13. *Klastersky J, Paesmans M, Rubenstein EB i sur.* The Multinational Association for Supportive Care in Cancer Risk Index: a multinational scoring system for identify low-risk febrile neutropenic cancer patients. J Clin Oncol 2000;18: 3038–51.
14. *Rubinstein E, Lode H, Grassi C.* Ceftazidime monotherapy vs. ceftriaxone/tobramycin for serious hospital-acquired gram-negative infections. Antibiotic Study Group. Clin Infect Dis 1995; 20:1217–28.
15. *Pizzo PA, Hathorn JW, Hiemenz J i sur.* A randomized trial comparing ceftazidime alone with combination antibiotic therapy in cancer patients with fever and neutropenia. N Engl J Med 1986; 315:552–8.
16. *Behre G, Link H, Maschmeyer G i sur.* Meropenem monotherapy versus combination therapy with ceftazidime and amikacin for empirical treatment of febrile neutropenic patients. Ann Hematol 1998; 76:73–80.
17. *Del Favero A, Menichetti F, Martino P i sur.* A multicenter, double-blind, placebo-controlled trial comparing piperacillin-tazobactam with and without amikacin as empiric therapy for febrile neutropenia. Clin Infect Dis 2001; 33:1295–301.
18. *Rolston KV, Berkey P, Bodey GP i sur.* A comparison of imipenem to cephtazidime with or without amikacin as empiric therapy in febrile neutropenic patients. Arch Intern Med 1992;152:283–91.
19. *Feld R, DePauw B, Berman S i sur.* Meropenem versus ceftazidime in the treatment of cancer patients with febrile neutropenia: a randomized, double-blind trial. J Clin Oncol 2000;18:3690–8.
20. European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) International Antimicrobial Therapy Cooperative Group, National Cancer Institute of Canada–Clinical Trials Group. Vancomycin added to empirical combination antibiotic therapy for fever in granulocytopenic cancer patients. J Infect Dis 1991; 163:951–8.
21. *Cometta A, Kern WV, De Bock R i sur.* Vankomycin versus placebo for treating persistent fever in patients with neutropenic cancer receiving piperacilin-tazobactam monotherapy. Clin Infect Dis 2003;37:382–9.
22. *Elting LS, Rubenstein EB, Rolston K i sur.* Time to clinical response: an outcome of antibiotic therapy of febrile neutropenia with implications for quality and cost of care. J Clin Oncol 2000;18:3699–706.
23. *Bodey GP, Bueltmann B, Duguid W i sur.* Fungal infections in cancer patients: an international autopsy survey. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1992;11:99 –109.
24. *Pizzo PA, Robichaud KJ, Gill FA, Witebsky FG.* Empiric antibiotic and antifungal therapy for cancer patients with prolonged fever and granulocytopenia. Am J Med 1982;72:101–11.
25. *Flückiger U, Marchetti O, Bille J i sur.* Treatment options of invasive fungal infections in adults. Swiss Med Wkly 2006;136:447–63.
26. *Wade JC.* Viral Infections in patients with hematological malignancies. American Society of Haematology Education Book 2006.
27. *Gafter-Gvili A, Fraser A, Paul M, Leibovici L.* Effect of quinolone prophylaxis in afebrile neutropenic patients on microbial resistance: systematic review and meta-analysis. J Antimicrob Chemother 2007;59: 5–22.
28. *Gafter-Gvili A, Fraser A, Paul M, Leibovici L.* Meta-analysis: antibiotic prophylaxis reduces mortality in neutropenic patients. Ann Intern Med 2005;142:979–95.
29. *Leibovici L, Paul M, Cullen M, Bucaneve G i sur.* Antibiotic Prophylaxis in Neutropenic Patients. Cancer 2006; 107: 1743–51.
30. *Glasmacher A, Prentice AG.* Evidence-based review of antifungal prophylaxis in neutropenic patients with haematological malignancies. J Antimicrob Chemother 2005;56 Suppl 1:i23–i32.
31. *Bow EJ.* Of Yeasts and Hyphae: A hematologist's approach to antifungal therapy. American Society of Haematology Education Book 2006).

ULOGA OMEGA-3 MASNIH KISELINA IZ RIBA U PREVENCIJI KARDIOVASKULARNIH BOLESTI

THE ROLE OF OMEGA-3 FATTY ACIDS FROM FISH IN PREVENTION OF CARDIOVASCULAR DISEASES

ŽELJKO REINER, EUGENIA TEDESCHI-REINER, GORDANA ŠTAJMINGER*

Deskriptori: Omega-3 masne kiseline – farmakologija, terapijska upotreba, doziranje; Kardiovaskularne bolesti – prevencija; Infarkt miokarda – prevencija, smrtnost; Aritmija – etiologija, prevencija; Iznenadna srčana smrt – prevencija

Sažetak. Riba, odnosno riblje ulje, izvor je omega-3 masnih kiselina – višestruko nezasićenih esencijalnih masnih kiselina. One u dozi od 1 g na dan u bolesnika s preboljelim infarktom miokarda značajno smanjuju ukupnu smrtnost i rizik od iznenadne smrti zbog aritmija. U posljednje je vrijeme u žarištu zanimanja upravo mehanizam antiaritmijskog djelovanja omega-3 kiselina kojim se ti korisni učinci dobrim dijelom objašnjavaju. Naime, one utječu na ionske kanale u membranama stanica srca, povećavaju prag za fibrilaciju klijetki i povećavaju varijabilnost ritma srca. Iako podaci o učincima tih kiselina u primarnoj prevenciji nisu tako nedvojbeni kao oni u sekundarnoj, čini se da je opravdana uporaba omega-3 kiselina i u primarnoj prevenciji. U višim se dozama (2 do 4 g na dan) daju za liječenje hipertrigliceridemije. Mogući mehanizmi kojima omega-3 masne kiseline smanjuju rizik od kardiovaskularnih bolesti uključuju, osim spomenutih, antitrombotičke (smanjuju agregaciju i reaktivnost trombocita, smanjuju viskoznost plazme, potiču fibrinolizu) i protuupalne učinke (smanjuju IL-6, MCP-1, TNF), poboljšanje funkcije endotelnih stanica krvnih žila (primjerice potiču lučenje dušičnog oksida), smanjenje očitovanja adhezijskih molekula na endotelu, kočenje migracije i proliferacije glatkih mišićnih stanica te sniženje arterijskog tlaka. Na temelju opsežnih kliničkih istraživanja danas se smatra da bi se omega-3 masne kiseline trebale u najmanju ruku davati u sekundarnoj prevenciji bolesnicima s preboljelim infarktom miokarda. Pokazano je također da je u sekundarnoj prevenciji davanje bolesnicima s preboljelim infarktom miokarda visoko pročišćenih i koncentriranih omega-3 masnih kiselina uz uobičajeno liječenje financijski isplativo u usporedbi sa samo uobičajenim liječenjem. Potrebno je naglasiti da nema značajnih interakcija lijekova s omega-3 masnim kiselinama.

