

# Koštani metabolizam i trabekularna struktura kosti u bolesnika s opstrukcijskom apnejom tijekom spavanja

---

**Vilović, Marino**

**Doctoral thesis / Disertacija**

**2020**

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

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:171:344239>

*Rights / Prava:* [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-03-09**



*Repository / Repozitorij:*

[MEFST Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U SPLITU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**MARINO VILOVIĆ**

**KOŠTANI METABOLIZAM I TRABEKULARNA  
STRUKTURA KOSTI U BOLESNIKA S  
OPSTRUKCIJSKOM APNEJOM TIJEKOM SPAVANJA**

**DOKTORSKA DISERTACIJA**

**SPLIT, 2020.**

Ovaj rad je izrađen na Katedri za patofiziologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu.

**Voditelj rada:** doc. dr. sc. Joško Božić, dr. med.

## ZAHVALA

*Želim se zahvaliti svim suradnicima i kolegama koji su na bilo kakav način sudjelovali u ovom istraživanju, a osobito prof. Zoranu Đogašu, doc. Aneli Novak i doc. Danieli Šupe-Domić, bez kojih bi bila nemoguća provedba studije te prikupljanje i analiza podataka.*

*Takđer, hvala medicinskim sestrama u Centru za dijabetes KBC-a Split na pomoći pri uzorkovanju krvi svih ispitanika uključenih u studiju te svim djelatnicima Centra za medicinu spavanja Medicinskog fakulteta u Splitu i KBC-a Split koji su sudjelovali u cjelokupnoj obradi pacijenata s OSA-om.*

*Od srca zahvaljujem svom dragom mentoru i prijatelju doc. Jošku Božiću na svim pozitivnim kritikama, poticajima, i prijateljskim savjetima tijekom izrade ove disertacije, ali i tijekom mog čitavog rada na fakultetu.*

*Hvala mojim roditeljima, bratu i ostalim prijateljima na podršci.....*

*.....ali na kraju, ništa od ovog ne bi imalo smisla bez glavnih nadahnuća u mom životu – veliko hvala mojoj supruzi Tini na ljubavi i podršci, te kćerkama Eli i Tesi – vi ste mi inspiracija i pogon za dalje, i vama posvećujem ovu disertaciju.*

## SADRŽAJ

<b>1. UVOD</b> .....	<b>1</b>
1.1. Poremećaji disanja tijekom spavanja .....	2
1.2. Opstrukcijska apneja tijekom spavanja .....	3
1.2.1. Definicija i rizični čimbenici .....	3
1.2.2. Epidemiološke značajke .....	5
1.2.3. Klinička slika OSA-e.....	6
1.2.4. Dijagnostičke metode .....	7
1.2.5. Liječenje OSA-e .....	10
1.2.6. Komplikacije i popratne bolesti.....	11
1.3. Koštani metabolizam i osteoporoza .....	14
1.3.1. Građa kosti i fiziologija koštane pregradnje .....	14
1.3.2. Biomarkeri koštanog metabolizma .....	19
1.3.3. Osteoporoza.....	24
1.3.4. Indeks trabekularne kosti.....	28
1.4. Poremećaji koštanog metabolizma i OSA.....	32
1.4.1. Dosadašnje spoznaje.....	33
1.4.2. Klinička istraživanja.....	36
1.5. Matrix Gla protein.....	37
1.5.1. Matrix Gla protein i koštani metabolizam .....	39
<b>2. CILJEVI I HIPOTEZE ISTRAŽIVANJA</b> .....	<b>40</b>
<b>3. ISPITANICI I POSTUPCI</b> .....	<b>43</b>
3.1. Ispitanici .....	44
3.2. Postupci .....	46
3.2.1. Antropometrijska mjerenja .....	46
3.2.2. Dnevne navike .....	46
3.2.3. Polisomnografsko ispitivanje .....	47
3.2.4. Uzorkovanje krvi i laboratorijske analize.....	48
3.2.5. Parametri koštane strukture .....	49
3.3. Statistička analiza podataka .....	50
<b>4. REZULTATI</b> .....	<b>52</b>
4.1. Antropometrijski parametri i dnevne navike.....	53
4.2. Polisomnografski rezultati.....	55
4.3. Biokemijska analiza .....	56
4.4. Parametri koštane čvrstoće – DXA rezultati .....	58
4.5. Povezanost antropometrijskih, PSG, biokemijskih i DXA rezultata .....	59
4.5.1. Parametri spavanja i dp-ucMGP.....	59
4.5.2. Antropometrijski, DXA i biokemijski parametri i dp-ucMGP.....	60
4.5.3. TBS indeks i ostali parametri .....	60
4.5.4. AHI indeks i ostali parametri.....	62
4.6. Neovisni prediktori pozitivnog OSA statusa.....	64
4.7. ROC analiza dijagnostičkih testova .....	64
4.8. Analiza ispitivanih parametara OSA pacijenata prema ITM vrijednosti .....	65
<b>5. RASPRAVA</b> .....	<b>72</b>
<b>6. ZAKLJUČCI</b> .....	<b>81</b>
<b>7. SAŽETAK</b> .....	<b>84</b>
<b>8. SUMMARY</b> .....	<b>87</b>
<b>9. LITERATURA</b> .....	<b>90</b>
<b>10. ŽIVOTOPIS</b> .....	<b>119</b>
<b>11. PRIVITCI</b> .....	<b>123</b>

## POPIS OZNAKA I KRATICA

AASM – Američka akademija za medicinu spavanja (engl. *American Academy of Sleep Medicine*)

AHI – apneja/hipopneja indeks (engl. *Apnea-Hypopnea Index*)

B-ALP – koštani izoenzim alkalne fosfataze (engl. *Bone-Specific Alkaline Phosphatase*)

BMD – koštana mineralna gustoća (engl. *Bone Mineral Density*)

BMP – koštani morfogogenetski proteini (engl. *Bone Morphogenetic Proteins*)

BMU – temeljna višestanična jedinica (engl. *Basic Multicellular Unit*)

CLIA – imunokemijska kemiluminiscencija

CPAP – uređaj za potpomognuto disanje kontinuiranim pozitivnim tlakom u gornjim dišnim putovima (engl. *Continuous Positive Airway Pressure*)

CTX - C– terminalni telopeptid kolagena tipa I

DXA – dvo-energetska apsorpciometrija (engl. *Dual-Energy X-ray Absorptiometry*)

ECLIA – metoda elektrokemiluminiscencije (engl. *Electrochemiluminescent Immunoassay*)

ESRS – Europsko društvo za istraživanje spavanja (engl. *European Sleep Research Society*)

ESS – Epworthova ljestvica pospanosti (engl. *Epworth Sleepiness Scale*)

FGF – čimbenik rasta fibroblasta (engl. *Fibroblastic Growth Factor*)

HbA1c – glikirani hemoglobin A1c (engl. *Glycosylated Hemoglobin A1c*)

HIF – hipoksija inducibilni čimbenik (engl. *Hypoxia-Inducible Factor*)

HPA – hipotalamo hipofizno-nadbubrežna osovina (engl. *Hypothalamic–Pituitary–Adrenal Axis*)

HS-QCT – kvantitativna kompjuterizirana tomografija visoke rezolucije (engl. *High Resolution Quantitative Computed Tomography*)

IGF – inzulinu sličan čimbenik rasta (engl. *Insuline Like Growth Factor*)

IL – interleukini (engl. *Interleukins*)

IOF – Međunarodna Fondacija za Osteoporozu (engl. *International Osteoporosis Foundation*)

ITM – indeks tjelesne mase (engl. *Body Mass Index*)

MAD – uduga koje pomiče donju čeljust u prednji položaj (engl. *Mandibular Advancement Device*)

MAP – multivariabilni upitnik predikcije apneje (engl. *Multivariable Apnea Prediction Questionnaire*)

M-CSF – makrofagni činitelj stimulacije kolonija (engl. *Macrophage Colony-Stimulating Factor*)

NO – dušikov oksid (engl. *Nitric Oxide*)

OCST – izvanbolničko monitoriranje spavanja (engl. *Out of Center Sleep Testing*)

ODI – indeks desaturacije kisika (engl. *Oxygen Desaturation Index*)

OPG – osteoprotegerin (engl. *Osteoprotegerin*)

OSA – opstruktivska apneja tijekom spavanja (engl. *Obstructive Sleep Apnea*)

P1CP – C- terminalni propeptid kolagena tipa I (engl. *Procollagen Type I C-terminal Propeptide*)

P1NP – N- terminalni propeptid kolagena tipa I (engl. *Procollagen Type I N-terminal Propeptide*)

PDGF – trombocitni čimbenik rasta (engl. *Platelet Derived Growth Factor*)

PG – poligrafija (engl. *Polygraphy*)

PSG – polisomnografija (engl. *Polysomnography*)

PSQI – Pitsburški indeks kvalitete spavanja (engl. *Pittsburgh Sleep Quality Index*)

PTH – paratiroidni hormon (engl. *Parathyroid Hormone*)

QCT – kvantitativna kompjuterizirana tomografija (engl. *Quantitative Computed Tomography*)

QUS – kvantitativni ultrazvuk (engl. *Quantitative Ultrasound*)

RAAS – renin-angiotenzin-aldosteron sustav (engl. *Renin–Angiotensin–Aldosterone System*)

RANK – receptor aktivator jezgrinog čimbenika  $\kappa$ B (engl. *Receptor Activator of Nuclear Factor  $\kappa$ B*)

RANKL – ligand receptora aktivatora jezgrinog čimbenika  $\kappa$ B (engl. *Receptor Activator of Nuclear Factor  $\kappa$ B Ligand*)

RDI – indeks respiracijskih poremećaja (engl. *Respiratory Disturbance Indeks*)

REM – stadij brzih pokreta očiju (engl. *Rapid Eye Movement*)

RERA – buđenja povezana s respiratornim naporom (engl. *Respiratory Effort Related Arousal*)

SCN –suprahijazmatska jezgra (engl. *Suprachiasmatic Nucleus*)

STOP-BANG – akronim za; Hrkanje, Umor, Zamijećeni prestanci disanja, Povišeni arterijski tlak-Indeks tjelesne mase, Dob, Opseg vrata, Spol (engl. *Snoring, Tiredness, Observed apnea, Pressure- Body mass index, Age, Neck circumference, and Gender*)

SZO – Svjetska Zdravstvena Organizacija (engl. *World Health Organisation*)

TBS – indeks trabekularne kosti (engl. *Trabecular Bone Score*)

TGF-  $\beta$  – transformirajući čimbenik rasta- $\beta$  (engl. *Transforming Growth Factor-  $\beta$* )

TNF – tumor nekrotizirajući čimbenik (engl. *Tumor Necrosis Factor*)

TRACP – tartarat-rezistentna kisela fosfataza (engl. *Tartrate-Resistant Acid Phosphatase*)

TRD – podizač jezika (engl. *Tongue Retaining Device*)

UARS – sindrom povećanog otpora gornjeg dišnog puta (engl. *Upper Airway Resistance Syndrome*)

VEGF – vaskularni endotelni čimbenik rasta (engl. *Vascular Endothelial Growth Factor*)

WHR – omjer struka i bokova (engl. *Waist-To-Hip Ratio*)



## **1. UVOD**

## 1.1. Poremećaji disanja tijekom spavanja

Poremećaji disanja tijekom spavanja označavaju skupni pojam za kronična stanja karakterizirana patološkim obrascima disanja tijekom spavanja, koja rezultiraju umorom i smanjenom sposobnošću obavljanja dnevnih funkcija (1,2). Mogu se podijeliti u tri glavne skupine: sindrom apneje tijekom spavanja, sindrom hipoventilacije tijekom spavanja i sekundarni poremećaji disanja tijekom spavanja (**Tablica 1**).

**Tablica 1.** Klasifikacija poremećaja disanja tijekom spavanja

<b>SINDROM APNEJE TIJEKOM SPAVANJA</b>
Opstruktivska apneja tijekom spavanja
Centralna apneja tijekom spavanja
Cheyne-Stokesovo disanje
Periodično disanje na visinama
Apneja izazvana lijekovima (tzv. jatrogena apneja)
<b>SINDROM HIPOVENTILACIJE TIJEKOM SPAVANJA</b>
Hipoventilacija izazvana pretilošću
Hipoventilacija povezana s neuromišićnim bolestima
<b>SEKUNDARNI POREMEĆAJI DISANJA TIJEKOM SPAVANJA</b>
Kronična opstruktivna plućna bolest (KOPB)
Astma
Idiopatska plućna fibroza
Deformacije kralježnice

Prema: McNicholas WT. Sleep-related breathing disorders: 1. Nosological classification, definitions, epidemiology. U: Bassetti C, Dogas Z, Peigneux P, ur. Sleep Medicine Textbook. Regensburg: European Sleep Research Society; 2014:215-20.

Hrkanje je zasebni poremećaj tijekom spavanja koji ima znatnu učestalost u populaciji. Studije opisuju prevalenciju hrkanja od 9-50% muškaraca i 4-17% žena (2,3). Isto tako, hrkanje se povezuje i s povećanom pospanošću tijekom dana, a smatra se da je razlog u uskoj vezi sa sindromom povećanog otpora gornjeg dišnog puta (engl. *Upper Airway Resistance Syndrome, UARS*) (2,4,5). UARS je karakteriziran smanjenjem promjera gornjeg dišnog puta, povećanim inspiracijskim naporom uz buđenja, te prekomjernom dnevnom pospanošću, ali bez ispunjenja kriterija za opstruktivnu apneju tijekom spavanja (engl. *Obstructive Sleep Apnea, OSA*). Sukladno tome, ne postoji značajno smanjenje zasićenosti hemoglobina kisikom, te se smatra rizičnim čimbenikom i prijelaznim stanjem prije nastanka OSA-e (2,5-7).

## **1.2. Opstruktivna apneja tijekom spavanja**

### **1.2.1. Definicija i rizični čimbenici**

OSA predstavlja učestali, kronični poremećaj disanja tijekom spavanja koji je karakteriziran ponavljajućim epizodama djelomične (hipopneja) ili potpune (apneja) opstrukcije gornjih dišnih puteva unatoč prisutnim naporima respiracijske muskulature da uspostavi normalan protok zraka (2,8). Opstrukcije su uobičajeno praćene desaturacijom oksihemoglobina, te se prekidaju epizodama kratkih buđenja koja posljedično uzrokuju fragmentaciju normalnog tijeka spavanja i smanjuju količinu sporovalnog i REM (engl. *Rapid Eye Movement*) stadija spavanja (9,10). Pacijenti se najčešće prezentiraju glasnim hrkanjem, epizodama prestanka disanja tijekom spavanja, prekomjernom dnevnom pospanošću i umorom, te kroničnim nedostatkom energije (8,11).

Iako točan uzrok opstrukcije nije dovoljno poznat, u pacijenata s OSA-om često postoji narušenost ravnoteže anatomskih struktura orofarinksa i hipofarinksa, što dovodi do smanjene prohodnosti dišnog puta (12-14). Također, poremećena neuralna aktivacija mišića dilatatora gornjeg dišnog puta, mali volumen pluća, nakupljanje tekućine u gornjim dišnim putevima i

posljedični edem, te nestabilna respiracijska kontrola također uvelike predisponiraju nastanku poremećaja (11,15-17). Brojni su čimbenici uključeni u kompleksnu patofiziologiju nastanka OSA-e, ali jedan od najznačajnijih je zasigurno pretilost (18,19). Smatra se da nakupljanje masti u strukturama gornjeg dišnog puta poput uvule, jezika i mekog nepca, dodatno sužavaju njegov promjer i onemogućavaju normalno disanje tijekom spavanja (20,21). Samim time, pacijenti s OSA-om tipično imaju veći opseg vrata kao posljedicu deponiranja masti, te istraživanja pokazuju da je opseg vrata bolji prediktor nastanka OSA-e od indeksa tjelesne mase (ITM) (22). Važnost tjelesne mase kao rizičnog čimbenika za nastanak OSA-e potvrđuje i podatak koji govori da povećanje tjelesne mase od 10% povećava rizik za OSA-u šest puta (23).

Prevalencija OSA-e linearno raste s dobi do razdoblja između 60 i 65 godina, nakon čega slijedi plato, s konačnim 2-3 puta većim rizikom za nastanak OSA-e u populaciji od 65 godina u odnosu na osobe srednje dobi (24-27). Isto tako, brojne studije su istakle muški spol kao dodatni čimbenik rizika za nastanak bolesti, te omjer dijagnosticirane OSA-e od 2:1 naspram ženskog spola u općoj populaciji (25). Iako još nisu do kraja poznati točni razlozi takvog omjera, važnu ulogu u tome ima predispozicija za faringealni kolaps koja se razlikuje ovisno o spolu, centralni respiracijski poticaj, te razlike u koncentracijama spolnih hormona (28,29). Pokazalo se da androgeni potiču kolabiranje gornjeg dišnog puta, dok progesteron utječe na snažniji ventilacijski odgovor na opstrukciju (2,30). Sukladno tome, OSA je učestalija u žena postmenopauzalne dobi, iako se čak i sama trudnoća pokazala rizikom za smanjeni protok zraka u gornjim dišnim putevima (31,32). Cjelokupno gledajući, OSA u žena češće je prezentirana atipičnim simptomima, poput depresije i nesаницe, te imaju lošiju prognozu u odnosu na muškarce (25,33).

