiyama S. Randomized, controlled, six-month trial of yoga in healthy seniors: effects on cognition and quality of life. *Altern Ther Health Med*. 2006;12:40–47.
211. Kristal AR, Littman AJ, Benitez D, White E. Yoga practice is associated with attenuated weight gain in healthy, middle-aged men and women. *Altern Ther Health Med*. 2005;11:28–33.

8. ŽIVOTOPIS

mr. sc. Silvija Zec Sambol, doktor medicine

Adresa

Zametskog korena 36, 51 000 Rijeka

Telefon/Fax: 051/ 641 057

GSM: 091 / 512 46 35

Datum i mjesto rođenja

13.06.1973. u Rijeci

Bračno stanje

Udata, majka dvoje djece

Izobrazba i stručno usavršavanje:

2012: Edukacija iz NLP-a (Neuro-lingvističko programiranje)

2011: Trening trenera (Hal-Pet poslovna škola)

2010-2011: Edukacija za ozonoterapeuta (German Society for the Use of Ozone in Prevention and Therapy)

2010: Edukacija za edukatore (Mercuri International)

2008: Prezentacijske vještine (Nikša Sviličić)

2007: Core Selling Skills Program (Francisco Rosso)

2003: Profesionalne prodajne vještine 1., 2. i 3. dio (Mercuri International)

1999-2000: Stručni studij "Socijalna psihijatrija i bolesti ovisnosti"

1998-1999: poslijediplomski znanstveni studij "Biomedicina"

1996: studentska razmjena na Institut Catala de la Salut u Barceloni

1994-1995: pripremna izobrazba iz grupne analize, Zavod za grupnu analizu Klinike za psihološku medicinu

1992-1998: Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci

1992: završila Gimnaziju Andrije Mohorovičića u Rijeci

Akademski stupnjevi

23.11.2004: magistar znanosti (mentor: prof.dr.sc. Davor Štimac)

21.12.1998: doktor medicine (diplomirala s ocjenom izvrstan)

Članstva

Njemačko društvo za ozonoterapiju (2010)

Hrvatsko bioetičko društvo (od 2000.)

Hrvatski liječnički zbor (od 1999.)

Radno iskustvo

2011: privatna praksa komplementarne medicine

2007-2011: zaposlena kao Senior medical representative u farmaceutskom predstavništvu sanofi-aventis

2002-2007: zaposlena kao stručni suradnik u farmaceutskom predstavništvu

Schering – Plough

2000-2002: predavač prve pomoći u auto-školi «Vlmal», «Corsa» i «Sprint

2000-2002: vanjski stručni suradnik za medicinsku bioetiku na Katedri za društvene znanosti Medicinskog fakulteta u Rijeci

2000-2001: nastavnik iz biologije, prirode i kemije u Osnovnoj školi «Vežica» i «Srdoči

1999-2000: pripravnički staž u Kliničkom bolničkom centru Rijeka

Ostale aktivnosti

1996: studentski međunarodni projekt "Etički pluralizam i abortus"

1994-1998: demonstrator iz bioetike na Katedri za društvene znanosti Medicinskog fakulteta u Rijeci

Osobne vještine i hobiji:

-znanje engleskog jezika u govoru i pismu

-poznavanje rada na računalu u MS Office-u (Word, Excel, Power Point); završen tečaj

-licencirani voditelj sportske rekreacije- aerobik

-položen vozački ispit za «B» kategoriju

Sudjelovanje na međunarodni stručnim skupovima

1. Zec Sambol S, Štimac D, Crnčević- Orlić Ž, Guina T. Haematological, biochemical and bone density parameters in vegetarians and non – vegetarians. West Indian Med J. 2009; 58(6): 512-7.

2. Zec Sambol S, Sopta R, Lupi D, Štimac D, Milić S, Crnčević-Orlić Ž. Utjecaj vegetarijanske dijeta na mineralnu gustoću kosti. 2004. 3. Internistički kongres u Opatiji

3. Zec S, Frković A. Informed consent in the first trimester of pregnancy. 2003. 17. FIGO World Congress in Santiago, Chile.

4. Zec S. "Bioetička edukacija medicinskih sestara", 2001. Prvi hrvatski bioetički simpozij u Zagrebu

5. Zec S, Frković A, "Informirani pristanak u perinatologiji", 2001. Dani Frane Petrića u Malom Lošinj

6. Zec S. "Informirani pristanak", 1999. Internacionalni simpozij iz Biomedicinske etike u Zagrebu

7. Zec S, Sopta R. "Visoki HDL kao rezultat vegetarijanske dijeta", 1998. Internacionalni kongres studenata medicine u Kairu

8. Zec S, Sopta R. "Nutritivni status vegetarijanaca", 1997. Internacionalni kongres studenata medicine u Istanbulu
9. Zec S, Jonovska S. " Psihoimunološki aspekti kod schizofrenije", 1996. Internacionalni kongres studenata medicine u Ohridu