* **Klinika za unutarnje bolesti Medicinskog fakulteta, KBC Zagreb** (akademik Željko Reiner, dr. med.); **Klinika za očne bolesti KB Sestre milosrdnice** (doc. dr. sc. Eugenia Tedeschi-Reiner, dr. med.), **Poliklinika dr. Gordana Štajminger, Zagreb** (Gordana Štajminger, dr. med.)

Adresa za dopisivanje: Akademik Ž. Reiner, Klinika za unutarnje bolesti, KBC Zagreb, Kišpatićeva 12, 10 000 Zagreb

Primljeno 18. lipnja 2007., prihvaćeno 25. listopada 2007.

Descriptors: Fatty acids, omega-3 – pharmacology, therapeutic use, administration and dosage; Cardiovascular diseases – prevention and control; Myocardial infarction – prevention and control, mortality; Arrhythmia – etiology, prevention and control; Death, sudden, cardiac – prevention and control

Summary. Fish and fish oil are rich sources of omega-3 fatty acids – essential polyunsaturated fatty acids. These acids in doses of 1 g per day have been shown to significantly reduce the all-cause mortality in post myocardial infarction (MI) patients and the risk for sudden death caused by cardiac arrhythmias. One of the recently most studied mechanisms that may contribute to this benefits of omega-3 fatty acids is their anti-arrhythmic effect. Namely, these acids influence membrane ion channels, increase ventricular fibrillation threshold and increase heart rate variability. Although the data concerning primary prevention is less straightforward than the data relating secondary prevention, it seems that the use of omega-3 fatty acids in primary prevention might be justified as well. In higher doses (2 to 4 g per day) they are used to treat hypertriglyceridemia. Potential mechanisms by which omega-3 fatty acids may reduce risk for cardiovascular disease include also antithrombotic (they decrease platelet aggregation/reactivity, reduce plasma viscosity, enhance fibrinolysis) and anti-inflammatory effects (e.g. they decrease IL-6, MCP-1, TNF), improving vascular endothelial cell function (e.g. they increase availability of nitric oxide), reducing expression of endothelial cells adhesion molecules, inhibiting smooth muscle cells migration and proliferation, and reducing blood pressure. Based upon clinical studies the use of omega-3 fatty acids should be considered today at least as a part of comprehensive secondary prevention strategy in post-MI patients. It has been also shown that adding highly concentrated omega-3 fatty acids to standard treatment in the secondary prevention of MI is cost effective versus standard treatment alone. Particularly important is that there are no significant drug interactions with omega-3 fatty acids.

Liječ Vjesn 2007;129:350–355

Povijesni pregled

Zanimanje za povezanost između konzumiranja riba te kasnije uzimanja uljnih pripravaka iz tkiva (fileta) riba i prevencije kardiovaskularnih bolesti potječe još iz 1927. godine. Tada je, naime, opisano da Eskimi s Grenlanda koji jedu mnogo ribe imaju vrlo rijetko koronarnu bolest i infarkt miokarda. Početkom 1970-ih godina danski su istraživači Bang i suradnici opazili da ti Eskimi sa sjeverozapadnog Grenlanda iz područja Umanaq, oko 500 km sjevernije od polarne obratnice, koji ne samo da jedu velike količine ribe već i mesa tuljana i morževa, iako te namirnice sadržavaju mnogo masnoća, imaju niske koncentracije kolesterola i triglicerida u krvi.[1]

Kada su koncentracije masnoća u krvi Eskima usporedili s onima u Danaca, ustanovili su da je u Eskima kolesterol bio 21% niži, a trigliceridi čak 53% niži. LDL-kolesterol bio je u Eskima 12% niži, a zaštitni HDL-kolesterol čak 50% viši.[1] To je opažanje bilo važno jer su kardiovaskularne bolesti, posebice ishemijska bolest srca u Eskima deset puta rjeđe nego u Danaca usprkos tomu što im prehrana sadržava mnogo masti, odnosno oko 40% unosa kalorija u njihovoj prehrani potječe iz masnoća.[2] Rezultatima tih ispitivanja nalikovali su rezultati ispitivanja domorodaca s Aljaske, koji se hrane slično kao Eskimi i u kojih je smrtnost od kardiovaskularnih bolesti bila samo oko 10% za razliku od one u ostatku SAD-a koja je bila oko 50%. Japanski istraživači su pak uočili da japanski ribari koji jedu mnogo ribe imaju manju koronarnu smrtnost od japanskih poljoprivrednika.[3] Poznato nizozemsko Zutphensko ispitivanje pokazalo je na temelju analize 20-godišnjih podataka da je učestalost koronarne bolesti i koronarna smrtnost osoba koje jedu prosječno 30 g ili više ribe na dan upola manja nego ona u osoba koje uopće ne jedu ribu.[4] Slično su pokazala i ostala ispitivanja povezanosti između konzumiranja ribe i pobola odnosno smrtnosti zbog kardiovaskularnih bolesti u drugim dijelovima svijeta.[5–7]

Još su rezultati prvih šest velikih ispitivanja eskimskog stanovništva sjeverozapadne obale Grenlanda (oko 2400 ljudi) provedenih između 1970. i 1982. godine pokazali da se za srce i krvne žile korisni učinci konzumiranja riba mogu poglavito pripisati unošenju u organizam omega-3 višestruko nezasićenih masnih kiselina, kojih ima mnogo u ribama, posebno onima hladnih mora (haringa, losos i sl.).

Što su omega-3 masne kiseline iz riba?