U brojne rizične čimbenike koji povećavaju predispoziciju nastanka OSA-e spadaju i genetske predispozicije, pušenje, konzumacija alkohola, uzimanje sedirajućih lijekova,

kraniofacijalne malformacije, nazalna kongestija, etnička pripadnost, arterijska hipertenzija, srčano zatajenje, Marfanov sindrom, akromegalija, hipotireoza, neurološki poremećaji i kronično zatajenje bubrega (8,11,34,35).

### **1.2.2. Epidemiološke značajke**

Iako procjena učestalosti OSA-e ovisi o dijagnostičkim kriterijima, etničkoj pripadnosti, dobi, te ostalim specifičnim značajkama promatrane populacije, ukupna prevalencija bolesti je u značajnom porastu (36). Prva studija koja je procijenila prevalenciju OSA-e bila je *Wisconsin Sleep Cohort Study* Young i sur. iz 1993. godine u kojoj je OSA utvrđena u 4% muškaraca i 2% žena srednje dobi (37). Daljnja istraživanja koja su uslijedila potvrdila su inicijalne rezultate (38,39), ali se posljednjih godina prevalencija znatno povećala. Tako su Peppard i sur. u razdoblju od 2007. do 2010. godine utvrdili da 14% muškaraca i 5% žena ispunjavaju minimalne kriterije za dijagnozu OSA-e (36), dok je recentno kohortno istraživanje *HypnoLaus*, napravljeno na uzorku od 3043 ispitanika iz opće populacije, pokazalo da čak 49,7% muškaraca i 23,4% žena ima OSA-u, potvrđenu cjelonoćnim polisomnografskim ispitivanjem (40). Veliki porast prevalencije OSA-e u društvu se najviše pripisuje produljenju životnog vijeka, ali i sve većoj svjetskoj epidemiji prekomjerne tjelesne mase i pretilosti (41). Pokazalo se da zemlje s najvišim stopama pretilosti isto tako imaju i najveću prevalenciju OSA-e, te se zbog toga pretpostavlja nastavak istog trenda i u budućnosti (42,43). Važno je napomenuti da unatoč visokoj prevalenciji i razvoju novih tehnika za dijagnozu OSA-e, u velikog broja pacijenata ona ostaje neprepoznata, i to posebice u ženskoj populaciji (25).

### 1.2.3. *Klinička slika OSA-e*

Najčešći noćni simptomi koje pacijenti s OSA-om razviju su glasno hrkanje tijekom spavanja, te epizode zamijećenih prestanaka disanja od strane ukućana koji su praćeni respiracijskim naporima, gušenjem, dahtanjem, buđenjem, znojenjem, hiperventilacijom i pomicanjem tijela (8,11,44). Ipak, treba imati na umu da točan udio osoba koje hrču s dijagnosticiranom OSA-om pokazuje značajnu varijabilnost, te da zbog visoke osjetljivosti, ali niske specifičnosti, smanjuje vjerojatnost pozitivne dijagnoze OSA-e u osoba koje ne hrču (44).

Izuzev noćnih simptoma, OSA pacijenti tijekom vremena razviju i spektar dnevnih posljedica, od čega je najznačajnija i najčešća prekomjerna pospanost tijekom dnevnih aktivnosti (8,11,45). Često se može i predvidjeti zbog polaganog i kroničnog tijeka, a pacijenti opisuju izrazit dnevni umor, nisku razinu energije i slabo fokusiranje na dnevne zadatke (8,11). Pospanost se javlja kao posljedica poremećene arhitekture spavanja i čestih buđenja, te su pacijenti zbog toga podložni i usporenju cjelokupnih kognitivnih funkcija i produljenju vremena reakcije. (9,45). Samim time, pacijenti s OSA-om imaju povećani rizik za nastanak prometnih nesreća i profesionalnih nesreća na radu (46-48). Nadalje, popratni simptomi OSA-e mogu uključivati i jutarnje, stežuće, bifrontalne glavobolje, grlobolju, nikturiju, promjene raspoloženja, poremećaje spolnih funkcija te depresiju (44,49,50). Simptomi su zajednički za oba spola, iako žene češće pate od jutarnjih glavobolja, nesanice i popratne depresije u odnosu na muškarce (33).

### **1.2.4. Dijagnostičke metode**

#### **1.2.4.1. Anamneza i klinički pregled**

Kvalitetna anamneza je ključan prvi korak u dijagnozi OSA-e, a mora obuhvaćati detaljan razgovor o svim simptomima i tegobama, pojavi poremećaja disanja tijekom spavanja u obitelji, te podatke o ostalim popratnim bolestima i korištenju lijekova. Važan segment ispitivanja je i heteroanamneza ukućana, najčešće bračnih supružnika, koji mogu detaljnije navesti i opisati noćne tegobe pacijenata, kao što su prestanak disanja, respiracijski napor i hrkanje (51).

Klinički pregled se najčešće sastoji od prikupljanja antropometrijskih mjera (tjelesna masa i visina, opseg struka, vrata i bokova), te mjerenja arterijskog tlaka. Posebnu važnost može imati i pregled otorinolaringologa, budući da se u pacijenata s OSA-om može pronaći povećanje mekih struktura orofarinksa, te se mogu primijetiti neke od anatomskih nepravilnosti ili tvorbi poput nosnih polipa i hipertrofičnih adenoidnih vegetacija, koje mogu zahtijevati i kirurško liječenje (8,14,51).

#### **1.2.4.2. Upitnici za probir**

Zbog visoke učestalosti bolesti i važnosti pravovaljane dijagnoze, razvijeno je nekoliko različitih validiranih upitnika koji se mogu koristiti kao metoda kojom se može probirati populacija s najvećom vjerojatnosti i rizikom obolijevanja od OSA-e. Upitnici se mogu koristiti kao nadopuna anamnezi i kliničkom pregledu, a studije su pokazale da imaju najveću vrijednost u onoj populaciji koja je već iskusila neke od simptoma poremećaja disanja tijekom spavanja (52).

Među najčešće korištene upitnike za procjenu rizika za razvoj OSA-e spadaju STOP, te njegova proširena inačica, STOP-BANG upitnik (engl. *The Snoring, Tiredness, Observed apnea, high blood Pressure-Body mass index, Age, Neck circumference, and Gender*,

STOP-BANG) (52-55). Ukoliko ga uspoređujemo s ostalim korištenim upitnicima, STOP-BANG postiže najbolje dijagnostičke performanse, te se preporučava upotrebljavati u svakodnevnoj kliničkoj praksi. Nadalje, upitnik nam može pružiti informacije o rizičnim ispitanicima koje je uputno proslijediti na daljnju obradu i definitivno dijagnosticiranje OSA-e (52-55).

Upitnik koji se također koristi u svakodnevnoj kliničkoj praksi je i Epworthova ljestvica pospanosti (engl. *Epworth Sleepiness Scale, ESS*), koja procjenjuje razinu prekomjerne pospanosti u uobičajenim dnevnim situacijama, koja je najčešći prateći simptom OSA-e. Tako je pacijente s povećanim stupnjem dnevne pospanosti uputno poslati na daljnju dijagnostiku (55-57).

Ostali upitnici za probir pacijenata koji se isto tako mogu koristiti u kliničkoj praksi su i Pitsburški indeks kvalitete spavanja (engl. *Pittsburgh Sleep Quality Index, PSQI*), SACS zbroj (engl. *Sleep Apnea Clinical Score, SACS*), Berlinski upitnik, te MAP upitnik (engl. *Multivariable Apnea Prediction Questionnaire, MAP*) (55,58-60).

#### 1.2.4.3. Cjelonoćna polisomnografija

Cjelonoćna laboratorijska polisomnografija (PSG) predstavlja zlatni standard u dijagnostici poremećaja disanja tijekom spavanja. Sastoji se od mjerenja višestrukih fizioloških funkcija tijekom spavanja i biosignala uz video nadzor. Tako je u PSG uključeno: elektroencefalografija (EEG), elektrookulografija (EOG), elektrokardiografija (EKG), elektromiografija (EMG) mišića donje čeljusti i goljeničnog mišića, mjerenje protoka zraka kroz nos, pulsna oksimetrija, praćenje pokreta abdomena i prsnog koša te jačina i trajanje hrkanja (61). Analizom prikupljenih podataka određuju se parametri koji su važni pri dijagnozi bolesti, kao što su epizode opstruktivske, centralne ili mješovite apneje, epizode hipopneje, te



buđenja povezana s respiracijskim naporom (engl. *Respiratory Effort Related Arousals, RERA*) (62,63).

Prema definiciji, apneja označava potpuni prestanak protoka zraka kroz dišne putove u trajanju od najmanje 10 s, dok hipopneja označava smanjenje protoka zraka za  $\geq 30\%$  u trajanju od minimalno 10 s, uz prateće buđenje i/ili smanjenje saturacije arterijske krvi kisikom ( $\text{SpO}_2$ ) za  $\geq 3\%$ . RERA označava respiracijske epizode u trajanju od najmanje 10 s koje su povezane s povećanim respiracijskim naporom i buđenjem, ali ne zadovoljavaju kriterije apneje niti hipopneje (62,63). Osnovni polisomnografski kriterij prema kojem se definira konačna dijagnoza i stupanj težine OSA-e je apneja-hipopneja indeks (engl. *Apnea-Hypopnea Index, AHI*). AHI indeks označava zbroj epizoda apneje i hipopneje, podijeljenih prema pojedinom satu spavanja (epizode/sat). Prema tome, dijagnoza OSA-e u asimptomatskoj odrasloj populaciji bez komorbiditeta vezanih uz OSA-u je postavljena ukoliko je  $\text{AHI} \geq 15$  epizoda/sat, ili u populaciji s izraženim simptomima ili komorbiditetima ukoliko je  $\text{AHI} \geq 5$  epizoda/sat. Nadalje, prema AHI indeksu, OSA se može podijeliti u 3 različita stupnja bolesti. Tako blaga OSA označava  $\text{AHI} \geq 5-14,9$  epizoda/sat, umjerena OSA  $\text{AHI} \geq 15-29,9$  epizoda/sat, a teška OSA  $\text{AHI} \geq 30$  epizoda/sat (64,65). Izuzev AHI indeksa kao osnovnog alata za stupnjevanje OSA-e, u kliničkim ispitivanjima i kliničkoj praksi koristi se i indeks respiracijskih poremećaja (engl. *Respiratory Disturbance Index, RDI*), koji pri izračunu uz epizode apneje i hipopneje uzima u obzir i RERA događaje prema satu spavanja. Prema RDI indeksu OSA se istovjetno može podijeliti na tri različita stupnja težine bolesti (64,65).

Kao alternativa PSG ispitivanju u dijagnosticiranju OSA-e, može se koristiti respiracijska poligrafija (PG), koja ne uključuje određene neurofiziološke i kardiopulmonalne varijable, te stoga ne spada u zlatni standard dijagnostike (66). Nadalje, u kliničkoj praksi se koristi i izvanbolničko monitoriranje spavanja (engl. *Out of Center Sleep Testing, OCST*), koje PSG kriterije vrednuje prema satu monitoriranja (67), te polunoćna polisomnografija, koja u

prvom ciklusu spavanja postavi dijagnozu OSA-e putem PSG snimanja, a u drugoj polovici spavanja provodi terapiju kontinuiranim pozitivnim tlakom zraka (engl. *Continuous Positive Airway Pressure, CPAP*) (68). U novije, dostupnije, jednostavnije i jeftinije metode dijagnoze OSA-e spada prijenosno monitoriranje, u kojima se koriste uređaji za kućnu uporabu koji na jednostavniji način mogu postaviti dijagnozu (69,70).

### **1.2.5. Liječenje OSA-e**

U liječenju OSA-e se može koristiti nekoliko različitih metoda, ali su često prvi korak u slučajevima blaže bolesti higijensko-dijetetske mjere koje uključuju promjenu životnog stila, povećanje tjelesne aktivnosti, gubitak na tjelesnoj masi, njegovanje higijene spavanja, te izbjegavanje konzumacije alkohola i lijekova koji djeluju kao miorelaksansi (71,72).

Ostali modaliteti liječenja uključuju položajnu terapiju, koja može biti učinkovita ukoliko se zastoj disanja javlja pretežito u položaju spavanja na leđima, te se za izbjegavanje tog položaja mogu koristiti različita pomagala i jastuci (73). Kirurški zahvati u liječenju OSA-e obuhvaćaju ispravljanje anatomskih nepravilnosti mekog ili koštanog tkiva u području gornjeg dišnog puta, a mogu se koristiti i kao svojevrsna priprema za konzervativno liječenje (74). Nadalje, metoda liječenja intraoralnim udlagama sve više se koristi, a uključuje udlage koje podižu donju čeljust (engl. *Mandibular Advancement Devices, MAD*) i one koje podižu jezik u odgovarajući položaj (engl. *Tongue Retaining Devices, TRD*) (75-77). Terapija udlagama se preporučuje u pacijenata koji su iskusili nuspojave ili su imali lošu suradljivost u korištenju CPAP uređaja, zlatnog standarda u liječenju OSA-e (78,79).

Istraživanja su potvrdila da je CPAP terapija najučinkovitiji način liječenja OSA-e, te da smanjuje sve dnevne i noćne simptome bolesti. CPAP radi na principu kontinuiranog isporučivanja pozitivnog tlaka zraka tijekom korištenja putem različitih vrsta maski, te na takav način sprječava kolaps gornjih dišnih putova i osigurava njihovu prohodnost. Također,

liječenje CPAP uređajem poboljšava kardiometaboličke i neurokognitivne funkcije pacijenata, normalizira poremećenu arhitekturu spavanja, i preporučuje se kao prva linija liječenja u pacijenata s umjerenom i teškom OSA-om (51,78,79). Glavni problemi u korištenju ovog uređaja su nesuradljivost pacijenata, a prema smjernicama ga je uputno koristiti što dulje tijekom spavanja svake noći, ali najmanje u vremenskom periodu od 4 sata (78,79).

### **1.2.6. Komplikacije i popratne bolesti**

OSA je patofiziološki povezana s mnogim komplikacijama i pratećim bolestima, ali ipak uz razmjerne individualne varijacije i ovisnost o stupnju i duljini trajanja bolesti (32). Velike promjene intratorakalnog tlaka, intermitentna hipoksija, fragmentacija spavanja i kortikalna mikro-buđenja pokreću čitavu kaskadu patofizioloških mehanizama koji uzrokuju sistavne kardiometaboličke i neurokognitivne poremećaje (8,11).

OSA je u dosadašnjim studijama povezana s povećanim rizikom za nastanak brojnih kardiovaskularnih komplikacija, od čega su najznačajniji hipertenzija, srčana ishemija, cerebrovaskularni inzult, aritmije, te srčano zatajenje (80-84). Središnju ulogu u razvoju neželjenih vaskularnih ishoda ima endotelna disfunkcija, povećana aktivnost simpatičkog živčanog sustava, oksidacijski stres i sistemska upala (8,11,85-87). Naime, ciklički obrasci hipoksije dovode do stvaranja kisikovih radikala, smanjenja dostupnosti dušikovog oksida (engl. *Nitric Oxide*, *NO*) te prokoagulacijskog učinka, što u kombinaciji s aktivacijom sustavnog upalnog odgovora uzrokuje povećanu krutost arterija, ubrzani razvoj aterosklerotskih plakova i visoki kardiovaskularni morbiditet i mortalitet (82,88-90). Prema dosadašnjim istraživanjima, smatra se da je prevalencija arterijske hipertenzije u pacijenata s OSA-om između 36,5% i 53,6%, a izuzev povećane simpatičke aktivnosti i endotelne disfunkcije, u mehanizme nastanka ubrajaju se i povećane razine endotelina-1, hiperaktivacija renin-angiotenzin-aldosteron sustava (RAAS), hiperleptinemija i hiperinzulinemija (91,92).

Od ostalih kardiovaskularnih posljedica, akutni učinci OSA-e povezuju se i s padom sistoličke funkcije lijeve i desne klijetke, te visokim rizikom od razvoja atrijske fibrilacije i ostalih poremećaja srčanog ritma, poput atrioventrikularnih blokova, ventrikularnih ekstrasistola i ventrikularnih tahikardija (83).

Brojna provedena istraživanja pokazala su nedvojbenu povezanost metaboličko-endokrine disfunkcije i OSA-e. Tako su OSA i intermitentna hipoksija značajno povezani sa nastankom inzulinske rezistencije, intolerancije glukoze i razvoja šećerne bolesti tipa 2, dok pacijenti sa šećernom bolesti imaju lošiju glikemijsku regulaciju ukoliko imaju pridruženu i OSA-u (93,94). Također, težina OSA-e, procijenjena AHI indeksom, povezana je s incidencijom šećerne bolesti, te s vrijednosti gliciranog hemoglobina A1c (HbA1c), jednim od najvažnijih pokazatelja regulacije glukoze (93,94). Smatra se da prevalencija OSA-e u pacijenata sa šećernom bolesti iznosi čak do 75%, što dodatno govori o važnosti tih pridruženih bolesti, te važnosti pravovremenog probira (93-95). Izuzev poremećaja glikemijskih vrijednosti, studije su pokazale da pacijenti s OSA-om imaju i značajno više vrijednosti triglicerida, te izravnu povezanost s razvojem metaboličkog sindroma, zbog čega neki autori OSA-u smatraju kao njegovu integralnu sastavnicu (96).