To su esencijalne višestruko nezasićene masne kiseline dugih lanaca – dakle ne nastaju sintezom u ljudskom organizmu, već se moraju unijeti hranom ili u obliku pripravaka. Stvara ih samo fitoplankton, pa kako se njime hrane ribe, jasno je zašto ih u njihovu mesu ima tako mnogo. Najvažnije omega-3 masne kiseline iz riba su eikozapentaenska, C20:5n-3 (EPA) i dokozaheksaenska, C22:5n-3 (DHA). Njih nema u kopnenim životinjama i biljkama ili ih one sadržavaju tek u neznatnim količinama. Treba naglasiti da se u skupinu omega-3 masnih kiselina ubraja i α-linolenska kiselina, C18:3n-3 (ima 18 C-atoma i 3 dvostruke sveze), no ona se nalazi samo u biljkama i, za razliku od EPA i DHA, spada u skupinu masnih kiselina kratkih lanaca. Budući da ona ima i niz drugih obilježja različitih od omega-3 kiselina iz riba, o njoj u nastavku neće biti govora. Treba, ipak, napomenuti da iz nje u tijelu sisavaca, pa tako i čovjeka mogu nastati male količine EPA i DHA, no te su količine nedovoljne za fiziološke potrebe organizma sisavaca.

Podaci o kliničkim ispitivanjima

Pripravci omega-3 kiselina iz riba davani su ljudima u više velikih istraživanja kojima se željela potvrditi njihova učinkovitost u prevenciji kardiovaskularnih bolesti. Rezultati nekoliko takvih istraživanja objavljeni su posljednjih petnaestak godina i oni jasno upućuju na korist tih pripravaka. U prvom od njih nazvanom Diet and Reinfarction Trial (DART) pokazano je na 2033 bolesnika koji su preživjeli infarkt miokarda da oni koji jedu dva obroka od po 200–400 g ribe na tjedan ili uzimaju odgovarajuću količinu pripravaka omega-3 masnih kiselina imaju već nakon 4 mjeseca (ispitivanje je trajalo 2 godine) za 29% manju smrtnost od onih koji se pridržavaju dijete sa samo 10% masnoća, ali ne jedu ribu ili ne uzimaju te pripravke.[8] Ipak, uzimanjem omega-3 masnih kiselina u tom istraživanju nije se smanjila učestalost infarkta miokarda.

U drugom je pak, do danas najvećem istraživanju – Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Infarto Miocardico (GISSI) – Prevenzione, provedenom na 11.324 bolesnika koji su u prethodna 3 mjeseca preživjeli infarkt miokarda, pokazano da uzimanje 1 g na dan visoko pročišćenih etilnih estera omega-3 masnih kiselina iz riba tije-

kom 3,5 godina smanjuje smrtnost tih bolesnika za 20% te da smanjuje kardiovaskularnu smrtnost za 30%, a rizik od iznenadne smrti za čak 45%.[9] Budući da su svi ti bolesnici uzimali i uobičajenu terapiju – aspirin, beta-blokatore, ACE-inhibitore i statine koji smanjuju rizik od smrti za 20–40%, dodatno smanjenje za 30% neovisno o sniženju kolesterola u krvi uputilo je na veliku važnost omega-3 kiselina u sekundarnoj prevenciji. Tim se istraživanjem, međutim, uspio dokazati učinak omega-3 masnih kiselina na smanjenje moždanog udara.

U jednom je ispitivanju provedenom na 360 osoba u kojih se posumnjalo na infarkt miokarda, a koje su dobivale 1 g EPA iz riba na dan ili placebo uočeno da je u onih koji su uzimali omega-3 kiseline nakon jedne godine manja kardiovaskularna smrtnost, uključujući i učestalost iznenadne smrti (11,2 prema 22,0%, $p<0,05$).[10]

Analizom podataka iz poznate Physician's Health Study vidjelo se da oni koji imaju veću količinu omega-3 masnih kiselina iz riba u krvi imaju manji rizik od iznenadne smrti, tj. da se učincima omega-3 kiselina može pripisati čak 72% odnosno 81% smanjenja relativnog rizika.[11]

U zadnjem objavljenom velikom istraživanju nazvanom Japan EPA Lipid Intervention Study (JELIS) pokazano je da davanje EPA uz statin bolesnicima s hiperkolesterolemijom koji nemaju znakova kardiovaskularnih bolesti značajno smanjuje pojavu koronarnih zbivanja.[12] Dakle, tim je ispitivanjem dokazana korist omega-3 kiselina i u primarnoj prevenciji.

Antilipemički učinci

Provedena su brojna ispitivanja kojima je bio cilj otkriti kojim to mehanizmima omega-3 masne kiseline postižu protuaterosklerotske, odnosno kardioprotektivne učinke. Jedan od važnih mehanizama je nedvojbeno djelovanje omega-3 masnih kiselina na serumske lipide i lipoproteine.[13] Dokazano je, naime, da one u dozama od 2 do 4 g na dan ponajprije smanjuju količinu triglicerida u krvi za 25–30%.[14] Do toga dolazi zato što smanjuju sintezu u jetri VLDL, čestica koje su glavni prenosioci triglicerida krvlju, ali i povećavaju katabolizam VLDL u LDL-čestice.[15] Naime uočeno je da se VLDL-čestice za koje su omega-3 kiseline pričvršćene pojačano vežu za lipoproteinsku lipazu koja hidrolizira triglyceride iz tih čestica.

U nekih bolesnika s jako povišenim trigliceridima u krvi, omega-3 masne kiseline u visokim dozama (5 grama na dan) smanjuju trigliceride za čak 60–80%. Ukupni se kolesterol u krvi pritom ne mijenja, dok se LDL-kolesterol u osoba s normalnim lipoproteinima poveća za oko 3%, a u bolesnika s hiperlipidemijom za 7–10%, no nakon nekog vremena se vrati na normalnu razinu.[16,17] Na HDL-kolesterol omega-3 masne kiseline uglavnom nemaju učinka ili ga tek neznatno povećavaju, tj. za 1–3%.[18] Činjenica da omega-3 masne kiseline smanjuju aterogeni apoprotein B u LDL-česticama pridonosi objašnjenju njihova povoljnog učinka na koronarnu bolest. Izgleda da one snižavaju i aterogeni lipoprotein(a) u krvi.[19]

U jednom randomiziranom ispitivanju kontroliranom placebom koje smo proveli prije desetak godina ustanovili smo da u bolesnika s hiperlipoproteinemijama tipa II i IV po Fredricksonu omega-3 masne kiseline nakon 3 mjeseca značajno smanjuju trigliceride ($p<0,05$), sistolički tlak ($p<0,001$) i dijastolički tlak ($p<0,01$) u odnosu na placebo, dok se povećavaju ukupni kolesterol ($p<0,01$) i LDL-kolesterol ($p<0,01$), ali i zaštitni HDL-kolesterol ($p<0,05$).[20] Kada smo pak omega-3 masne kiseline davali bolesnicima s hiperlipoproteinemijom tipa V, u njih je došlo do značajnog smanjenja triglicerida, ali i ukupnog te LDL-kolesterola, dok na HDL-kolesterol omega-3 masne kiseline nisu imale značajnijeg učinka.[21] U randomiziranom ispitivanju u kojem je bolesnicima s hipertrigliceridemijom davan simvastatin 10–40 mg na dan uz 4 g pripravka visoko pročišćenih estera omega-3 masnih kiselina ili uz placebo, dodatak omega-3 masnih kiselina je uzrokovao dodatno smanjenje triglicerida za 20–30%, a VLDL-kolesterola za 30–40%.[22]

Sukladno svemu navedenom, danas se smatra da su omega-3 masne kiseline iz riba u dozama od 2 do 4 grama na dan korisno i općeprihvaćeno sredstvo za smanjenje povišenih triglicerida u krvi.[23]

Učinci na arterijski tlak

Omega-3 masne kiseline u bolesnika s arterijskom hipertenzijom umjereno snižavaju krvni tlak ovisno o dozi. Naime, već je u prvoj metaanalizi antihipertenzivnih učinaka omega-3 kiselina koja je obuhvatila 31 kontrolirano ispitivanje, odnosno 1.356 bolesnika, pokazano da one snižavaju za 0,66 mmHg sistolički, a za 0,35 mmHg dijastolički tlak po svakom gramu kiselina.[24] Dakle, sniženje tlaka ovisno je o dozi. Prosječno se s 5,6 g ribljeg ulja na dan uspio sniziti sistolički tlak za 3,4, a dijastolički za 2,0 mmHg. I druga je istodobno objavljena metaanaliza pokazala da davanje najmanje 3 g omega-3 kiselina iz riba na dan snizuje sistolički tlak za 5,5, a dijastolički za 3,5 mmHg.[25]

Ostali antiaterogeni učinci

Osim učinaka na serumske lipoproteine, omega-3 masne kiseline imaju niz drugih učinaka koji zacijelo pridonose njihovu djelovanju u smislu prevencije kardiovaskularnih bolesti izazvanih aterosklerozom. Tako one, a posebno DHA, poboljšavaju funkciju endotela, između ostaloga potičući sintezu i lučenje dušičnog oksida (NO).[26,27] Naime, NO je tvar koja osim što izaziva vazodilataciju, sprječava aktivaciju endotela i povoljno djeluje na niz početnih zbivanja u procesu aterogeneze jer smanjuje adheriranje monocita i trombocita uz endotel te agregaciju trombocita, a smanjuje također migraciju i proliferaciju glatkih mišićnih stanica. Omega-3 masne kiseline i izravno sprječavaju agregaciju trombocita smanjujući nastanak tromboksana A2,[28] a time, kao i smanjenjem viskoznosti krvi te smanjenjem inhibitora aktivacije plazminogena 1 (PAI-1) i fibrinogena i povećanjem tkivnog aktivatora plazminogena djeluju antitrombogeno odnosno trombolitički.[29] One imaju i protuupalne učinke, što je također važno za njihovo povoljno djelovanje u smislu usporavanja ateroskleroze.[30,31] Tako primjerice smanjuju sintezu i lučenje citokina (IL-1, IL-2) te TNF i tkivnog čimbenika iz neutrofila i monocita, a smanjuju i lučenje čimbenika rasta, primjerice čimbenika rasta iz trombocita (PDGF).[32,33] Omega-3 kiseline koče i proliferaciju glatkih mišićnih stanica *in vitro*,[34] smanjuju kemotaksiju leukocita, smanjuju ulazak makrofaga u stijenku žile, ali i očitovanje adhezijskih molekula, primjerice E-selektina i VCAM-1 na endotelu[35] te sekundarne citokine (IL-6, IL-8, MCP-1, M-CSF), što sve pridonosi njihovu antiaterogenom djelovanju.

U randomiziranom ispitivanju načinjenom na 188 bolesnika kojima su prije karotidne endarterektomije davana tijekom 7–189 dana (medijan je bio 42 dana) 1,4 g omega-3 masnih kiselina iz riba na dan ili linolenska kiselina, dokazano je da se omega-3 kiseline ugrađuju u aterosklerotske nakupine i povećavaju njihovu stabilnost.[36]

Sve to objašnjava zašto su u jednom ispitivanju u kojem su bolesnici s angiografski dokazanom koronarnom bolešću dobivali ili 1,5 g omega-3 masnih kiselina ili placebo, oni koji su dobivali omega-3 kiseline imali nakon 2 godine manju progresiju aterosklerotskih promjena,[37] dok je u drugom nakon dvije godine uzimanja visoko pročišćenih omega-3 kiselina u bolesnika s dijabetesom tipa 2 uočeno poboljšanje debljine intima-medija na karotidama, važnog biljega početne ateroskleroze.[38]

Već je prilično davno u više istraživanja također pokazano da uzimanje omega-3 kiselina smanjuje učestalost restenoza nakon perkutane transluminalne koronarne angioplastike.[39,40]

Učinci na zatajivanje srca

U već spomenutom ispitivanju GISSI povoljni učinci etilnih estera omega-3 kiselina iz riba na opću smrtnost i na iznenadnu smrt u bolesnika nakon infarkta miokarda bili su osobito izraženi u onih s ejekcijskom frakcijom manjom od 50%, odnosno onih sa sistoličkom disfunkcijom lijeve klijetke. Jedno je novije epidemiološko ispitivanje na 4.738 osoba jasno pokazalo da omega-3 kiseline dovode do manje incidencije kongestivnog zatajivanja srca.[41] To se može tumačiti povoljnim djelovanjem tih kiselina na funkciju endotela i sniženje arterijskog tlaka pa time i na poboljšanje subendokardne koronarne perfuzije. Pokazano je također da omega-3 kiseline poboljšavaju metabolizam srca u ishemiji, da smanjuju naknadno opterećenje (»afterload«) i hipertrofiju lijeve klijetke, da mogu prevenirati dilataciju lijeve klijetke i vjerojatno smanjiti intersticijsku fibrozu miokarda, što bi sve moglo pridonijeti objašnjenju njihova povoljnog djelovanja na zatajivanje srca.[41]