Ono što dodatno pogoršava cjelokupnu metaboličku homeostazu u pacijenata s OSA-om je i razvoj općeg upalnog odgovora, te modulacijski učinak na autonomni živčani sustav i hipotalamo-hipofizno-nadbubrežnu osovinu (engl. *Hypothalamic–Pituitary–Adrenal Axis, HPA*). Poremećaj HPA osovine dovodi do patoloških obrazaca lučenja kortizola koji mogu negativno utjecati na glikemijske vrijednosti, ali i na niz ostalih neuroendokrinih komplikacija (97,98). Nadalje, poremećaj HPA osovine utječe na povećano lučenje proupalnih citokina, ali i na povećano oslobađanje adipokina, od kojih važnu ulogu u održavanju proupalnog stanja i poboljšanju inzulinske osjetljivosti ima leptin. Zbog navedenih učinaka,

leptin se smatra važnim biomarkerom u patofiziologiji i liječenju poremećaja spavanja, poglavito kao marker učinkovitosti CPAP terapije (99,100).

OSA kao klinički entitet povezana je i s cijelim nizom dodatnih poremećaja, uključujući hipotireozu, akromegaliju, pulmonalnu fibrozu, cerebrovaskularne bolesti, gastroezofagealni refluks, nealkoholnu masnu bolest jetre, višu stopu perioperativnih komplikacija, te depresiju (34,101-103). Osobe kojima je postavljena dijagnoza OSA-e imaju isto tako lošije neurokognitivne funkcije, poremećaje pamćenja, učenja, pozornosti te izvršnih funkcija, u usporedbi s općom populacijom (104,105). Cjelokupno gledajući, pacijenti s OSA-om imaju smanjenu ukupnu kvalitetu života, te, prema studiji Young i sur., povećanje rizika od smrtnog ishoda od svih uzroka u usporedbi sa zdravom populacijom 3,8 puta (106).

U posljednje vrijeme, neka od najnovijih istraživanja su pružila dokaze o povezanosti OSA-e i poremećaja koštanog metabolizma, ali s dosta varijabilnosti u objavljenim rezultatima. Točna patofiziologija utjecaja OSA-e na koštani metabolizam i potencijalni razvoj osteoporoze još uvijek je nedovoljno razjašnjena.

### 1.3. Koštani metabolizam i osteoporoza

#### 1.3.1. Građa kosti i fiziologija koštane pregradnje

##### 1.3.1.1. Građa koštanog tkiva

Kostur čovjeka predstavlja vitalno, dinamično, visoko specijalizirano potporno tkivo s jedinstvenim strukturnim i mehaničkim svojstvima koje pružaju strukturnu podršku tijelu, određuje veličinu i oblik tijela, sudjeluje u pokretanju tijela u prostoru, te štiti unutarnje organe, tjelesne šupljine i koštanu srž. Također, kostur je mineralizirana struktura koja se sastoji od različitih stanica, krvnih žila, i kristala, te služi kao rezervoar i važan čimbenik homeostaze iona kalcija i fosfata (107,108). Odrasli, zdravi kostur sastoji se od dvije različite forme koštane tvari koje se razlikuju u histološkoj građi: spužvasta koštana tvar i kompaktna koštana tvar. Iako su makroskopski i mikroskopski različiti, oba tipa kosti identična su u njihovoj kemijskoj strukturi (109).

Kompaktna koštana tvar prekriva površinu svih kostiju, te se zbog toga još naziva i kortikalni tip kosti. Sačinjava 80 % kostura čovjeka, te je gusta, kompaktna, ima nizak stupanj pregradnje i visoku otpornost na torziju i krvarenje. Koštano tkivo je položeno koncentrično oko središnje mikroskopske strukture kosti, Haversovih sustava, koji sadrže krvne žile, limfno tkivo, živce i vezivno tkivo. Kortikalna kost ne sadrži šupljine ispunjene koštanom srži, većina nje je kalcificirana i pruža mehaničku snagu i zaštitu, te može poslužiti u metaboličkom odgovoru ukoliko postoji mineralni deficit u organizmu (107,110).

Spužvasta koštana tvar oblikuje koštane gredice (trabekule) različitih dimenzija između kojih se nalazi hematopoetsko tkivo koštane srži, te se zbog toga naziva još i trabekularni tip kosti. Nalazi se uglavnom na okrajcima dugih kostiju i u unutarnjim dijelovima zdjelice i pločastih kostiju. Iako predstavlja 20% ukupne mase kostura, zbog specifičnosti rasporeda koštanih gredica ima višestruko veći omjer ukupne površine s obzirom na sami volumen kosti (107,110-112). Izuzev sadržaja hematopoetskog tkiva, trabekularna kost razlikuje od

kortikalne i prema tome što ima veći elasticitet, ima viši stupanj koštane pregradnje, te veću metaboličku funkciju. Ipak, ne smije se zanemariti veliki doprinos trabekularne kosti i na mehaničku potporu i kvalitetu koštanog tkiva, posebice u kostima kao što su kralješci (112).

### *1.3.1.2. Strukturne komponente kosti*

Strukturne komponente kosti uključuju ekstracelularni koštani matriks, te kolagenska vlakna i stanice. Koštani matriks se sastoji od organskog dijela (30-40%), anorganskog ili mineralnog dijela (60-70%) i vode. Anorganski dio građen je uglavnom od kalcijeva fosfata u obliku kristala hidroksiapatita i čini više od 95% anorganskog dijela matriksa, dok ostatak čine karbonatne, kloridne, fluoridne soli magnezija, natrija i ostalih metala. Organski dio građen je pretežito od kolagena tipa I (90%), proteoglikana, glikoproteina, i ostalih ne-kolagenih proteina poput osteokalcina, koštanog sijaloproteina, osteonektina i osteopontina (111,113). Kristali hidroksiapatita daju rigidnost i čvrstoću kolagenu budući da su smješteni na kolagenim vlaknima, te između i paralelno s njima. Iako uloga svih komponenti matriksa nije do kraja razjašnjena, danas je ipak poznato sudjelovanje brojnih proteina u diferencijaciji i proliferaciji stanica koštanog sustava, te u apoptozi i koštanom modeliranju (109,114). Uz prisutnost brojnih proteina, koštani matriks također sadrži čimbenike rasta i citokine koji imaju važnu ulogu u lokalnom signaliziranju između stanica i koštanoj pregradnji (115,116).

Koštane stanice koje se mogu naći u koštanom tkivu su osteoblasti, osteociti i osteoklasti. Međutim, blizina koštane srži dovodi do izlaganja kosti utjecaju ostalih stanica koje mogu imati važne uloge u stvaranju osteogeničnih stanica i u regulaciji koštane pregradnje (117). Osteoblasti su stanice odgovorne za proizvodnju, odlaganje i mineralizaciju komponenti koštanog matriksa. Nalaze se na površinama koštanih gredica posloženi u nizovima, a podrijetlo vežu iz pluripotentnih mezenhimalnih matičnih stanica koje imaju mogućnost diferencijacije i u hondroците, adipocite, mioblaste i fibroblaste (111,117). Izgradnja kosti

započinje stvaranjem kolagena tipa I, a nastavlja se stvaranjem i sazrijevanjem ostalog dijela koštanog matriksa, te njegove mineralizacije. Navedeni procesi se u zdravom, odraslom organizmu odvijaju otprilike jednakom brzinom, tako da se uspostavlja ravnoteža između stvaranja i mineralizacije matriksa (109,118). Brojni čimbenici i citokini sudjeluju u normalnoj funkciji osteoblasta djelujući na autokrini i parakrini način, a uključuju inzulinu sličan činitelj rasta (engl. *Insuline Like Growth Factor, IGF*), trombocitni čimbenik rasta (engl. *Platelet-Derived Growth Factor, PDGF*), čimbenik rasta fibroblasta (engl. *Fibroblastic Growth Factor, FGF*), koštane morfogenetske proteine (engl. *Bone Morphogenetic Proteins, BMPs*), transformirajući čimbenik rasta- $\beta$  (engl. *Transforming Growth Factor- $\beta$ , TGF- $\beta$* ), glukokortikoide, te 1,25 dihidroksi vitamin D. Osteoblasti također imaju receptore i za paratireoidni hormon (PTH), hormone štitnjače, inzulin, prolaktin te za spolne hormone (118-121). Nadalje, osteoblasti proizvode brojne produkte, od kojih su neki od njih važni pokazatelji osteoblastične aktivnosti, poput alkalne fosfataze, kolagena tipa I, te osteokalcina (107,119,122). Na samom kraju proizvodnje koštanog matriksa, oko 15% osteoblasta se ukopava u njega, te diferencira u osteocite (109).

Osteociti su najbrojnije stanice koštanog tkiva, te imaju ključnu ulogu u registriranju mehaničkih promjena u koštanom tkivu, pri čemu se regulira aktivnost osteoblasta i osteoklasta u procesima koštane pregradnje. Povezani su međusobno, kao i s ostalim stanicama i koštanim matriksom mrežom malih kanalića koji sadrže koštanu ekstracelularnu tekućinu (123).

Osteoklasti su velike stanice s multiplim jezgrama, bogate lizosomskim enzimima, čija je glavna biološka uloga razgradnja koštanog tkiva. Glavni čimbenici koji reguliraju diferencijaciju osteoklasta su receptor aktivator jezgrinog čimbenika  $\kappa B$  (engl. *Receptor Activator of Nuclear Factor  $\kappa B$ , RANK*), ligand receptora aktivatora jezgrinog čimbenika  $\kappa B$  (engl. *Receptor Activator Of Nuclear Factor  $\kappa B$  Ligand, RANKL*), makrofagni činitelj stimulacije kolonija (engl. *Macrophage Colony-Stimulating Factor, M-CSF*) i osteoprotegerin



(OPG) (124,125). Također, osteoblasti su važni regulatori osteoklastične aktivnosti, i to humoralnim putem stvarajući RANKL koji se veže na RANK na membrani prekursora osteoklasta, i na takav način aktivirajući njegovu resorpcijsku aktivnost. Osteoblasti također stvaraju i OPG, čija je uloga sprječavanje interakcije RANK-a i RANKL-a (125,126). Osteoklasti su isto tako pokazali i interakciju s osteocitima, budući da se mogu aktivirati humoralnim putem preko estrogena i TGF- $\beta$  (127), dok oštećenje osteocita potiče aktivnost osteoklasta u blizini lezije (128).

### 1.3.1.3. Koštana pregradnja

Koštane strukture predstavljaju izrazito aktivno tkivo koje je konstantno u procesu remodeliranja tijekom cijelog života. Na takav se način odgovara na mehaničke i metaboličke zahtjeve organizma, te se aktiviranjem osteoblasta i osteoklasta odvija cijeljenje fizioloških mikroskopskih koštanih oštećenja, ali i nastalih fraktura pri čemu novostvorena kost preuzima mehaničko opterećenje (107,109). Remodeliranje kosti predstavlja prilagodbu koštane morfologije novim biomehaničkim okolnostima tijekom života, pri čemu ukupna koštana masa ostaje ista. U zdravoj, odrasloj kosti, procesi koštane resorpcije i izgradnje su usklađeni u istom prostoru i vremenu u obliku temeljne višestanične jedinice (engl. *Basic Multicellular Unit, BMU*), a koštana resorpcija uvijek prethodi izgradnji i povećanoj aktivnosti osteoblasta (109,111,126). U jednom ciklusu remodeliranja, najviše vremena traje postupak stvaranja nove kosti, koji može potrajati i preko 4 mjeseca, dok postupak resorpcije traje najviše 2 tjedna. Na godišnjoj razini, oko 3 % kortikalne kosti je u procesu remodelacije, dok trabekularna kost ima znatno višu stopu pregradnje uslijed veće površine u odnosu na volumen, te iznosi oko 25 % (107,109,112).

Tijekom starenja može doći do poremećaja procesa remodeliranja, pri čemu ukupan broj aktivnih jedinica pregradnje može biti povećan, te uslijed toga veća površina kosti će biti

u procesu resorpcije. Isto tako, može doći do poremećaja u odnosu resorpcije i izgradnje, pri čemu će se stvoriti manja količina koštanog tkiva (129). Tako primjerice trabekularna kost uslijed navedenih alteracija može odgovoriti stanjivanjem koštanih pregrada, što je karakteristično za muškarce i nizak stupanj koštane pregradnje, dok se trabekularne perforacije i erozije povezuju s visokim stupnjem koštane pregradnje, te su češće u žena. U konačnici, stanjivanje trabekula je vezano uz bolje održavanje koštane arhitekture i manji utjecaj na snagu i izdržljivost kosti (111,130).

Proces koštane pregradnje je kompleksno reguliran putem sistemskih hormona, mehaničkih poticaja i lokalno stvorenih citokina i čimbenika rasta. PTH je najvažniji hormon u homeostazi kalcija i fosfata, te ima snažan utjecaj na proces koštane resorpcije i oslobađanja kalcija u krvotok. Također, odgovoran je i za aktivaciju 1,25 dihidroksi vitamina D (kalcitriol) u bubrezima, hormona esencijalnog za reapsorpciju kalcija i fosfata iz probavnog sustava, te odgovornog za koštanu mineralizaciju i anaboličke učinke na kost (131). Kalcitonin je odgovoran za kočenje osteoklastične aktivnosti, ali su istraživanja pokazala da je njegova fiziološka uloga u koštanom sustavu minimalna. Hormon rasta ima ključnu ulogu u razvoju koštanog sustava, te je preko sustava koštane izgradnje i resorpcije jedan od glavnih čimbenika razvoja ukupne koštane mase u odraslih (131). Glukokortikoidi imaju stimulacijski i inhibicijski učinak na koštane stanice. Unatoč tome što potiču sazrijevanje osteoblasta iz mezenhimalnih matičnih stanica, koče njihovu aktivnost i potiču rad osteoklasta. Hormoni štitnjače potiču reakcije cjelokupne koštane pregradnje stimulirajući aktivnost osteoblasta i osteoklasta (131). Estrogeni su poznati čuvari koštanog tkiva, te svoj utjecaj ostvaruju prevenirajući nastanak osteoklasta, inhibirajući njihov odgovor na RANKL. Također, estrogen stimulira proliferaciju osteoblasta, te utječe na sintezu koštanog matriksa, hormonskih receptora i lokalnih čimbenika poput OPG i TGF- $\beta$ . Sukladno estrogenu, androgeni su ključni za koštani rast i razvoj, a njihovi receptori su prisutni u svim koštanim stanicama (111,131).

Izuzev sistemskih hormona koji, između svojih ostalih uloga, imaju snažan utjecaj i na koštano tkivo, remodeliranje se usmjerava putem brojnih lokalnih citokina i čimbenika rasta. Tako koštano resorpciju stimuliraju čimbenici poput interleukina 1 i 6 (IL-1, IL-6), tumor nekrotizirajućeg čimbenika (engl. *Tumor Necrosis Factor*, *TNF*), PDGF-a i M-CSF-a, dok je inhibiraju interleukin 4 (IL-4) i interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ). Za proces stimuliranja koštane izgradnje su odgovorni čimbenici poput IGF-a, TGF- $\beta$  i BMP-a (109,111,121,131).

### **1.3.2. Biomarkeri koštanog metabolizma**

Proces koštane pregradnje je metabolički izrazito aktivan proces koji uključuje aktivnost brojnih stanica i citokina. Tijekom godina se intenzivno istraživalo područje aktivnosti osteoblasta i osteoklasta, te njihova uloga i promjene plazmatskih koncentracija u patofiziologiji bolesti koštanog sustava, od kojih je najznačajnija i najzastupljenija osteoporoza. Stoga su se postupno otkrivali i predstavljali specifični biomarkeri koji predstavljaju različite dijelove koštane pregradnje, odnosno procese koštane izgradnje i resorpcije. Ukoliko promatramo njihovu funkciju, možemo ih podijeliti na komponente koštanog matriksa koji se oslobađaju u cirkulaciju tijekom procesa koštane pregradnje, te enzime koji reflektiraju metaboličku aktivnost osteoblasta i osteoklasta (132) (**Tablica 2**).

#### **1.3.2.1. Biomarkeri koštane izgradnje**

##### **Koštani izoenzim alkalne fosfataze (B-ALP)**

Poznato je da razine ukupne alkalne fosfataze (ALP) mogu pokazati povezanost s porastom ukupne aktivnosti koštane pregradnje, posebice u bolestima koje imaju izrazito naglašenu aktivnost remodelacije (122). Ipak, B-ALP je enzim koji se specifično izlučuje iz osteoblasta, i to posebice u ranoj diferencijaciji stanica iz mezenhimalnih progenitora, te snižava koncentracije inhibitora mineralizacije matriksa. Reflektira anaboličku koštano

aktivnost, te je u cirkulaciji prisutan proporcionalno s brojem osteoblasta. Ipak, uvijek se rezultati moraju promatrati s posebnim oprezom ukoliko pacijenti imaju pridruženu jetrenu bolest zbog križne reakcije s jetrenom izoformom alkalne fosfataze (122,132).