Antiaritmijski učinci

Još je prije tri desetljeća uočeno da omega-3 kiseline iz riba djeluju antiaritmijski.[42] Kasnije su i brojna klinička ispitivanja potvrdila da omega-3 kiseline djeluju tako što smanjuju rizik od pojave aritmija i iznenadne smrti, odnosno fibrilacije klijetki.[43,44] To se objašnjava činjenicom da se one vežu za bjelančevine natrijskih kanala u fosfolipidnom dvosloju membrana stanica srčanog mišića na položaju SN2, i to ili uz ionske kanale ili za hidrofobna područja bjelančevina unutar ionskih kanala jer se negativni naboj karboksilne skupine omega-3 kiselina veže uz pozitivne alfa-podjedinice. Tako preveniraju aktivaciju tih kanala pri čemu se veličina električnog poticaja potrebnog da depolarizira stanice poveća za 50%, a refraktorna faza akcijskog potencijala se produži pa se povećava električna stabilnost stanica i smanji vjerojatnost aritmija. Omega-3 masne kiseline vežu se i za kalcijeve kanale L-tipa stanica srca i koče ih pa time štite te stanice od pretrpavanja kalcijem u ishemiji, odnosno sprječavaju aritmogena izbijanja uzrokovana prevelikom količinom kalcija u citosolu tih stanica.[45–47] Pritom zbog smanjenog ulaska kalcija nisu opaženi nikakvi nepovoljni učinci na kontraktilnost odnosno funkciju miokarda. Omega-3 kiseline djeluju i na kalijeve kanale, što također može imati učinke na prevenciju aritmija u ishemiji.[48]

Dakle, danas je prilično jasno da omega-3 masne kiseline djelovanjem na ionske kanale sprječavaju aritmije i iznenadnu smrt.[49] Tomu nedvojbeno pridonosi i činjenica da one povećavaju varijabilnost srčanog ritma, a zna se da je smanjenje varijabilnosti srčanog ritma do kojeg često dolazi u bolesnika nakon infarkta miokarda, snažni pretkazatelj aritmija i iznenadne smrti.[50] Naknadnom analizom već spomenutog istraživanja GISSI pokazano je da do boljeg preživljenja bolesnika koji su nakon infarkta miokarda uzimali etilne estere omega-3 masnih kiselina ponajprije dolazi upravo zbog smanjenja rizika od iznenadne smrti koje postaje statistički signifikantno već nakon 4 mjeseca.[51]

Omega-3 kiseline smanjuju i rizik od nastanka fibrilacije pretklijetki.[52,53] Takvo je djelovanje omega-3 kiselina dokazano i u randomiziranom ispitivanju provedenom na 160 bolesnika koji su najmanje zadnjih 5 dana prije ugradnje aortokoronarne premosnice i nakon operacije dobivali 2 g etilnih estera omega-3 kiselina iz riba na dan ili samo uobičajenu terapiju. Bolesnici koji su dobivali omega-3 kiseline imali su postoperativno značajno rjeđe fibrilaciju pretklijetki (čak za 54,4%), a i vrijeme hospitalizacije bilo im je kraće.[54] To je opažanje osobito važno jer je fibrilacija atrija česta komplikacija nakon ugradnje aortokoronarnih premosnica.

Da omega-3 masne kiseline iz riba imaju važan utjecaj na elektrofiziologiju srca, potvrđuje i to što one smanjuju frekvenciju srca neovisno o dozi, osobito u osoba s povećanom frekvencijom, a povećana se frekvencija smatra čimbenikom kardiovaskularnog rizika.[55]

Nuspojave i interakcije

Ranije se smatralo da omega-3 masne kiseline mogu imati neželjene nuspojave u smislu pogoršanja ravnoteže glukoze u osoba s nepodnošenjem glukoze i bolesnika s dijabetesom tipa 2.[56] Još je prije nekoliko godina, međutim, dokazano da doze do 3 grama omega-3 masnih kiselina na dan ne utječu negativno na metabolizam glukoze u dijabetičara,[57,58] odnosno ne povećavaju niti koncentraciju glukoze u krvi niti glikozilirani hemoglobin.[59,60] Dapače, rezultati novijih istraživanja upućuju na to da omega-3 masne kiseline poboljšavaju metabolizam glukoze i povoljno utječu na metabolički sindrom.[61] Mogućnosti takvih učinaka podupiru i nedavne spoznaje o djelovanju tih kiselina na peroksisomske receptore aktivirane proliferatorom (PPAR).[62,63]

Budući da omega-3 masne kiseline imaju antiagregacijske učinke, postojale su sumnje da davanje tih pripravaka u višim dozama, odnosno istodobno s antiagregacijskim i antikoagulacijskim lijekovima, može povećati rizik od krvarenja. Međutim, takve sumnje nisu do danas potkrijepljene podatcima koji bi na to upućivali. U nekim je ispitivanjima pokazano da čak ni doza od 6 g omega-3 kiselina na dan uz 300 mg aspirina ili varfarin ne uzrokuje promjene u vremenu krvarenja odnosno INR.[64]

Bez obzira na to što ribe iz raznih mora sadržavaju dosta štetnih spojeva, primjerice žive, pripravci omega-3 masnih kiselina ih u pravilu ne sadržavaju, a osobito ih ne sadržavaju oni koji su visoko pročišćeni i čija je proizvodnja dobro nadzirana.