### **Osteokalcin**

Osteokalcin je peptid s mogućnosti vezivanja kalcija koji predstavlja najbrojniji ne-kolageni protein koštanog tkiva. Budući da ga izlučuju isključivo zreli osteoblasti i odontoblasti, plazmatske razine su mu vezane isključivo uz koštanu aktivnost. Većina osteokalcina se ugrađuje u koštani matriks, a samo mali udio osteokalcina se oslobađa u perifernu krv i izlučuje putem bubrega. Stoga pacijenti s bubrežnim zatajenjem često imaju povišene razine osteokalcina. Histomorfometrijska ispitivanja su prepoznala osteokalcin kao specifični marker koštane izgradnje, a za konačnu posttranslacijsku  $\gamma$ -karboksilaciju potreban je vitamin K, što mu povećava kapacitet vezivanja hidroksiapatita (122,132).

### **N- i C- terminalni propeptidi kolagena tipa I (P1NP, P1CP)**

Osteoblasti su odgovorni za izlučivanje kolagena tipa I kao intaktne molekule koja sadrži P1NP i P1CP propeptide koji se odcijepaju s prokolagenske molekule u koštani matriks prije preslagivanja kolagenskih molekula u vlakna. Stoga su oba propeptida isključivi biomarkeri koštane izgradnje i sekrecije kolagena tipa I, što je potvrđeno i histomorfometrijskim ispitivanjima (133). Unatoč tome što kolagen tipa I nije specifičan isključivo za kost, velika većina P1NP-a i P1CP-a je koštanog podrijetla zbog težine skeleta, te visoke metaboličke aktivnosti koštanog tkiva. Iako oba propeptida imaju slična svojstva, P1NP je bio predmet brojnih istraživanja, te je preporučan od strane Međunarodnog Fonda za Osteoporozu (engl. *International Osteoporosis Foundation, IOF*) kao biomarker izbora za procjenu koštane izgradnje za korištenje u kliničkim istraživanjima (132). U cirkulaciji su

prisutne dvije forme P1NP-a – intaktni peptid i monomeri niske molekulske mase, koji se također izlučuju bubrezima, te mogu biti povišeni u pacijenata sa zatajenjem bubrežne funkcije (122).

### 1.3.2.2. *Biomarkeri koštane resorpcije*

#### **N- i C- terminalni telopeptidi kolagena tipa I (NTX, CTX)**

Tijekom procesa koštane razgradnje, koštani kolagen se razgrađuje putem osteoklasta, a NTX i CTX su fragmenti telopeptidne regije, što rezultira njihovim oslobađanjem u cirkulaciju proporcionalno s aktivnosti koštane resorpcije. Zanimljivo, CTX je produkt izravne razgradnje kosti isključivo putem ostoklast-specifične proteaze katepsina-K, dok razgradnja putem metaloproteinaza ili tripsina rezultira oslobađanjem križno-vezanog telopeptida kolagena tipa I (ICTP) (122,132,134). CTX se postupno podvrgava izomerizaciji prilikom koje nastaje  $\beta$ -CTX, produkt koji je IOF preporučio za korištenje u kliničkim studijama kao najbolji serumski marker koštane resorpcije (134). Za razliku od CTX-a, NTX je manje specifičan za kost, najčešće se mjeri iz urina, ali i pokazuje manje promjene prilikom praćenja učinkovitosti antiresorptivne terapije u osteoporozi. Ostali produkti razgradnje kolagena tipa I uključuju piridinoline, deokspiridinoline, hidrolizin, te hidroksiprolin (122,132,135).

#### **Tartatat-rezistentna kisela fosfataza (TRACP)**

TRACP se sintetizira u kostima, slezeni i plućima, dok je podvrsta b izoenzima 5 (TRACP5b) najspecifičnija za osteoklaste. Najviše služi kao pokazatelj broja, a ne nužno i aktivnosti stanica, te je izuzetno nestabilna na sobnoj temperaturi i može izgubiti aktivnost čak i u smrznutim uzorcima. Budući da ne ovisi o izlučivanju putem bubrega, može biti jako korisna kao marker koštane resorpcije u pacijenata s bubrežnim zatajenjem (136).

Tablica 2. Biomarkeri koštane pregradnje

Biomarker	Značajke
<i>Biomarkeri koštane izgradnje</i>	
<b>Koštani izoenzim alkalne fosfataze</b>	Specifični produkt osteoblasta
<b>Osteokalcin</b>	Specifični produkt osteoblasta, više imunoreaktivnih formi u krvi
<b>C-terminalni propeptid kolagena tipa I</b>	Specifični produkt proliferirajućih osteoblasta i fibroblasta
<b>N-terminalni propeptid kolagena tipa I</b>	Specifični produkt proliferirajućih osteoblasta i fibroblasta, dijelom ugrađen u koštani matriks
<i>Biomarkeri koštane razgradnje</i>	
<b>Hidroksiprolin</b>	Prisutan u novosintetiziranom i zreom kolagenom tkivu
<b>Glicirani hidrolizin</b>	Stupanj gliciranosti varira, ovisno o vrsti tkiva (meko tkivo / skeletno tkivo)
<b>Piridinolin</b>	Prisutan isključivo u zreom kolagenu, najveća koncentracija u hrskavici i kosti
<b>Deoksipiridinolin</b>	Prisutan isključivo u zreom kolagenu, najveća koncentracija u kosti
<b>Karboksiterminalni telopeptid kolagena tipa I</b>	Košanog podrijetla, $\beta$ -izomerizacija se događa starenjem molekule kolagena
<b>Aminoterminalni telopeptid kolagena tipa I</b>	Kolagen tipa I košanog podrijetla
<b>Helikoidalni peptid kolagena tipa I</b>	Fragment koji nastaje degradacijom helikoidalnog dijela kolagena tipa I
<b>Koštani sijaloprotein</b>	Glikoprotein povezan s funkcijom osteoklasta
<b>Fragmenti osteokalcina</b>	Oslobađanje fragmentata tijekom resorpcije kosti posredovane osteoklastima
<b>Tartatat-rezistentna kisela fosfataza</b>	Izoenzimi dominantni u osteoklastima
<b>Katepsini</b>	Enzimi odgovorni za degradaciju košanog matriksa putem osteoklasta, pokazatelj broja osteoklasta

Prema: Seibel MJ. Biochemical markers of bone turnover: part I: biochemistry and variability. Clin Biochem Rev. 2005;26:97-122.

### 1.3.2.3. Preanalitička varijabilnost koštanih biomarkera

Najveći problem prilikom određivanja i kliničke upotrebe biomarkera koštane pregradnje je njihova značajna intra-individualna i inter-individualna varijabilnost koja se može donekle smanjiti pravilnim prikupljanjem i pohranom uzoraka (122,134,135). Preanalitički čimbenici se tako mogu podijeliti na one koji se mogu kontrolirati, poput cirkadijanih varijacija, unosa hrane, tjelesne aktivnosti te menstruacijskog ciklusa, i na one na koje ne možemo utjecati, poput demografskih varijabli, etničke pripadnosti, trudnoće i komorbiditeta (132,135). Treba uzeti u obzir da će markeri pregradnje biti povišeni u stanjima poput tireotoksikoze, hiperparatireoidizma, akromegalije ili metastatičke bolesti kostiju, dok će biti sniženi u stanjima poput hipotireoidizma, hipoparatireoidizma, terapije kortikosteroidima, pretilosti i šećerne bolesti tipa 2 (132).

Pravilno prikupljanje uzoraka je ključno u određivanju biomarkera koštane pregradnje. Koštana resorpcija je najaktivnija u drugoj polovini noći, s najmanjim razinama markera u popodnevnim i večernjim satima. Stoga se svi prije navedeni markeri, uključujući i one koštane izgradnje, moraju uzimati nakon cjelonoćnog posta, izuzev P1NP-a koji ne pokazuje cirkadijane razlike, te je prihvatljiv i slučajni uzorak (132,135). Veličina dnevnih kolebanja razina markera može iznositi čak do 50%, a još je viša za pretrage koje se vrše iz uzoraka urina. Uputno je izbjegavati tjelesnu aktivnost visokog intenziteta, te konzumaciju alkohola dan prije uzorkovanja krvi. Nadalje, treba imati na umu da prijelomi ili ortopedske operacije u razdoblju od godine dana mogu uzrokovati promjene koncentracija markera (122,132,135). Zbog znatne biološke varijabilnosti, preporučuje se pažljivo uzorkovanje vodeći računa o uvjetima pohrane i transporta. Primjerice, P1NP i B-ALP su stabilniji od CTX-a ili osteokalcina, dok je CTX stabilniji u uzorcima plazme u odnosu na uzorke seruma. Također, ukoliko se pacijenti monitoriraju kroz određeni period vremena, uvijek se mora uzimati identične tipove serumskih ili plazmatskih uzoraka (132,135).

Unatoč brojnim prednostima određivanja koštanih biomarkera, oni nemaju dijagnostičko značenje u osteoporozi, unatoč tome što povišene razine mogu biti posljedica ubrzane koštane resorpcije. Pomoću njih nije moguće predvidjeti koštanu masu, niti precizno odrediti rizik od prijeloma, osim u starijoj ženskoj populaciji. Stoga se najviše koriste kao marker praćenja antiresorptivne terapije u liječenju osteoporoze i sličnih poremećaja (122,132,134).

### **1.3.3. Osteoporoza**

#### **1.3.3.1. Kliničke i epidemiološke značajke osteoporoze**

Osteoporoza je metabolička skeletna bolest karakterizirana smanjenom koštanom masom i poremećajem mikroarhitekture i biomehanike koštanog tkiva (137,138). Posljedično se značajno smanjuje ukupna koštana kvaliteta i snaga, te se povećava stopa prijeloma, koji predstavljaju najopasniju i najznačajniju kliničku posljedicu bolesti (139). Najčešća mjesta prijeloma su područja kosti u kojima dominira trabekularna struktura: kralješci, područje kuka, distalni dio podlaktice i proksimalni dio humerusa, te se smatra da ih se na godišnjoj razini dogodi >8,9 milijuna diljem svijeta (140). O učestalosti i važnosti prijeloma govori istraživanje Kanis i sur., koje je pokazalo da žene od 50 godina imaju više od 40% vjerojatnosti da će imati prijelom na nekom od predilekcijskih mjesta, dok je ta vjerojatnost u muškaraca iste dobi preko 20% (141). Također, nedvojbeno je dokazano da su prijelomi povezani s povećanim mortalitetom, morbiditetom i smanjenom kvalitetom života pacijenata (139). Primjerice, u slučaju prijeloma kuka, većina smrtnih ishoda se dogodi u prvih 3-6 mjeseci od prijeloma, te ih je 20-30 % povezano izravno sa samom frakturom (142). Istraživanja su pokazala da je na području Europske Unije (EU) u 2010. godini bilo 43 000 smrtnih ishoda povezanih isključivo s frakturama, dok je 50 % smrtnih ishoda u žena, a 47 % u muškarca, bilo vezano uz prijelom kuka (139).



Osteoporoza se smatra jednom od najvažnijih epidemija 21. stoljeća, te se procjenjuje da je dijagnosticirana u više od 200 milijuna ljudi diljem svijeta (140). Rizik od osteoporoze se povećava tijekom starenja, a najveći je u populaciji postmenopausalnih žena. Na području EU, smatra se da 22 milijuna žena i 5,5 milijuna muškaraca pati od osteoporoze, dok je ukupan broj novih patoloških prijeloma veći od 3,5 milijuna (139). Također, procjenjuje se da će uslijed promjena demografskih karakteristika stanovništva, godišnji broj prijeloma 2025. godine porasti na 4,5 milijuna. Osteoporoza ima veliku važnost budući da zahvaća populaciju diljem svijeta, te predstavlja globalni zdravstveni, ali i financijski problem cjelokupnog zdravstvenog sustava (139).

#### 1.3.3.2. Rizični čimbenici

Osteoporoza je u srži inicirana nerazmjerom između koštane resorpcije i izgradnje. Može se podijeliti na primarni tip, koji je povezan sa starenjem i manjkom spolnih hormona, te na sekundarni tip koji nastaje kao posljedica druge bolesti (143). Razvoj i patofiziologija nastanka osteoporoze predstavlja kompleksnu interakciju genetskih, metaboličkih i okolišnih čimbenika koji u konačnici imaju utjecaj na koštanu biomehaniku (138). Brojni čimbenici mogu ubrzati degradaciju koštane arhitekture, te se mogu podijeliti na one na koje možemo utjecati, te na one koji nisu podložni promjenama (144).

Najvažniji čimbenici na koje ne možemo utjecati su starija dob, spol, rasna pripadnost, povijest patoloških fraktura te obiteljsko naslijeđe, dok možemo utjecati na prehranu, manjak tjelesne aktivnosti, nizak ITM, pušenje, unos alkohola i kave, te stres (144).

Istraživanja su pokazala da zdrava prehrana koja uključuje namirnice bogatima proteinima, mliječni proizvodi, kalcije, vitamin D, voće i povrće ima pozitivan utjecaj na koštano zdravlje, dok su visoko-kalorične namirnice brze prehrane siromašne vitaminom K2 uz sedentarni način života povezane s lošijim koštanim zdravljem. Također, umjerena i visoka

konzumacija alkohola pozitivno korelira s paralelnim gubitkom kortikalne i trabekularne kosti, te potpuna apstinencija od alkohola ima zaštitno djelovanje na kosti (144,145). Nadalje, istraživanja su povezala pušenje i cigaretni dim s gubitkom koštane mase, i to putem povišenih vrijednosti PTH, i sniženih razina kalcitriola i estrogena (146-148). Uzroci gubitka koštane mase u žena generativne dobi su neredoviti menstruacijski ciklusi i ovulacijski poremećaji, te trudnoća i dojenje koji uzrokuju prolazni poremećaj uslijed amenoreje i povećanih potreba organizma za kalcijem. U starijoj životnoj dobi, nagli gubitak estrogena dovodi do vrlo brzog gubitka koštane mase koji traje otprilike 10 godina, a potom se usporava (149).

Sekundarni uzroci osteoporoze uključuju hiperparatireoidizam, upalne bolesti poput reumatoidnog artritisa, šećernu bolest, bubrežne bolesti, kardiovaskularne bolesti, demenciju, hipogonadizam, maligne bolesti, te uporabu lijekova s utjecajem na koštanu homeostazu (144). Upravo je terapija sintetskim glukokortikoidima najčešći uzrok sekundarne osteoporoze, budući da inicijalno trajanje liječenja od 3 mjeseca uzrokuje 10-20 % gubitka koštane mase. Glukokortikoidi inhibiraju stvaranje osteoblasta, povećavaju ekspresiju RANKL-a i snižavaju ekspresiju OPG receptora, te na takav način povećavaju koštanu resorpciju (150).

#### 1.3.3.3. Dijagnostika osteoporoze i rizik za prijelome

Prema kriterijima Svjetske Zdravstvene Organizacije (SZO), osteoporoza se dijagnosticira denzitometrijskim mjerenjem i procjenom koštane mineralne gustoće (engl. *Bone Mineral Density, BMD*), koja je minimalno 2,5 standardnih devijacija (SD) manja u usporedbi s prosječnom vrijednosti mladih zdravih osoba (T-score) (137). BMD označava mjeru koštane mase prema jedinici volumena (vBMD – g/cm<sup>3</sup>) ili prema jedinici površine (aBMD – g/cm<sup>2</sup>), i može se mjeriti različitim denzitometrijskim tehnikama. Najdostupnija i najkvalitetnija metoda, s najkraćim vremenom snimanja i najmanjom količinom zračenja je dvo-energetska apsorpciometrija (engl. *dual-energy X-ray absorptiometry, DXA*), te

predstavlja zlatni standard u procjeni BMD-a (151). Može mjeriti mineralnu gustoću cijelog skeleta, kao i gustoću područja najviše osjetljivih na prijelome (151). Budući da uvjetuje 2-D snimanje, mjeri prostornu gustoću kosti, te je mjerna jedinica  $\text{g}/\text{cm}^2$ . Novija metoda snimanja uključuje kvantitativnu kompjuteriziranu tomografiju (engl. *Quantitative Computed Tomography, QCT*), koja otvara mogućnost volumetrijskog mjerenja koštane gustoće i odvojene analize kortikalne i trabekularne kosti (152). Nadalje, kvantitativna kompjuterizirana tomografija visoke rezolucije (engl. *High Resolution Quantitative Computed Tomography, HS-QCT*) povećava prostornu rezoluciju do mjere analiziranja pojedinačnih trabekula kosti, te omogućava mjerenje njihovog broja, rasporeda i gustoće (152). Ostale potencijalne metode mjerenja mineralne gustoće su radiografska denzitometrija, radiografska apsorpciometrija, jedno-fotonska apsorpciometrija, dvo-fotonska apsorpciometrija, te ultrazvučna denzitometrija kosti (151-153).