Zaključak

Slijedom svega navedenoga može se zaključiti da pripravci omega-3 masnih kiselina iz riba, osobito oni visoko pročišćeni, u dozama od 1 do 3 grama na dan imaju mjesto u prevenciji kardiovaskularnih bolesti, to više što, izgleda, nemaju značajnijih interakcija s drugim lijekovima, poglavito antilipemicima i antihipertenzivima koji se također rabe u prevenciji koronarne bolesti. Rezultati kliničkih ispitivanja, osobito oni u svezi sa sprječavanjem nagle smrti nakon infarkta miokarda, očito su bili razlog da i American Heart Association i Europsko kardiološko društvo u svojim smjernicama preporuče uzimanje 1 grama visoko pročišćenih omega-3 masnih kiselina na dan bolesnicima s koronarnom

bolešću, odnosno onima koji su preživjeli infarkt miokarda, dakle u sklopu sekundarne prevencije.[65,66] Nekoliko je nedavno objavljenih istraživanja jasno pokazalo da je davanje pripravka visoko pročišćenih omega-3 kiselina iz riba uz ostalu terapiju i financijski isplativo u usporedbi s uobičajenim liječenjem bolesnika koji su preživjeli infarkt miokarda.[67,68]

Potrebno je naglasiti da su takvi pripravci omega-3 masnih kiselina, u mnogim zemljama već odavno registrirani kao lijek, pa bi njihova percepcija i u nas trebala biti odgovarajuća, što u ovom trenutku nije. Naime, zahvaljujući činjenici da su brojni pripravci omega-3 masnih kiselina u nas godinama stavljani u promet kao dodatak hrani i često netočno reklamirani kao »sredstvo za snižavanje kolesterola u krvi«, a većina ih sadržava i premalene količine EPA i DHA, njihova je percepcija u očima medicinske i laičke javnosti potpuno kriva.[69] Stoga je i jedan od ciljeva ovog članka da se to promijeni.

Rad je proizašao iz znanstvenog projekta provođenog uz potporu Ministarstva zdravstva, obrazovanja i športa Republike Hrvatske (Percepcija i prevencija čimbenika rizika za aterosklerozu u Hrvatskoj 108-1080134-0121) i tvrtke Solvay Pharma.