Izuzev uloge osnovnog kriterija za postavljanje dijagnoze osteoporoze, BMD vrijednost predstavlja i važan čimbenik rizika za razvoj patoloških prijeloma. Tako brojne smjernice koriste određene BMD granične vrijednosti kao dio odluke o preporuci antiresorptivne terapije, dok se također pokazalo da rizik za frakturu raste 2,6 puta za svako snižavanje SD na području kuka (154). Uslijed nedostataka isključivog promatranja BMD vrijednosti kao osnove procjene rizika za frakture, definirani su brojni klinički i demografski čimbenici koji imaju značajan utjecaj na degradaciju koštanog tkiva (155). Tako za svaku vrijednost BMD-a, rizik za frakture je značajno veći u starijih osoba u odnosu na mlađe posljedično utjecaju dobi na koštani metabolizam koji je neovisan o BMD-u (156). Zbog navedenog međuodnosa, kombinirano promatranje BMD-a i dobi, kao i svih ostalih neovisnih kliničkih čimbenika rizika značajno doprinosi povećanju raspona rizika koji se može identificirati. Ostali klinički čimbenici uključuju spol, nizak ITM, prethodni prijelom, obiteljsku anamneza prijeloma, terapiju glukokortikoidima, pušenje, konzumacija alkohola, reumatoidni artritis, neliječeni

hipogonadizam, upalnu bolest crijeva, produljenu imobilizaciju, transplantaciju organa, šećernu bolest, bolesti štitnjače, KOPB i HIV infekciju (139,157). Pretpostavlja se da sekundarni uzroci osteoporoze uzrokuju porast rizika za prijelome uslijed utjecaja na BMD vrijednost, ali su izuzetak terapija glukokortikoidima, reumatoidni artritis i šećerna bolest koji imaju utjecaj na frakture neovisan o BMD-u (139). Rizik za nastanak fraktura se može procjenjivati i putem markera koštane pregradnje, i to poglavito P1NP-a i CTX-a (158). Johansson i sur. su u meta-analizi pokazali da P1NP i CTX imaju značajnu povezanost s rizikom budućih prijeloma, i to najviše s prijelomom kuka (159).

Otkrivanjem rizičnih čimbenika za buduće prijelome razvijali su se i različiti kalkulatori rizika koji su integrirali više čimbenika, ali najviše korišten i inkorporiran u brojne smjernice je FRAX<sup>®</sup> alat, koji je od 2008. godine do danas raširen u 64 zemlje, te je dostupan za 80% ukupne svjetske populacije (139,160). FRAX<sup>®</sup> predstavlja kompjuterski algoritam koji na temelju rizičnih čimbenika (dob, spol, ITM, prijašnja fraktura, obiteljska anamneza, pušenje, terapija glukokortikoidima, reumatoidni artritis, sekundarna osteoporoza, unos alkohola) i femoralne BMD vrijednosti izračunava 10-godišnju vjerojatnost osteoporotičnog prijeloma predilekcijskih mjesta (160). Najnoviji dodatak FRAX<sup>®</sup> alatu, koji dodatno poboljšava algoritam i preciznost procjene rizika je i indeks trabekularne kosti (engl. *Trabecular Bone Score, TBS*) (161).

#### **1.3.4. Indeks trabekularne kosti**

BMD vrijednost predstavlja važnu komponentu u procjeni rizika za buduće frakture, iako ima određene nedostatke, a poremećaj ostalih koštanih komponenti također pridonosi smanjenju cjelokupne koštane snage i mogućnosti patološkog prijeloma (162). Sama definicija osteoporoze stavlja u fokus koštanu masu, koju prvenstveno mjerimo putem BMD vrijednosti, ali i koštanu mikroarhitekturu, odnosno koštanu kvalitetu, za koju do nedavno nije postojao

odgovarajući način rutinskog kliničkog mjerenja. Koštana kvaliteta uključuje još i stupanj koštane pregradnje, geometriju kosti, akumulaciju mikro-oštećenja te razinu mineralizacije matriksa (162,163). Od svih navedenih komponenti koštane kvalitete, posljednjih godina najekstenzivnije su istraživani novi načini procjene koštane mikroarhitekture (162,163).

Zbog nedostatka procjene koštane kvalitete visok broj pacijenata nema dijagnozu osteoporozе, ali su iskusili povećanu fragilnost kostiju i posljedične patološke frakture. Primjerice, zbog navedene niske osjetljivosti BMD-a u predviđanju prijeloma, istraživanje Kanis i sur. na ženama dobi od 50 godina pokazalo je da se čak 96 % fraktura kralježnice, kuka, podlaktice ili proksimalnog humerusa događa u osoba koje nemaju osteoporozu definiranu prema smjernicama SZO (164). Nadalje, u kohortnoj studiji Sornay-Rendu i sur. pokazano je da samo 44 % zabilježenih prijeloma pripada ženama s dijagnozom osteoporozе (165), dok su Pasco i sur. zabilježili rezultate od samo 14,5 % prijeloma ispitanica koje su imale osteoporozu (166).

Metode s kojima je moguća procjena mikroarhitekture uključuju HS-QCT, mikro-CT ( $\mu$ CT), magnetsku rezonancu visoke rezolucije (MRI), multi-detektorsku kompjuteriziranu tomografiju (MDCT) i MR spektroskopiju (162). Sve navedene pretrage su skupe, te izuzetno teško izvodive u svakodnevnom kliničkom radu. Postoje još dvije dostupnije metode analize trabekularne arhitekture – kvantitativni ultrazvuk (engl. *Quantitative Ultrasound, QUS*), te izračunavanje TBS indeksa, što predstavlja indirektnu mjeru trabekularne arhitekture, a potrebna je samo nadogradnja standardnih DXA uređaja (162,167).

TBS predstavlja novo teksturalno mjerenje koje se eksploatira iz DXA snimki lumbalne kralježnice (L1-L4), ocjenjujući varijacije sive razine piksela. Na takav način se posebnim algoritmom 2-D snimka kralježnice projicira u 3-D strukturu trabekularne kosti (167,168). Općenito promatrajući, dobra struktura kosti označava homogenu DXA snimku s manje varijacija i nižom amplitudom, te boljim TBS indeksom (169). Unatoč svojim nedostacima, i

činjenici da je TBS samo indirektna mjera trabekularne kosti, rezultati različitih *in vitro* i *in vivo* studija su prikazali pozitivnu korelaciju TBS-a i preciznijih mjera trabekularne strukture kosti. Usporedbom TBS indeksa i rezultata  $\mu$ CT-a na uzorcima kostiju kadavera s različitih anatomskih mjesta, TBS je pokazao značajnu korelaciju s direktnim mjerama 3-D mikroarhitekture kosti, uključujući gustoću povezanosti i broj trabekula, te omjer trabekularnog koštanog i tkivnog volumena (169-171). Nadalje, istraživanja na pacijentima i korištenje HS-QCT uređaja je također pokazalo povezanost TBS-a i različitih parametara trabekularne strukture kosti (172). Izračunavanje TBS indeksa analizom DXA snimki lumbalne kralježnice je moguće na većini standardnih denzitometrijskih uređaja (Prodigy i Lunar iDXA, GE Healthcare; Delphi, QDR 4500 i Discovery, Hologic) čak i retrospektivno, ali potrebno je imati odgovarajuću programsku aplikaciju (TBS iNsight, Medimaps Group SA, Ženeva, Švicarska) (173). Još nema koncensusa što bi to bila „normalna“ TBS vrijednost, ali su proizvođači predložili sljedeće granične vrijednosti u postmenopauzalnih žena: degradirana mikroarhitektura ( $\leq 1,200$ ); djelomično degradirana mikroarhitektura (1,200 – 1,350); normalan nalaz ( $\geq 1,350$ ) (174).

S kliničkog stajališta, TBS indeks se može koristiti za procjenu budućeg rizika za frakture, i to neovisno o BMD vrijednosti, dok zajedno u kombinaciji mogu značajno povećati broj pacijenata s bolje definiranim rizikom za nastanak prijeloma (172-174). Nadalje, može poboljšati obradu i liječenje pacijenata sa sekundarnom osteoporozom gdje koštana kvaliteta više utječe na fragilnost kosti od koštane mase (175), te se može koristiti za motrenje učinaka anti-resorptivnog ili anaboličkog liječenja (176). Hans i sur. su proveli značajnu kliničku studiju, u kojoj su istraživali ulogu TBS indeksa u razvoju prijeloma, na velikoj populaciji od 29.407 postmenopauzalnih žena u Kanadskoj provinciji Manitobi. U razdoblju od 5 godina praćenja, dogodilo se 1668 prijeloma, a rezultati su pokazali da su BMD i TBS bili jednako dobri alati za njihovo predviđanje, te da je najbolja predikcijska vrijednost dobivena njihovom

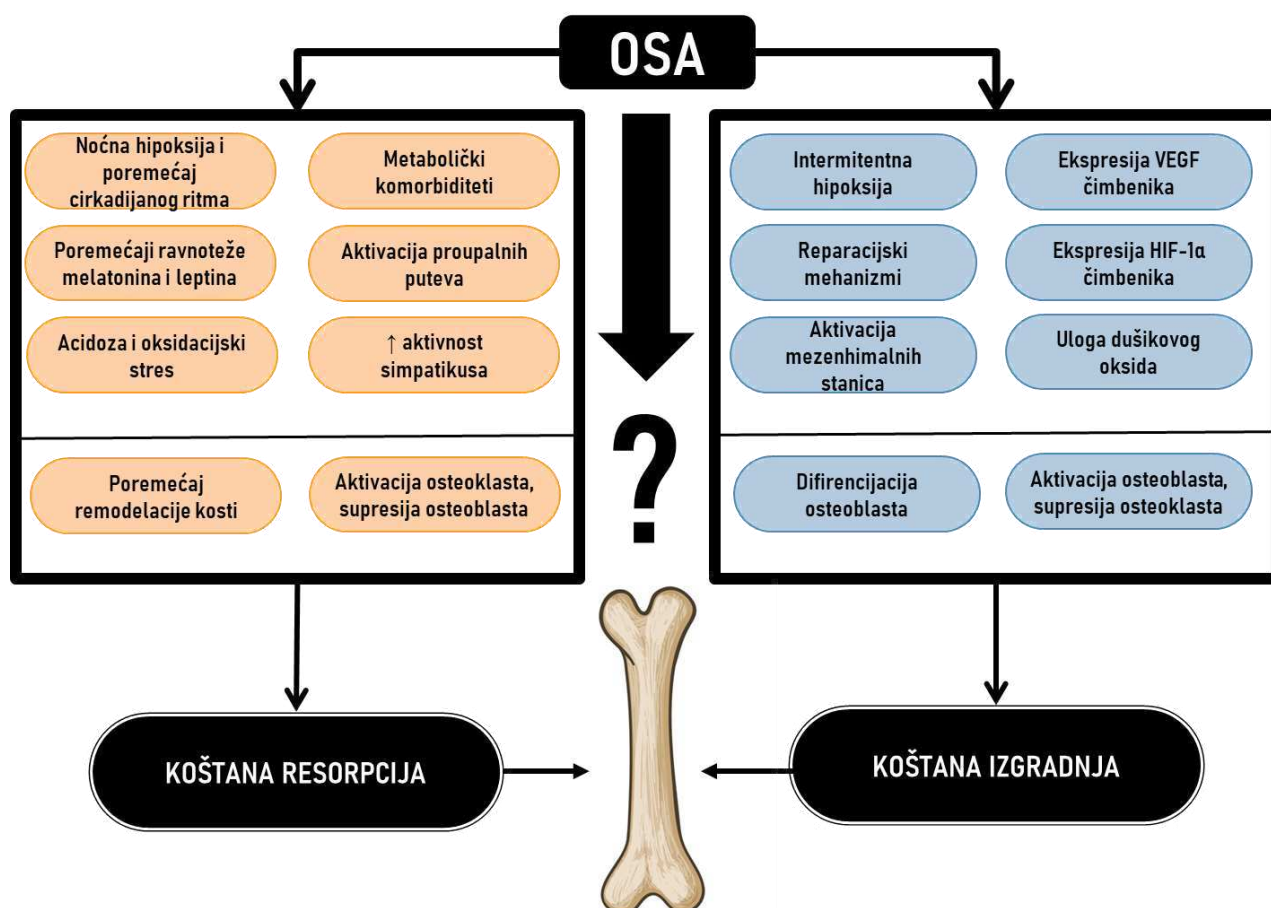
međusobnom kombinacijom (177). Slični rezultati dobiveni su i na muškoj populaciji, u kohorti od 3.620 ispitanika (178), te konačno u meta-analizi koja je obuhvaćala ukupno 14 prospektivnih kohortnih studija i koja je isto tako dokazala da je TBS indeks značajan prediktor prijeloma neovisan o BMD vrijednosti, te FRAX upitniku (179).

Uloga TBS indeksa i mikroarhitekture kosti je istraživana u brojnim poremećajima, te se pokazalo da degradacija trabekularne kosti ima snažan utjecaj na porast rizika od fraktura u pacijenata sa šećernom bolesti, unatoč većim vrijednostima BMD-a (180). Nadalje, TBS indeks se pokazao korisnim u dodatnoj evaluaciji patoloških fraktura u pacijenata koji su na dugotrajnoj terapiji glukokortikoidima, u hiperparatireoidizmu, reumatoidnom artritisu, talasemiji, anoreksiji, Ehlers-Danlos sindromu, akromegaliji, te hemodijalizi (167). Ipak, izuzev šećerne bolesti, ostala istraživanja su uključivala mali broj ispitanika i pridruženih fraktura, te su dodatne studije potrebne za detaljniju analizu.

Kao što je navedeno, unatoč tome što je uloga TBS indeksa i pridružene mikroarhitekture kosti istraživana u brojnim poremećajima, na populaciji pacijenata s OSA-om objavljena je samo jedna novija studija, koja je na malom uzorku populacije pokazala nižu TBS vrijednost u odnosu na kontrolne ispitanike. Ipak, pacijenti su imali i pridruženu šećernu bolest, te je moguće da rezultati nužno ne odražavaju isključivi utjecaj OSA-e na TBS indeks (181).

## 1.4. Poremećaji koštanog metabolizma i OSA

OSA i smanjena koštana masa su dva poremećaja značajne prevalencije u općoj populaciji koja konstantno pokazuju trend rasta i u budućnosti. Budući da OSA uzrokuje brojne metaboličke, hormonske i upalne poremećaje, značajan je i mogući utjecaj na koštano tkivo i razvoj osteoporoze, što je bio predmet više recentnih istraživanja. Utvrđeno je da u kompleksnoj patogenezi OSA-e i pridruženih komplikacija postoji više različitih mehanizama koji mogu utjecati na koštani sustav, ali su međusobno kontradiktorni, te još nije usuglašeno konačno jedinstveno stajalište. Određeni mehanizmi prisutni u OSA-i potiču resorpciju kosti, dok s druge strane, također postoje i mehanizmi koji mogu djelovati na pojačanu izgradnju koštanog tkiva (Slika 1).



**Slika 1.** Utjecaj OSA-e na koštani metabolizam – dosadašnje spoznaje  
**HIF-1α**- hipoksija-inducibilni čimbenik 1α; **VEGF**- vaskularni endotelni čimbenik rasta



### **1.4.1. Dosadašnje spoznaje**

#### **1.4.1.1. OSA i razgradnja kosti**

U odrasloj populaciji, osteoblasti i osteoklasti pokazuju ovisnost normalnog funkcioniranja s regularnim cirkadijanim ritmom, te samim time bilo kakav poremećaj ritmičnosti ili kvalitete spavanja može dovesti do njihove disfunkcije (182). Centar cirkadijanog ritma se nalazi u hipotalamičkoj suprahijazmatskoj jezgri (SCN), koja komunikaciju s koštanim stanicama vrši uglavnom putem glukokortikoida (183). OSA izgledno može narušiti cirkadijani ritam putem narušenog spavanja i izloženosti značajnijem udjelu noćnog svjetla, mijenjanjem transkripcije cirkadijanih proteina, te putem hipoksijskog utjecaja na SCN jezgru i sekreciju melatonina (184-186).

Noćna hipoksija je jedna od osnovnih značajki OSA-e, ali točan metabolički odgovor skeleta u odrasloj populaciji još nije do kraja utvrđen. Iako su brojne eksperimentalne studije dokazale utjecaj hipoksije na resorpciju kosti i formiranje osteoklasta, moguće je da egzaktan odgovor na hipoksiju ovisi o njezinom tipu i dugotrajnosti, te o značajkama kosti (187). Hipoksija utječe na kost putem hipoksija-inducibilnog čimbenika (HIF), proteina sa zajedničkom  $\beta$  podjedinicom, te jedinstvenom  $\alpha$  jedinicom. HIF čimbenici su ključni u adaptaciji i preživljavanju stanica u hipoksijskim uvjetima, dok HIF-1 $\alpha$  izravno stimulira aktivnost osteoklasta, inhibira diferencijaciju osteoblasta, te blokira osteoanabolički utjecaj PTH na kost (188). Nadalje, hipoksija inducira nastanak acidoze i upale, dvaju stanja koja potiču resorpciju kosti (187). Intermitentna noćna hipoksija u OSA-i tako može uzrokovati ponavljajuću ishemijsku ozljedu, koja stvara upalno i acidotično mikrookruženje u koštanom tkivu (187-189). Također, na animalnim modelima acidoza aktivira nastanak osteoklasta i inhibira aktivnost osteoblasta (189,190). Nadalje, često stanje koje se javlja usporedno s hipoksijom je i oksidativni stres, koji je također povezan s koštanom resorpcijom i niskom koštanom masom. Sukladno tome, niske razine antioksidansa povezane su s osteoporozom i

povišenim rizikom za nastanak fraktura (191,192). Pretpostavlja se da oksidacijski stres izvršava svoje učinke putem izmjene strukture kolagena, stimuliranjem osteoklasta, inhibicijom funkcije i diferencijacije osteoblasta, te facilitirajući resorptivni utjecaj PTH, IL-1 i TNF-a na kost (193).

Leptin je hormon koji se također pokazao inhibitorom koštanog prirasta mase. Osjetljiv je na izmjene cirkadijanog ritma, a najviše koncentracije su mu tijekom noći (187). Istraživanja na miševima s nedostatkom leptina pokazala su prirast koštane mase, koji se ponovno smanji naknadnom injekcijom leptina (194). Leptin regulira koštanu masu putem inhibicije lučenja serotonina, što kaskadom signalnih puteva u konačnici utječe na simpatički živčani sustav, čija je aktivnost u OSA pacijenata neovisno povećana (99,187). Zbirnim utjecajem leptina i povećanog tonusa simpatičkog živčanog sustava inhibira se koštana izgradnja, dok poticanje resorpcije kosti dovodi do niske koštane mase (99,100,187).

Isto tako, melatonin, koji ima značajnu funkciju u spavanju i cirkadijanoj sinkronizaciji, ima složenu interakciju s koštanim sustavom. Neki animalni modeli pokazuju negativnu korelaciju markera izgradnje kosti i melatonina, dok s druge strane melatonin remeti funkciju osteoklasta smanjenjem induciranog oksidativnog stresa, te stimulira diferencijaciju osteoblasta i sekreciju OPG-a (187,195). Sukladno brojnim povoljnim učincima na koštano tkivo, izgledno je da poremećaj izlučivanja melatonina u OSA-i ima negativan utjecaj na ukupnu koštanu masu i kvalitetu (187,195).

Poremećaj spavanja i OSA mogu dodatno utjecati na koštano zdravlje putem učestalih pridruženih komorbiditeta kao što su nedostatak vitamina D, hipogonadizam, pretilost, inzulinska rezistencija, te kognitivni poremećaji (187,196). Aktivni vitamin D značajno korelira s BMD vrijednosti, te je prema rezultatima nekih studija snižen u OSA pacijenata u odnosu na kontrolne ispitanike. OSA je također definirana kao uzročni čimbenik centralnog hipogonadizma, koji snižava koštanu masu induciranjem koštane resorpcije (187,196). Iako je

pretilost dugo smatrana zaštitnim čimbenikom koštane snage uslijed pozitivnog utjecaja na koštanu masu i BMD vrijednost, ipak se pokazala značajnim rizičnim čimbenikom za razvoj fraktura, vjerojatno zbog razarajućeg utjecaja na koštanu kvalitetu (180,187,196). Cjelokupno promatrajući, budući da su metabolički i hormonalni poremećaji česti komorbiditeti koji nastaju kao posljedica poremećaja spavanja, nije jednostavno specifično izolirati točan patofiziološki mehanizam koji ih povezuje (187,196).

#### *1.4.1.2. OSA i izgradnja kosti*

Unatoč brojnim čimbenicima koji pridonose hipotezi o štetnom utjecaju značajki OSA-e na koštanu masu i arhitekturu, postoje i studije koje su prikazale kontradiktorne rezultate. Almendros i sur. su prikazali oksidativni stres, upalu i endotelnu disfunkciju, jedne od ključnih posljedica OSA-e, kao važne čimbenike oslobađanja matičnih mezenhimalnih stanica. Na takav način je moguće da matične stanice služe kao reparativni mehanizam koji uslijed odgovora na štetne podražaje uzrokuje diferencijaciju stanica u osteoblaste i endotelne matične stanice (197). Također, navedene teze su potvrđene na animalnom modelu intermitentne hipoksije, u kojem se zabilježilo značajno oslobađanje mezenhimalnih stanica u perifernu cirkulaciju (198).

Nadalje, Guner i sur. su istraživali efekt kronične hipobarične intermitentne hipoksije na koštani metabolizam s posebnim naglaskom na ulogu dušikovog oksida (NO) (199). Miševu su podijelili u tri skupine, s tim da su prve dvije skupine bile izložene navedenom tipu hipoksije, ali je druga skupina bila i tretirana inhibitorom NO sintetaze. Rezultati su pokazali da su BMD vrijednosti u tretiranim skupinama bile više u odnosu na polazne vrijednosti, kao i na vrijednosti kontrolne skupine, i to značajnije u skupini koja nije tretirana inhibitorom NO sintetaze. Stoga navedeni rezultati podupiru tezu o zaštitnom utjecaju intermitentne hipoksije na koštano tkivo, u čemu ulogu ima i NO.

Oishi i sur. su također istraživali pozitivne učinke intermitentne hipoksije na BMD alveolarne kosti animalnih modela (200). Rezultati istraživanja su pokazali da je nakon izlaganja intermitentnoj hipoksiji u trajanju od 3 tjedna porasla aktivnost HIF-1 $\alpha$ , vaskularnog endotelnog čimbenika rasta (VEGF), ALP i BMP-2 čimbenika, kao i sama BMD vrijednost. Nalazi se mogu objasniti kompleksnom interakcijom HIF-1 $\alpha$  i VEGF čimbenika, koji unatoč stimulirajućem utjecaju na osteoklaste, imaju utjecaj i na oslobađanje mezenhimalnih stanica, te proliferaciju i preživljavanje osteoblasta (188).

Točan utjecaj intermitentne hipoksije na koštani metabolizam je i danas neriješeno pitanje koje zahtijeva daljnja istraživanja. Više studija je zabilježilo mogući pozitivan utjecaj intermitentne hipoksije na koštano tkivo, te čak i potencijalnu primjenu u terapijske svrhe skeletnih bolesti. Camacho-Cardenosa i sur. su u opširnom sustavnom preglednom članku analizirali 39 studija u kojima je istraživani utjecaj kontinuirane i cikličke hipoksije na različitim staničnim modelima, 3 studije koje su istraživali jednake učinke na animalnim modelima, te 10 studija koje su promatrale utjecaje cikličke, kontinuirane i intermitentne hipoksije na koštano zdravlje ljudi (201). Nakon opsežne analize, autori su zaključili da različiti modeli hipoksijskog kondicioniranja vjerojatno imaju drugačije utjecaje na koštani metabolizam u *in vivo* i *in vitro* modelima, te da ciklička hipoksija ima najveće predispozicije za buduću kliničku primjenu. Ipak, dodatne studije su i dalje potrebne, te konačna suglasnost nije postignuta.

#### **1.4.2. Klinička istraživanja**

Nekoliko različitih vrsta kliničkih ispitivanja provedeno je na ispitanicima s OSA-om u kojima se promatrala povezanost s promjenama koštanog metabolizma. Kao i u eksperimentalnim studijama, rezultati su pokazali varijabilnost i značajna odstupanja. Iako još nisu provedene studije koje su izravno ispitivale povezanost OSA-e i rizika od fraktura, poznato je da ostali poremećaji spavanja mogu izazvati povećan rizik za promjene koštanog

metabolizma (202,203). Također, Stone i sur. su prikazali povećanje prijeloma kuka u žena s prekomjernom dnevnom pospanosti koje učestalo spavaju tijekom dana (204).

Yen i sur. i Chen i sur. su objavili dvije velike populacijske studije provedene u kohortama OSA pacijenata u kojima su pronašli značajnu povezanost bolesti s koštanom resorpcijom i razvojem osteoporoze (205,206). Ipak, postoje druge kliničke studije koje nisu pronašle nikakvu povezanost OSA-e i koštane resorpcije (207), dok su Tng i sur. te Sforza i sur. u svojim istraživanjima pronašli viši BMD u OSA pacijenata u odnosu na zdrave kontrolne skupine, podupirući tezu o zaštitnom učinku intermitentne hipoksije na koštani metabolizam (208,209). Upala i sur., te Eimar i sur. su u dvama sustavnim pregledima obuhvatili brojne kliničke studije koje su se bavile navedenom problematikom, te su zaključili da je povezanost OSA-e i osteoporoze moguća, ali da se rezultati razlikuju s obzirom na vrste istraživanja (210,211). Ipak, treba naglasiti da se zaključci direktne povezanosti OSA-e i osteoporoze temelje isključivo na dvjema navedenim populacijskim studijama, te da ih treba interpretirati s oprezom.

## 1.5. Matrix Gla protein

Matriks Gla Protein (MGP) je protein ovisan o vitaminu K podrijetlom iz ekstracelularnog matriksa od približno 12 kDa, kojeg izlučuju uglavnom glatke mišićne stanice, hondrociti, endotelne stanice, i fibroblasti (212,213). Price i sur. su ga prvotno izolirali iz koštanog matriksa, ali je otkrivena ekspresija i u srcu, krvnim žilama i hrskavici (213,214). Smatra se da ima značajnu ulogu u normalnoj regulaciji koštanog i vaskularnog sustava, te da je jedan od najsnažnijih prirodnih inhibitora kalcifikacije u ljudskom tijelu (213,215).

Vaskularna kalcifikacija je proces koji započinje u djetinjstvu, i za koji se dugo vremena smatralo da predstavlja samo pasivno nakupljanje kalcija i fosfata u arterijskom zidu, bez mogućnosti adekvatnog liječenja. Ipak, u novije vrijeme dokazi govore u prilog

kalcifikaciji kao aktivnom, kompleksnom procesu, čiji je ključni korak diferencijacija glatkih mišićnih stanica u osteoblastični fenotip (216). Također, poznato je da se kalcifikati pojačano akumuliraju u stanjima kao što su šećerna bolest, oksidacijski stres i kronično zatajenje bubrega, te da su povezani s povišenim kardiovaskularnim morbiditetom i mortalitetom (213).

MGP ostvaruje svoj učinak putem nekoliko različitih patofizioloških mehanizama. Gla rezidua ima snažan afinitet prema novostvorenim kristalima hidroksiapatita, te na takav način, nakon fagocitoze kompleksa putem makrofaga, sprječava akumulaciju kalcija u stijenci krvnih žila. Nadalje, MGP direktno inhibira vezanje BMP-2 proteina na njegov receptor, i na takav način sprječava ekspresiju njegovih učinaka (hondrogeneza, osteogeneza, diferencijacija osteoblasta u arterijskoj stijenci), što je dokazano u *in vitro* i *in vivo* studijama (217-219).

Za svoju potpunu biološku aktivaciju, MGP mora biti podvrgnut  $\gamma$ -karboksilaciji Gla rezidue, i potom fosforilaciji rezidue serina, procesima koji su u potpunosti ovisni o vitaminu K. Sukladno tome, deficijencija vitamina K vodi u inaktivaciju MGP-a i ubrzanja vaskularne kalcifikacije, dok njegov unos djeluje reverzibilno na navedene procese (220). Nekarboksilirana, nefosforilirana forma MGP-a (dp-ucMGP) je njegova potpuno inaktivirana forma, za koju je potvrđeno da direktno predstavlja razine cirkulirajućeg vitamina K, a budući da se ne nakuplja u stijenci arterija, smatra se čimbenikom rizika za kalcifikaciju u nastanku (213,221). Tako se dp-ucMGP u brojnim studijama povezao s povećanom krutosti arterija, pri čemu je izgledno da ima važnu patofiziološku ulogu (222). Istraživanja su također pokazala da su povišene razine dp-ucMGP-a, uz dislipidemiju, pretilost i poremećaj tolerancije glukoze, jedan od učestalih rizičnih čimbenika povezanih s nastankom aterosklerotskih plakova (213).

Uloga dp-ucMGP-a je istraživana u mnogim kliničkim studijama. Utvrđeno je da su njegove razine povećane u kroničnom zatajenju bubrega, te da se dodatno povećavaju i pri liječenju hemodijalizom (223). Nadalje, istraživanja su prikazala dp-ucMGP kao prediktora

pogoršanja renalne funkcije, nefrolitijaze, endotelne disfunkcije, te arterijske krutosti i kalcifikacije u općoj populaciji (213,224,225). Također, pokazao je značajnu povezanost s vaskularnom kalcifikacijom i arterijskom krutosti u poremećajima kao što su šećerna bolest, hipertenzija i srčano zatajenje (213). Cjelokupno gledajući, dp-ucMGP se može smatrati novim čimbenikom rizika za kardiovaskularne bolesti, ali isto tako i čimbenikom rizika za ukupni kardiovaskularni mortalitet i morbiditet (213,226).

### ***1.5.1. Matrix Gla protein i koštani metabolizam***

MGP je važan čimbenik koštanog metabolizma. Utvrđeno je da su njegove razine povišene u procesu koštane izgradnje (227), te da progresija same vaskularne kalcifikacije dovodi do gubitka koštane mase, povećane fragilnosti kosti, te povišene stope patoloških prijeloma (228,229). Isto tako, eksperimentalne studije su potvrdile da izostanak MGP-a na animalnim modelima uzrokuje vaskularnu kalcifikaciju, oslabljenu funkciju osteoblasta i osteopeniju (230,231).

Sukladno navedenom, možemo zaključiti da je MGP potencijalna ključna patofiziološka poveznica između redukcije koštane mase, progresije vaskularne kalcifikacije i povećanog rizika za nastanak patoloških fraktura (227-232).

Unatoč tome što je uloga MGP-a, i poglavito njegova inaktivnog oblika dp-ucMGP-a, istraživana u brojnim bolestima, još dosad nije promatrana njegova uloga u odrasloj OSA populaciji.

## **2. CILJEVI I HIPOTEZE ISTRAŽIVANJA**



**Glavni ciljevi istraživanja su:**

1. Utvrditi razlike u denzitometrijskim parametrima koštane mineralne strukture i trabekularne strukture kosti u pacijenata s OSA-om u odnosu na kontrolnu skupinu
2. Utvrditi razlike u plazmatskim koncentracijama dp-ucMGP-a u pacijenata s OSA-om u odnosu na kontrolnu skupinu
3. Ispitati povezanost denzitometrijskih parametara kostiju, dp-ucMGP-a i AHI indeksa

**Sporedni ciljevi istraživanja su:**

1. Ispitati razlike u razinama biomarkera koštane pregradnje u pacijenata s OSA-om u odnosu na kontrolnu skupinu
2. Ispitati povezanost biomarkera koštane pregradnje s razinama dp-ucMGP-a, AHI indeksa i TBS indeksa
3. Odrediti dijagnostičke performanse dp-ucMGP i TBS testova
4. Ispitati razlike u vrijednostima TBS-a i dp-ucMGP-a u populaciji pacijenata s OSA-om koji imaju  $ITM > 30 \text{ kg/m}^2$  u odnosu na one kojima je  $ITM < 30 \text{ kg/m}^2$

**Hipoteze istraživanja su:**

1. Vrijednosti TBS indeksa u pacijenata s OSA-om bit će manja u odnosu na kontrolnu skupinu zdravih ispitanika
2. Pacijenti s OSA-om imat će značajno više vrijednosti inaktivnog oblika MGP-a u odnosu na kontrolnu skupinu zdravih ispitanika
3. Pacijenti s OSA-om imat će manje vrijednosti BMD-a u predjelu lumbalne kralježnice (L1-L4), ukupnog područja kuka i vrata bedrene kosti u odnosu na kontrolnu skupinu zdravih ispitanika
4. OSA ispitanici s  $ITM > 30 \text{ kg/m}^2$  imat će niže vrijednosti TBS-a i više vrijednosti dp-ucMGP-a u odnosu na ispitanike s  $ITM < 30 \text{ kg/m}^2$

### **3. ISPITANICI I POSTUPCI**

### 3.1. Ispitanici

U istraživanje su uključena 53 muška ispitanika kojima se OSA dijagnosticirala cjelonoćnom polisomnografijom za vrijeme redovnih pregleda u Centru za medicinu spavanja u Splitu (Medicinski fakultet u Splitu i KBC Split), u razdoblju između veljače 2017. i ožujka 2018. godine. Iz studije su sustavno isključeni ispitanici koji su ispunili neki od sljedećih kriterija:

- 1) dijagnosticirana šećerna bolest;
- 2) teška kardiovaskularna, neurološka, psihijatrijska, plućna ili bubrežna bolest;
- 3) maligna bolest;
- 4) akutna ili kronična upalna bolest;
- 5) redovita upotreba lijekova koji mogu međudjelovati s koštanim metabolizmom (bifosfonati, glukokortikoidi, tijazidi, kemoterapija, heparinska terapija, varfarin, antiepileptici);
- 6) redovito korištenje preparata kalcija ili vitamina D kao dodatka prehrani;
- 7) korištenje sedativa ili narkotika;
- 8) zloupotreba alkohola ili droga;
- 9) korištenje bilo kojeg oblika terapije OSA-e prije uključanja u studiju;
- 10) ženski spol;
- 11) ITM > 37 kg/m<sup>2</sup>;
- 12) poznata bolest koštano-mineralnog sustava;
- 13) ispitanici stariji od 65 godina, te mlađi od 20 godina.