LITERATURA

1. *Bang HO, Dyeberg J.* Plasma lipids and lipoproteins in Greenland westcoast Eskimos. Acta Med Scand 1972;192:85–94.
2. *Kromann N, Green A.* Epidemiological studies in the Upernavik district, Greenland. Acta Med Scand 1980;208:401–6.
3. *Hirai A, Terano T, Tamura Y, Yoshida S.* Eicosapentaenoic acid and adult diseases in Japan: epidemiological and clinical aspects. J Intern Med Suppl 1989;225:69–75.
4. *Kromhout D, Bosschieter EB, de Lezenne-Coulander C.* The inverse relation between fish consumption and 20-year mortality from coronary heart disease. N Engl J Med 1985;312–1205–9.
5. *Daviglus ML, Stamler J, Orencia AJ i sur.* Fish consumption and the 30-year risk od fatal myocardial infarction. N Engl J Med 1997;336: 1046–53.
6. *Zhang J, Sasaki S, Amano K i sur.* Fish consumption and mortality from all causes, ischemic heart disease, and stroke: an ecological study. Prev Med 1999;28:520–9.
7. *Hu FB, Bronner L, Willett WC i sur.* Fish and omega-3 fatty acid intake and risk of coronary heart disease in women. JAMA 2002;287:1815–21.
8. *Burr ML, Fehily AM, Gilbert JF.* Effects of changes in fat, fish, and fibre intakes on death and myocardial reinfarction: diet and reinfarction trial (DART). Lancet 1989;2:757:61.
9. *GISSI-Prevenzione Investigators.* Dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids and vitamin E after myocardial infarction: results of the GISSI-Prevenzione Trial. Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Infarto Miocardico. Lancet 1999;354:447–55.
10. *Singh RB, Niaz MA, Sharma JP i sur.* Randomized double-blind, placebo-controlled trial od fish oil and mustard oil in patients with suspected acute myocardial infarction: the Indian experiment of infarct survival. Cardiovasc Drugs Ther 1997;11:485–91.
11. *Albert CM, Campos H, Stampfer MJ i sur.* Blood levels of long-chain n-3 fatty acids and the risk of sudden death. N Engl J Med 2002;346: 1113–8.
12. *Yokoyama M.* Effects of eicosapentaenoic acid (EPA) on major cardiovascular events in hypercholesterolemic patients: the Japan EPA Lipid Intervention Study (JELIS), Circulation 2005;112:3362–3.
13. *Reiner-Tedeschi E, Reiner Ž.* Omega-3 masne kiseline u prevenciji kardiovaskularnih bolesti. Medix 2002;43:29–30.
14. *Weber P, Raederstorff D.* Triglyceride-lowering effect of omega-3 LC-polyunsaturated fatty acids – a review. Nutr Metab Cardiovasc Dis 2000;10:28–37.
15. *Lu G, Windsor SL, Harris WS.* Omega-3 fatty acids alter lipoprotein subfraction distributions and the in vitro conversion of very low density lipoproteins to low density lipoproteins. J Nutr Biochem 1999;10: 151–8.
16. *Haris WS.* n-3 fatty acids and the prevention of coronary atherosclerosis. Am J Clin Nutr 2000;71(1 Suppl.):224S-227S.
17. *Balk EM; Lichtenstein AH, Chang M, Kupelnich B, Chew P, Lan J.* Effects of omega-3 fatty acids on serum marker of cardiovascular disease risk: a systematic review. Atherosclerosis 2006;189:19–30.
18. *Harris WS.* N-3 fatty acids and serum lipoproteins: human studies. Am J Clin Nutr 1997;65:16455–545.
19. *Marcovina SM, Kennedy H, Bittolo Bon G, Cazzlato G, Valli C, Casiglia E.* Fish intake, independent of apo(a) size, accounts for lower plasma lipoprotein(a) levels in Bantu fishermen of Tanzania: The Lugalawa Study. Arterioscler Thromb Vasc Biol 1999;19:1250–6.
20. *Reiner Ž, Salzer B.* The effects of omega-3 fatty acids on serum lipoproteins and apoproteins in patients with hyperlipoproteinaemia. Period Biol 1993;95:484.
21. *Salzer B, Reiner Ž, Stavljenić A.* A hypolipemic effect of omega-3-fatty acids in type V hyperlipoproteinemia. IX European Congress of Clinical Chemistry. Cracow 1991;137.
22. *Durrington PN, Bhatnagar D, Mackness MI i sur.* An omega-3 polyunsaturated fatty acid concentrate administered for one year decreased triglycerides in simvastatin treated patients with coronary heart disease and persisting hypertriglyceridaemia. Heart 2001;85:544–8.
23. *McKenny JM, Sica D.* Role of prescription omega-3 fatty acids in the treatment of hypertriglyceridemia. Pharmacotherapy 2007;27:715–28.
24. *Morris MC, Sacks F, Rosner B.* Does fish oil lower blood pressure; A meta-analysis of controlled trials. Circulation 1993;88–523–33.
25. *Appel LJ, Miller ER 3d, Seidler AJ, Whelton PK.* Does supplementation od diet with »fish oil« reduce blood pressure? A meta-analysis of controlled clinical trials. Arch Intern Med 1993;153:1429–38.
26. *Lopez D, Orta X.* Upregulation of endothelial nitric oxide synthese in rat aorta after ingestion of fish oil-rich diet. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2004;287:H567–72.
27. *Das UN.* Long-chain polyunsaturated fatty acids interact with nitric oxide, superoxide anion, and transforming growth factor-beta to prevent human essential hypertension. Eur J Clin Nutr 2004;58:195–203.
28. *Wensing AG, Mensaink RP, Hornstra G.* Effects of dietary n-3 polyunsaturated fatty acids from plant and marine origin on platelet aggregation in healthy elderly subjects. Br J Nutr 1999;82:183–191.
29. *Mehta J, Laxson D, Saldeen T.* Reduction in plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) with omega-3 polyunsaturated fatty acid (PUFA) intake. Am Heart J 1998;116:1201–6.
30. *Calder PC.* Dietary modification of inflammation by lipids. Proc Nutr Soc 2002;61:345–58.
31. *Mori TA, Beilin LJ.* Omega-3 fatty acids and inflammation. Curr Atheroscler Rep 2004;6:461–7.
32. *Wallace JMW, Turley E, Gilmore WS, Strain JJ.* Dietary fish oil supplementation alters leukocyte function and cytokine production in healthy women. Arterioscler Thromb Vasc Biol 1995;15:185–9.
33. *Bauman KH, Hessel F, Larass I i sur.* Dietary ω-3, ω-6, and ω-9 unsaturated fatty acids and growth factor nad cytokine gene expression in unstimulated and stimulated monocytes. Arterioscler Thromb Vasc Biol 1999;19:59–66.
34. *Pakala R, Benedict C.* Eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid selectively attenuate U46619-induced smooth muscle cell proliferation. Lipids 1999;34:915–20.
35. *Johansen O, Seljeflot I, Hostmark AT, Arnesen H.* The effect of supplementation with omega-3 fatty acids on soluble markers of endothelial function in patients with coronary heart disease. Arterioscler Thromb Vasc Biol 1999;19:1681–6.
36. *Thies F, Garry JMC, Yaqoob P i sur.* Association of n-3 polyunsaturated fatty acids with stability of atherosclerotic plaques: a randomized controlled trial. Lancet 2003;361:477–85.
37. *Von Schachy C, Angerer P, Kothny W.* The effect od dietary omega-3-fatty acids on coronary atherosclerosis. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. Ann Intern Med 1999;130:554–62.
38. *Mita T, Watada H, Ogihara T i sur.* Eicosapentaenoic acid reduces the progression of carotid intima-media thickness in patients with type 2 diabetes. Atherosclerosis 2007;191:162–7.
39. *Leaf A, Jorgensen MB, Jacobs AK i sur.* Do fish oils prevent restenosis after coronary angioplasty? Circulation 1994;90:2248–57.
40. *Cairns JA, Gill J, Morton B i sur.* Fish oils and low-molecular-weight heparin for the reduction of restenosis after percutaneous transluminar coronary angioplasty. The EMPAR Study. Circulation 1996;90:1553–60.
41. *Mozaffarian D, Bryson CL, Lemaitre RN, Burke GL, Siscovick DS.* Fish intake and risk of heart failure. J Am Coll Cardiol 2005;45:2015–21.
42. *Gudbjarnason S, Hallgrimsson J.* The role of myocardial membrane lipids in the development of cardiac necrosis. Acta Med Scand 1976; 587:17–26.
43. *Leaf A, Kang JX, Xiao YF, Billmann G.* Clinical prevention of sudden cardiac death by n-3 polyunsaturated fatty acids and mechanism of prevention of arrhythmias by n-3 fish oils. Circulation 2003;107:2646–52.
44. *Matthau NR, Jordan H, Chung M, Lichtenstein AH, Lathrop DA, Lan J.* A systematic review and meta-analysis of the impact of omega-3 fatty acids on selected arrhythmia outcomes in animal models. Metabolism 2005;54:1557–65.
45. *Xiao Y-F, Gomez AM, Morgan JP i sur.* Suppression of voltage-gated L-type Ca2+ currents by polyunsaturated fatty acids in adult and neonatal rat cardiac myocytes. Proc Natl Acad Sci USA 1997;94:4182–7.

46. *Albert CM, Hennkens CH, O'Donnell CJ, Ajani UA, Carey VJ, Willett WC.* Fish consumption and risk of sudden cardiac death. JAMA 1998; 279:23–8.
47. *Leaf A, Kang JX, Xiao YF, Billmann GE, Voskuyl RA.* Experimental studies on antiarrhythmic and antiseizure effects of polyunsaturated fatty acids in excitable tissues. J Nutr Biochem 1999;10:440–8.
48. *Honore´ E, Barhanin J, Attali B i sur.* External blocade of the major cardiac delyed-rectifier K+ channel (Kv1.5) by polyunsaturated fatty acids. Proc Natl Acad Sci USA 1994;91:1937–44.
49. *Boriani G, Valzania C, Diemberger I.* Potential of non-antiarrhythmic drugs to provide an innovative upstream approach to the pharmacological prevention of sudden cardiac death. Expert Opin Invest Drug 2007; 16:605–23.
50. *Christiansen JH, Gustenhoff P, Koruo E i sur.* Effect of fish oil on heart rate variability in survivors of myocardial infarction: a double blind randomised controlled trial. Br Med J 1996:312:677–8.
51. *Marchioli R, Barzi F, Bomba E i sur.* Early protection against sudden death by n-3 polyunsaturated fatty acids after myocardial infarction: time-course analyses of the results of the Gruppo italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Infarto Miocardico (GISSI) – Prevenzione. Circulation 2002;105:1897–903.
52. *Mozaffarian D, Psaty BM, Rimm EB i sur.* Fish intake and risk of incident atrial fibrillation. Circulation 2004;110:368–73.
53. *Da Chunha DNQ, Hamlin RL, Billman GE, Carnes CA.* N-3 (omega-3) polyunsaturated fatty acids prevent acute atrial electrophysiological remodelling. Br J Pharmacol 2007;150:281–5.
54. *Calo L, Bianconi L, Colivicchi F i sur.* N-3 fatty acids for the prevention of atrial fibrillation after coronary artery bypass surgery: a randomized, controlled trial. J Am Coll Cardiol 2005;45:1723–8.
55. *Mozaffarian D, Geelen A, Brouwer IA, Geleijuse JM, Zock PL, Kafan MR.* Effect of fish oil on heart rate in humans: a meta-analyses of randomized controlled trials. Circulation 2005;112:1945–52.
56. *Tofl I, Bonaa KH, Ingebretsen OC, Nordoy A, Jensen T.* Effects of n-3 polyunsaturated fatty acids on glucose homeostasis and blood pressure in essential hypertension. Ann Intern Med 1995;123:911–8.
57. *Friedberg CE, Heine RJ, Jansen MJFM, Grobbee DE.* Fish oil and glycemic control in diabetes – a meta-analysis. Diabetes Care 1998; 21:494–500.
58. *Woodman RJ, Mori TA, Burke V, Puddley IB, Watts GF, Beilin LJ.* Effects of purified eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids on glycemic control, blood pressure, and serum lipids in type 2 diabetic patients with treated hypertension. Am J Clin Nutr 2002;76:1007–15.
59. *Connor WE, Prince MJ, Ullmann D i sur.* The hypotriglyceridemic effect of fish oil in adult-onset diabetes without adverse glucose control. Ann NY Acad Sci 1993;683:337–40.
60. *Farmer A, Montori V, Dinneen S, Clar C.* Fish oil in people with type 2 diabetes mellitus. Cochrane Database Syst Rev 2004;(1):CD003205.
61. *Ebbeson SO, Risica PM, Ebbeson LO, Kemish JM, Tejero ME.* Omega-3 fatty acids improve glucose tolerance and components of the metabolic syndrome in Alaskan Eskimos: the Alaska Siberria project. Int J Curcumpolar Health 2005;64:396–408.
62. *Diep QN, Touyz RM, Schiffrin EL.* Docosahexaenoic acid, a peroxisome proliferator-activated receptor-alpha ligand, induces apoptosis in vascular smooth muscle cells by stimulation od p38 mitogen-activated protein kinase. Hypertension 2000;36:851–5.
63. *Chambrier C, Bastard JP.* Eicosapentaenoic acid induces mRNA expression of peroxisome proliferator-activated receptor gamma. Obes Res 2002;10:518–25.
64. *Eritsland J, Arnesen H, Gronseth K, Fjeld NB, Abdelnoor M.* Effect of dietary supplementation with n-3 fatty acids on coronary artery bypass graft patency. Am J Cardiol 1996;77:31–6.
65. *Kris-Etherton PM, Harris WS, Appel LJ.* for the Nutrition Committee. Fish consumption, fish oil, omega-3 fatty acids, and cardiovascular Disease. Circulation 2002;106:2747–57.
66. *Van de Werf F, Ardissino D, Betriu A i sur.* Management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation. Eur Heart J 2003;24:28–66.
67. *Lamotte M, Annemans L, Kawalec P, Zoellner Y.* A multi-country health economic evaluation of highly concentrated n-3 polyunsaturated fatty acids in secondary prevention after myocardial infarction. Pharmacoeconomics 2006;24:783–95.
68. *Quilici S, McGuire M, Zoellner Y.* A cost-effectiveness analysis of n-3 PUFA (Omacor) treatment in post-MI patients. Int J Clin Pract 2006;60: 922–32.
69. *Brunton S, Collins N.* Differentiating prescription omega-3-acid ethyl esters (P-OM3) from dietary-supplement omega-3 fatty acids. Curr Med Res Opin 2007;23:1139–45.

IZVANBOLNIČKI METICILIN-REZISTENTNI *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* – MOLEKULARNA EVOLUCIJA, KARAKTERISTIKE I ZNAČENJE

COMMUNITY-ASSOCIATED METHICILLIN-RESISTANT *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* – MOLECULAR EVOLUTION, CHARACTERISTICS AND SIGNIFICANCE

ANA BUDIMIR, SMILJA KALENIĆ*

Deskriptori: Staphylococcus aureus – genetika, učinci lijeka, izolacija; Izvanbolničke infekcije – mikrobiologija, dijagnoza, epidemiologija; Stafilokokne infekcije – mikrobiologija, dijagnoza, epidemiologija; Rezistencija na meticilin – genetika; Bakterijski kromosomi – genetika; Molekularna evolucija

Sažetak. Meticilin-rezistentni *Staphylococcus aureus* (MRSA) važan je medicinski problem s kojim se bolnice suočavaju već desetljećima; njegova pojava u izvanbolničkoj sredini 90-ih godina prošlog stoljeća otvara, međutim, novo poglavlje i u izvanbolničkim infekcijama. Izvanbolnički MRSA razlikuje se od bolničkoga po genotipskim i fenotipskim osobinama. Tipično je za izvanbolničke MRSA da su osjetljivi na većinu nebetalaktamskih antibiotika. Uzrokuju infekcije u mlađih, prethodno zdravih ljudi, a najčešće su uzročnici teških infekcija kože i mekih tkiva, kao i teških, nekrotizirajućih pneumonija. Kromosomska kaseta, koja sadržava gen *mec*A odgovoran za rezistenciju na betalaktamske antibiotike (SCC*mec*), u

*** Klinički zavod za kliničku i molekularnu mikrobiologiju, KBC Zagreb** (dr. sc. Ana Budimir, dr. med.; prof. dr. sc. Smilja Kalenić, dr. med.)

Adresa za dopisivanje: Dr. sc. A. Budimir, Klinički zavod za kliničku i molekularnu mikrobiologiju, KBC Zagreb, Šalata 2, Zagreb, e-mail: abudimir@kbc-zagreb.hr

Primljeno 23. siječnja 2007., prihvaćeno 20. lipnja 2007.