Pacijenti ženskog spola nisu uključeni u istraživanje unatoč znatno većoj incidenciji osteoporoze u žena (139). Razlozi koji su u pozadini odluke su niža incidencija OSA-e u odnosu na muškarce (37,38,40), ali također i razlike u razinama hormona i načina degradacije kosti tijekom starenja koji su pod utjecajem spola. Isključenjem žena iz studije smo omogućili stvaranje homogenijih skupina sa što manje mogućih odstupanja, te smo utjecaj spola na povezanost između promjena koštanih parametara i stupnja težine bolesti sveli na minimum. Isto tako, ispitanici s ITM vrijednosti većom od  $37 \text{ kg/m}^2$  također nisu uključivani u studiju uslijed poznatog utjecaja tjelesne mase i nakupina masnog tkiva na rezultate TBS analize, te mogućnosti pogrešne interpretacije rezultata (167).

U kontrolnu skupinu uključeno je 50 zdravih, muških ispitanika usklađenih po dobi, antropometrijskim mjerama i životnim navikama s OSA pacijentima. Svi potencijalni kontrolni ispitanici su nakon pristanka za sudjelovanje u studiji ispunili dva upitnika validirana na hrvatskom jeziku u svrhu procjene rizika za nastanak OSA-e, budući da nisu bili podvrgnuti polisomnografskim ispitivanjima. ESS ispituje subjektivni osjećaj pospanosti u 8 određenih situacija tijekom normalnog dana, te se ponuđeni odgovori boduju ocjenama od 0 do 3, pri čemu 0 - nema nikakvu potrebu za spavanjem, 1 - osjeća laganu potrebu za spavanjem, 2 - osjeća veću potrebu za spavanjem, 3 - osjeća neodoljivu potrebu za spavanjem (57). Najveći mogući zbroj bodova može biti 24, a zbroj veći od 9 predstavlja povećanje dnevne pospanosti (**Privitak 1**). Sukladno tome, ispitanici s ukupnim ESS zbrojem  $>9$  su isključeni iz studije. STOP-BANG upitnik, kratki test probira visoke osjetljivosti i specifičnosti, također je korišten za otkrivanje ispitanika s visokim rizikom za razvoj OSA-e (53). Upitnik se sastoji od 8 pitanja koja se odnose na: 1) prisutnost hrkanja; 2) dnevni umor; 3) dijagnozu hipertenzije 4) epizode prestanka disanja tijekom spavanja; 5) ITM  $>35 \text{ kg/m}^2$ ; 6) dob  $>50$  godina; 7) opseg vrata  $>43 \text{ cm}$ ; 8) muški spol. Potvrđan odgovor na svako od pitanja iznosi jedan bod, a ispitanici s rezultatom  $\geq 3$  u STOP-BANG upitniku su isključeni iz daljnjeg istraživanja zbog povišenog

rizika za razvoj bolesti (**Privitak 2**). Identični kriteriji isključenja primjenjivani su i na kontrolnu skupinu ispitanika, te su svi ostali postupci izvedeni po istom protokolu kao u OSA pacijenata uključenih u istraživanje (**Slika 2**).

## 3.2. Postupci

### 3.2.1. Antropometrijska mjerenja

Svim ispitanicima koji su uključeni u istraživanje je najprije uzeta detaljna anamneza, a potom su izvršena antropometrijska mjerenja. Tjelesna masa i visina izmjerene su koristeći kalibriranu vagu i visinomjer (Seca, Birmingham, UK). ITM je izračunat kao tjelesna masa (kg) podijeljena s visinom na kvadrat ( $m^2$ ). Osobe s ITM vrijednosti  $>30 \text{ kg/m}^2$  su kategorizirane kao pretile, prema smjernicama SZO-a (233). Opseg struka je mjereno na srednjoj udaljenosti između donjeg ruba rebrenog luka te gornjeg ruba grebena ilijačne kosti, u stojećem uspravnom položaju, a opseg bokova mjereno na najširem promjeru oko glutealne regije. Omjer struka i bokova (engl. *Waist-To-Hip Ratio*, *WHR*) je izračunat dijeljenjem opsega struka s opsegom bokova. Opseg vrata je mjereno u razini srednjeg dijela vratne kralježnice, niže od laringealne prominencije s prednje strane vrata ispitanicima u stojećem uspravnom položaju.

### 3.2.2. Dnevne navike

Od svih uključenih ispitanika su uzete detaljne informacije o fizičkoj aktivnosti, pušenju, te dnevnom unosu kave. Fizička aktivnost je definirana kao najmanje 30 minuta kontinuirane tjelesne aktivnosti koja rezultira umjerenim umorom i/ili znojenjem. Nadalje, ispitane su i dnevne navike unosa pojedinačnih, različitih alkoholnih pića (pivo, vino, žestoka pića), čija je ukupna unesena količina konvertirana u alkoholne jedinice (1 alkoholna jedinica je ekvivalent 8 g etanola) (234). Navike unosa kalcija su procijenjene metodom 72-satnog prisjećanja. Dani detaljnog prisjećanja obroka su bili nedjelja, ponedjeljak i utorak. Informacije

o količini unesene hrane su unesene u dostupni kalkulator kalcija IOF-a (235), kojim su obrađene i zabilježene ukupne dnevne količine unesenog kalcija putem hrane.

### 3.2.3. Polisomnografsko ispitivanje

Svi pacijenti u ispitivanoj skupini koji su uključeni u istraživanje podvrgnuti su cjelonoćnom PSG ispitivanju u Centru za medicinu spavanja Split. Tijekom snimanja bilježe se sljedeći parametri: elektroencefalografija (EEG), elektrookulografija (EOG), elektromiografija (EMG) na bradi i tibijalnoj strani potkoljenice, protok zraka kroz nos, pulsna oksimetrija, respiracijski naponi u vidu pokretanja grudnih i trbušnih mišića, te jačina zvuka/glasnoća i trajanje hrkanja (Alice 5LE, Philips Respironics, Eindhoven, Nizozemska). Svi podaci su pohranjeni na osobnom računalu, te analizirani prema međunarodno prihvaćenim smjernicama Europskog društva za istraživanje spavanja (engl. *European Sleep Research Society, ESRS*) i Američke akademije za medicinu spavanja (engl. *American Academy of Sleep Medicine, AASM*). Prema navedenim smjernicama, pacijentima je postavljena dijagnoza OSA-e ukoliko je njihov AHI indeks  $\geq 5$  epizoda/sat (2,64).

Apneja je definirana kao potpuni prekid protoka zraka kroz respiracijske putove s minimalnim trajanjem od 10 sekundi, dok je hipopneja definirana kao smanjenje protoka zraka za  $\geq 30$  % od početne vrijednosti tijekom minimalno 10 sekundi, kombinirano sa pratećim buđenjem i/ili smanjenjem SpO<sub>2</sub> za  $\geq 3$  %. AHI indeks je definiran kao zbroj epizoda apneje i hipopneje tijekom spavanja, podijeljenih prema pojedinom satu spavanja. Indeks desaturacije kisika (ODI) je izračunat kao broj značajnih desaturacija kisika (više od 3%) podijeljen s brojem prospavanih sati.

### 3.2.4. Uzorkovanje krvi i laboratorijske analize

Najviše 14 dana nakon inicijalne polisomnografije i dijagnoze OSA-e, iskusne medicinske sestre su svim uključenim ispitanicima prikupljale uzorke krvi iz podlaktične vene nakon 12-satnog posta. Svi uzorci krvi su dostavljeni i analizirani u istom laboratoriju, od strane istog specijalista medicinske biokemije, koji nije bio upoznat kojoj skupini pojedini uzorci pripadaju. Dio uzorka odmah je iskorišten za analizu standardnih biokemijskih parametara i parametara koštane pregradnje, dok je drugi dio bio centrifugiran, alikvotiran, i pohranjen na  $-80^{\circ}\text{C}$  do analize dp-ucMGP-a.

Razine kalcija, fosfora i alkalne fosfataze mjerene su rutinskim laboratorijskim procedurama, kao i razine hormona s mogućim utjecajem na koštanu homeostazu - globulin koji veže spolne hormone (engl. *sex hormone binding globulin, SHBG*), estradiol, progesteron, testosteron i kortizol. Nadalje,  $\beta$ -CTx, P1NP, intaktni paratireoidni hormon (iPTH) i osteokalcin (Roche Diagnostics, Mannheim, Njemačka) analizirani su imunokemijskom metodom elektrokemiluminiscencije (ECLIA), dok su za analizu B-ALP-a i 25-hidroksi vitamina D (Immunodiagnostic Systems, Frankfurt, Njemačka) korištene spektrofotometrijska metoda i imunokemijska kemiluminiscencija (CLIA). Na kraju, CLIA metoda je korištena i za mjerenje plazmatskih razina dp-ucMGP-a, analiziranih putem IDS-iSYS InaKtif MGP seta (Immunodiagnostic Systems, Frankfurt, Njemačka). Prema naputcima proizvođača, intra-testni koeficijent varijabilnosti (engl. *Coefficient of Variation, CV*) bio je 4,5%, a inter-testni CV bio je 7,9%.



### 3.2.5. Parametri koštane strukture

Nakon uzorkovanja krvi, ispitanici su obavili DXA snimanje kostiju na Zavodu za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma Klinike za unutarnje bolesti KBC-a Split. Koštano snimanje je izvršeno na području lumbalne kralježnice (L<sub>1</sub>-L<sub>4</sub>), ukupnog područja kuka, te na vratu ne-dominantne bedrene kosti. U mjerenjima se koristio denzitometar QDR 4500 C (Hologic, Marlborough, SAD), na kojem se svakodnevno izvršavala kontrola kvalitete mjerenjem anatomskeg modela kralježnice („fantom“). Rezultati su predstavljeni u obliku BMD-a (g/cm<sup>2</sup>), T-score (standardna devijacija od prosjeka mladih zdravih odraslih osoba), i Z-score (standardna devijacija od prosjeka dobno podudarnih odraslih osoba), izračunatih prema referentnim vrijednostima hrvatske populacije. Postavljanje ispitanika, snimanje i prikupljanje podataka provedeno je prema svim principima standardiziranog priručnika kojeg je isporučio proizvođač, a ispitanici su podvrgnuti jednom skeniranju.

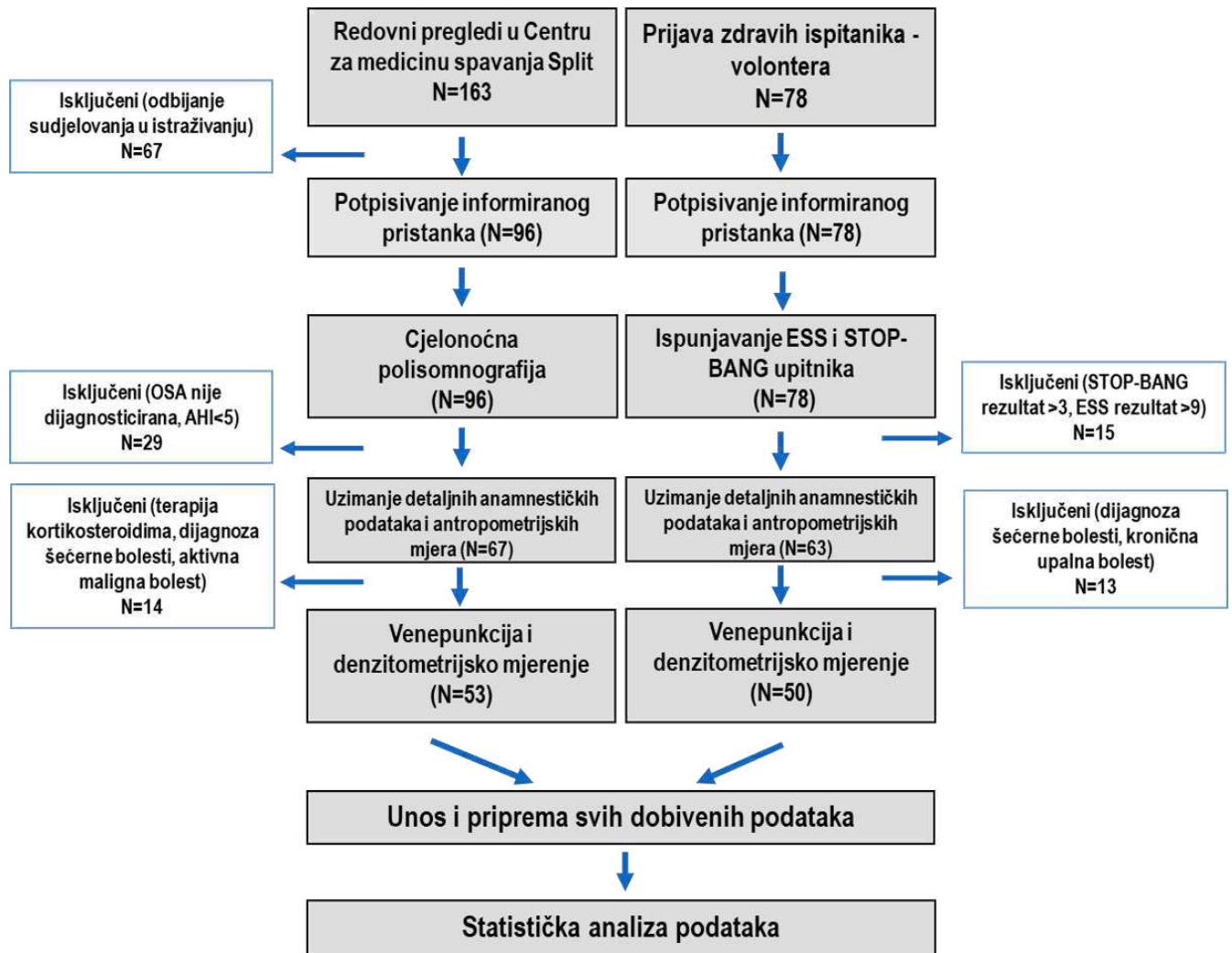
Indeks trabekularne strukture lumbalne kralježnice izražen je TBS indeksom koji je izračunat pomoću softverske aplikacije TBS iNsight (verzija 3.0.2.0, Medimaps Group SA, Ženeva, Švicarska), instalirane na istom denzitometrijskom uređaju. Ukupan TBS indeks je izračunat kao srednja vrijednost mjerenja pojedinačnih kralježaka L<sub>1</sub>-L<sub>4</sub>, koja su se temeljila na analizi sive teksture antero-posteriorne DXA snimke kralježnice. Na takav način je mjerenje izvršeno točno u istom anatomskeg području kao i mjerenje BMD-a. CV za mjerenje BMD-a područja lumbalne kralježnice bio je 1,5%, područja vrata bedrene kosti 1,2%, ukupnog područja kuka 1,3%, dok je CV za mjerenje TBS-a bio 1,6%.

### 3.3. Statistička analiza podataka

Procjena veličine uzorka izračunata je pomoću statističkog programa MedCalc za Windows, verzija 17.9.4. (MedCalc Software, Ostend, Belgija), koristeći t-test za nezavisne uzorke. Za izračun veličine uzorka korišteni su podatci dobiveni pilot istraživanjem na 10 ispitanika odabranih slučajnim odabirom iz populacije pacijenata koji su pregledani u Centru za medicinu spavanja, te 10 kontrolnih ispitanika. Za izračun je korištena vrijednost jutarnjeg dp-ucMGP-a, koji je predstavljao jedan od glavnih ishoda istraživanja. U pacijenata s OSA-om srednja vrijednost bila je  $546,7 \pm 88,8$  pmol/L, a u kontrolnoj skupini  $489,8 \pm 72,3$  pmol/L. Uz  $\alpha$  0,05 te snagu istraživanja od 90% potrebna veličina uzorka je iznosila 44 ispitanika po skupini.

U svrhu provedbe statističke analize podataka također je korišten statistički paket MedCalc za Windows, verzija 17.9.4. (MedCalc Software, Ostend, Belgija). Kontinuirani podatci su prikazani kao srednja vrijednost  $\pm$  standardna devijacija, dok su kategorijske varijable prikazane kao cijeli brojevi i postotci. Kolmogorov-Smirnov test koristio se za procjenu normalnosti distribucije podataka. Za analizu razlika u parametrima koštane strukture dobivenim DXA snimanjem, kao i razlika u biokemijskim nalazima između ispitivane i kontrolne skupine, korišten je t-test za nezavisne uzorke. Korelacije između antropometrijskih, polisomnografskih, laboratorijskih i denzitometrijskih parametara procijenjene su koristeći Pearsonov koeficijent korelacije. Multipla linearna regresija, prilagođena za dob, ITM i opseg struka, korištena je za utvrđivanje značajnih neovisnih prediktora dp-ucMGP-a, dok je multivarijatna logistička regresija provedena za analizu povezanosti TBS indeksa i razina dp-ucMGP-a s pozitivnim OSA statusom. Model je također prilagođen za dob, ITM i opseg struka, a prikladnost modela je ispitana Hosmer Lemeshow testom. Nadalje, ROC analiza (engl. *Receiver Operating Characteristic, ROC*) TBS i dp-ucMGP parametara je korištena za procjenu graničnih vrijednosti i površine ispod krivulje (engl. *Area Under the Curve, AUC*) u

otkrivanju pozitivnog OSA statusa. Određena je osjetljivost, specifičnost, standardna greška i 95% intervali pouzdanosti navedenih testova. Statistička značajnost je postavljena na  $P < 0,05$ .



Slika 2. Hodogram istraživanja

## **4. REZULTATI**

#### 4.1. Antropometrijski parametri i dnevne navike

U istraživanje je bilo uključeno ukupno 53 muških OSA pacijenata, te 50 kontrolnih ispitanika bez značajne razlike u dobi između skupina ( $P=0,389$ ). Promatrajući osnovne antropometrijske značajke ispitanika, nije bilo značajnih razlika u niti jednoj od istraživanih varijabli, izuzev opsega vrata, koji je bio značajno veći u ispitivanoj skupini u odnosu na kontrolnu skupinu ( $40,7 \pm 3,2$  vs.  $38,3 \pm 2,4$  cm;  $P<0,001$ ). Detaljan prikaz antropometrijskih mjera može se vidjeti u **Tablici 3**.

Isto tako, nisu pronađene značajne razlike među skupinama u niti jednoj od varijabli koje su bile uključene u procjenu dnevnih navika, kao što je dnevni unos kalcija ( $P=0,891$ ), unos alkohola ( $P=0,702$ ), navike pušenja ( $P=0,184$ ), te učestalost tjelesne aktivnosti ( $P=0,538$ ). Informacije o dnevnim navikama svih uključenih ispitanika prikazane su u **Tablici 3**.

**Tablica 3.** Osnovna antropometrijska obilježja i dnevne navike u ispitivanih skupina

Parametar	Kontrolna skupina (N=50)	OSA skupina (N=53)	P*
<b>Antropometrijska mjerenja</b>			
Dob (godine)	50,4 ± 7,8	51,8 ± 8,5	0,389
Tjelesna visina (cm)	183,4 ± 6,1	183,2 ± 6,7	0,904
Tjelesna masa (kg)	100,7 ± 10,8	104,2 ± 13,9	0,165
ITM (kg/m <sup>2</sup> )	29,9 ± 2,8	31,0 ± 3,3	0,088
Opseg vrata (cm)	38,3 ± 2,4	40,7 ± 3,2	<0,001
Opseg struka (cm)	105,2 ± 11,1	108,6 ± 11,9	0,127
Opseg bokova (cm)	107,6 ± 7,1	110,1 ± 8,4	0,108
WHR	0,97 ± 0,05	0,98 ± 0,06	0,378
<b>Dnevne navike</b>			
Broj popijenih kava / dan	1,68 ± 1,3	1,42 ± 1,0	0,281
Broj cigareta / dan	7,5 ± 13,4	8,5 ± 14,6	0,701
Broj alkoholnih jedinica / dan	1,90 ± 2,2	2,11 ± 3,2	0,702
Ukupni dnevni unos kalcija (mg)	1030,0 ± 670,9	1048,5 ± 706,2	0,891
Pušači	15 (30,0)	18 (34,0)	0,184
Unos alkoholnih pića > 1 x / tjedan	27 (54,0)	24 (45,3)	0,379
Tjelesna aktivnost			
Nisam tjelesno aktivan	12 (24,0)	18 (34,0)	
1-4 x / mjesec	14 (28,0)	13 (24,5)	0,538
> 4 x / mjesec	24 (48,0)	22 (41,5)	

Podatci su prikazani kao srednja vrijednost ± standardna devijacija ili cijeli broj (postotak).

**ITM**-indeks tjelesne mase; **WHR**-omjer struk-bokovi

\* t-test za nezavisne uzorke ili hi-kvadrat test

## 4.2. Polisomnografski rezultati

Prosječni AHI indeks OSA pacijenata bio je  $43,8 \pm 18,8$  epizoda/sat, dok je ODI bio  $41,0 \pm 19,2$  epizoda/sat. Prosječna saturacija arterijske krvi kisikom tijekom spavanja bila je  $92,7 \pm 3,6$  %, dok je najniža iznosila  $73,7 \pm 11,4$  %. Detaljni polisomnografski rezultati ispitivane skupine, uključujući i prosječne rezultate STOP-BANG i ESS upitnika prikazani su u **Tablici 4**.

**Tablica 4.** Polisomnografski parametri i rezultati ESS i STOP-BANG upitnika u ispitivanoj skupini OSA pacijenata (N=53)

Parametar	OSA skupina
AHI (epizoda/sat)	$43,8 \pm 18,8$
ODI (epizoda/sat)	$41,0 \pm 19,2$
Prosječna SpO <sub>2</sub> (%)	$92,7 \pm 3,6$
Minimalna SpO <sub>2</sub> (%)	$73,7 \pm 11,4$
Ukupno vrijeme hrkanja (min.)	$101,2 \pm 104,9$
Ukupno vrijeme spavanja (sati)	$6,4 \pm 1,1$
Opstruktivska apneja*	$140,7 \pm 132,5$
Centralna apneja*	$35,2 \pm 55,5$
Hipopneja*	$110,8 \pm 69,5$
Indeks srčane frekvencije <sup>†</sup>	$65,4 \pm 9,1$
STOP-BANG rezultat	$5,5 \pm 1,1$
ESS rezultat	$8,3 \pm 4,7$

Podatci su prikazani kao srednja vrijednost  $\pm$  standardna devijacija

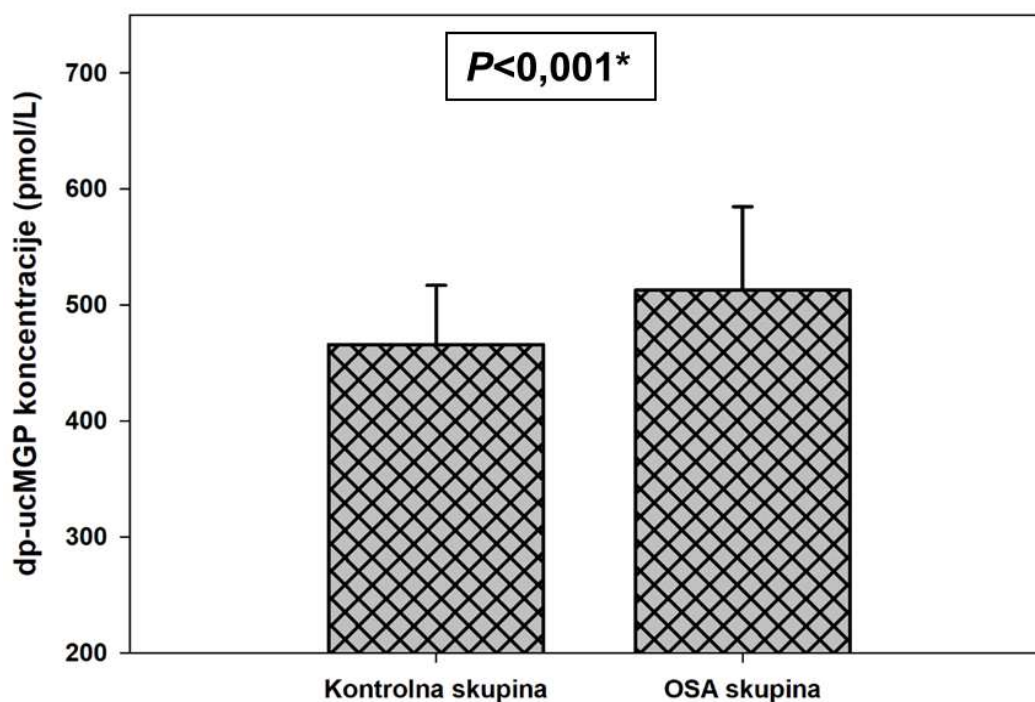
**AHI**-apneja-hipopneja indeks; **ESS**-Epworthova ljestvica pospanosti; **ODI**-desaturacijski indeks; **SpO<sub>2</sub>**-saturacija arterijske krvi kisikom; **STOP-BANG**-engl. *Snoring, Tired, Observed, blood Pressure, BMI, Age, Neck circumference, Gender* upitnik

\* Broj epizoda u ukupnom vremenu spavanja

<sup>†</sup> Prosječna srčana frekvencija tijekom spavanja

### 4.3. Biokemijska analiza

Plazmatske razine dp-ucMGP-a bile su značajno više u OSA pacijenata u usporedbi s kontrolnom skupinom ( $512,7 \pm 71,9$  vs.  $465,8 \pm 50,9$  pmol/L;  $P < 0,001$ ) (**Slika 3**). Nadalje, OSA skupina je imala značajno niže plazmatske koncentracije biomarkera vezanih uz pregradnju kosti u odnosu na kontrolnu skupinu, i to P1NP ( $45,5 \pm 16,9$  vs.  $52,9 \pm 17,0$  mcg/L;  $P = 0,028$ ), osteokalcin ( $19,8 \pm 5,0$  vs.  $23,5 \pm 8,2$  g/L;  $P = 0,007$ ) i  $\beta$ -CTx ( $0,28 \pm 0,1$  vs.  $0,33 \pm 0,12$  ng/mL;  $P = 0,019$ ) (**Tablica 5**). Na kraju, nije bilo statistički značajne razlike između skupina u plazmatskim razinama hormona koji mogu imati utjecaj na koštani metabolizam (SHBG, estradiol, progesteron, testosteron, kortizol).



**Slika 3.** Plazmatske razine inaktivnog matriks Gla proteina (dp-ucMGP) u skupini OSA ispitanika i kontrolnoj skupini

\* t-test za nezavisne uzorke



**Tablica 5.** Parametri koštane pregradnje i hormoni s utjecajem na koštani metabolizam u ispitivanih skupina

Parametar	Kontrolna skupina (N=50)	OSA skupina (N=53)	P*
ALP (U/L)	71,8 ± 15,4	65,1 ± 16,6	0,037
B-ALP (mcg/L)	18,1 ± 6,2	15,7 ± 5,8	0,045
P1NP (mcg/L)	52,9 ± 17,0	45,5 ± 16,9	0,028
Osteokalcin (g/L)	23,5 ± 8,2	19,8 ± 5,0	0,007
β-CTx (ng/mL)	0,33 ± 0,12	0,28 ± 0,1	0,019
iPTH (pmol/L)	5,55 ± 1,9	5,52 ± 1,88	0,942
25-hidroksi vitamin D (nmol/L)	48,4 ± 15,1	52,1 ± 19,0	0,283
Ukupni kalcij (mmol/L)	2,38 ± 0,1	2,4 ± 0,1	0,225
Fosfati (mmol/L)	0,95 ± 0,2	1,0 ± 0,16	0,183
SHBG (nmol/L)	32,1 ± 10,2	30,8 ± 11,4	0,342
Estradiol (pmol/L)	163,8 ± 54,2	178,6 ± 69,1	0,457
Progesteron (nmol/L)	2,58 ± 0,74	2,73 ± 0,62	0,658
Ukupni testosteron (nmol/L)	15,7 ± 6,2	16,9 ± 7,1	0,775
Kortizol (nmol/L)	337,6 ± 63,7	358,5 ± 81,9	0,487

Podatci su prikazani kao srednja vrijednost ± standardna devijacija

**ALP**- alkalna fosfataza; **B-ALP**- koštani izoenzim alkalne fosfataze; **iPTH**- intaktni paratireoidni hormon; **P1NP**- N-terminalni propeptid kolagena tipa I; **β-CTx**- β-izomer C-terminalnog telopeptida kolagena tipa I; **SHBG**- globulin koji veže spolne hormone

\* t-test za nezavisne uzorke

#### 4.4. Parametri koštane čvrstoće – DXA rezultati

Analiza DXA snimki je pokazala da između ispitivane i kontrolne skupine nema značajne razlike u standardnim DXA rezultatima, uključujući lumbalni (L<sub>1</sub>-L<sub>4</sub>) BMD (1,08 ± 0,31 vs. 1,11 ± 0,14 g/cm<sup>2</sup>; *P*=0,517), te BMD ukupnog područja kuka (1,10 ± 0,23 vs. 1,11 ± 0,17 g/cm<sup>2</sup>; *P*=0,866) (**Tablica 6**). Ipak, OSA skupina je imala značajno niže vrijednosti TBS indeksa u odnosu na kontrolne ispitanike (1,24 ± 0,17 vs. 1,36 ± 0,15; *P*<0,001) (**Slika 4**).

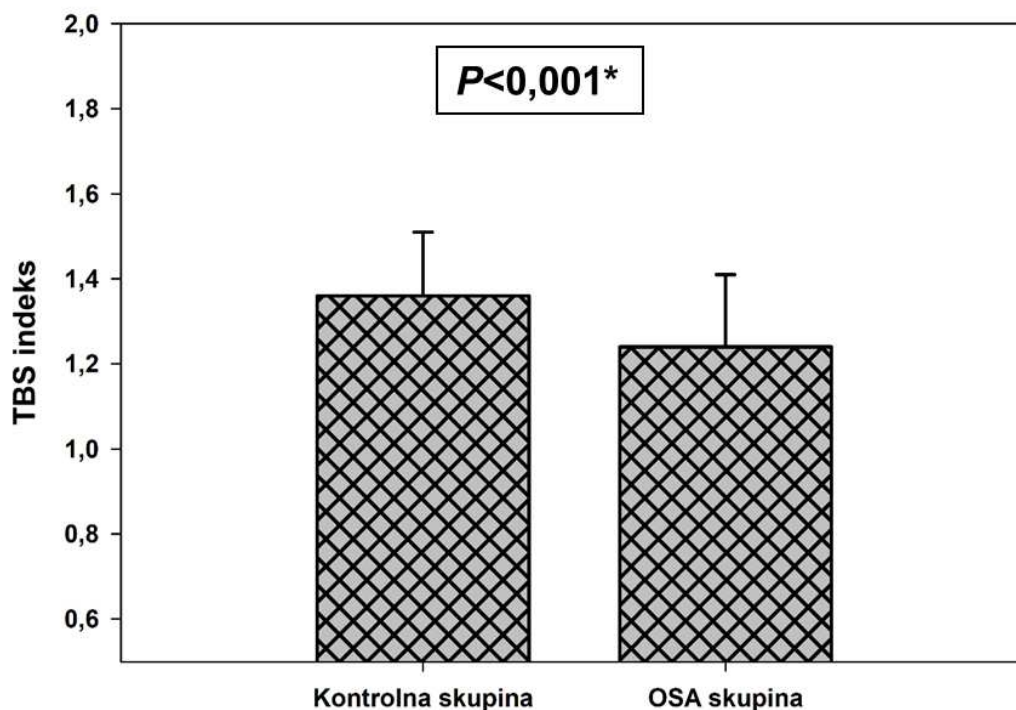
**Tablica 6.** Densitometrijski rezultati u ispitivanih skupina

Parametar	Kontrolna skupina (N=50)	OSA skupina (N=53)	<i>P</i> *
Lumbalni (L <sub>1</sub> -L <sub>4</sub> ) BMD (g/cm <sup>2</sup> )	1,11 ± 0,14	1,08 ± 0,31	0,517
Lumbalni (L <sub>1</sub> -L <sub>4</sub> ) T-score	0,44 ± 1,5	0,21 ± 1,32	0,416
Lumbalni (L <sub>1</sub> -L <sub>4</sub> ) Z-score	0,84 ± 1,51	0,57 ± 1,3	0,423
BMD ukupnog područja kuka (g/cm <sup>2</sup> )	1,11 ± 0,17	1,10 ± 0,23	0,866
T-score ukupnog područja kuka	0,55 ± 1,17	0,50 ± 1,1	0,815
Z-score ukupnog područja kuka	0,92 ± 1,12	0,81 ± 1,11	0,575
BMD vrata bedrene kosti (g/cm <sup>2</sup> )	1,01 ± 0,17	1,00 ± 0,16	0,756
T-score vrata bedrene kosti	0,60 ± 1,23	0,52 ± 1,16	0,743
Z-score vrata bedrene kosti	1,31 ± 1,24	1,29 ± 1,14	0,527

Podatci su prikazani kao srednja vrijednost ± standardna devijacija

**BMD**- koštana mineralna gustoća

\* t-test za nezavisne uzorke



**Slika 4.** Indeks trabekularne kosti (TBS) u skupini OSA ispitanika i kontrolnoj skupini

\* t-test za nezavisne uzorke

## 4.5. Povezanost antropometrijskih, PSG, biokemijskih i DXA rezultata

### 4.5.1. Parametri spavanja i dp-ucMGP

U OSA skupini vrijednosti dp-ucMGP-a su pokazale značajnu pozitivnu korelaciju s AHI indeksom ( $r=0,372$ ;  $P=0,006$ ) (Slika 5A), te su isto tako pozitivno korelirale s ODI vrijednosti ( $r=0,352$ ;  $P=0,009$ ). S druge strane, značajna negativna korelacija je pronađena između dp-ucMGP-a i prosječne  $SpO_2$  ( $r= -0,302$ ;  $P=0,028$ ), kao i minimalne  $SpO_2$  ( $r= -0,273$ ;  $P=0,048$ ). Također, multipla linearna regresija, prilagođena za dob, ITM i opseg struka, je pokazala da AHI indeks ostaje u značajnoj povezanosti s razinama dp-ucMGP-a, koje su bile postavljene kao zavisna varijabla modela ( $\beta \pm SE$ ;  $1,415 \pm 0,49$ ;  $P=0,006$ ).

#### 4.5.2. Antropometrijski, DXA i biokemijski parametri i dp-ucMGP

Nadalje, nakon provjere povezanosti razina dp-ucMGP-a s antropometrijskim, DXA i biokemijskim parametrima cijele ispitivane populacije, rezultati su pokazali značajnu negativnu korelaciju s TBS indeksom ( $r = -0,238$ ;  $P = 0,016$ ), te pozitivnu korelaciju s opsegom vrata ( $r = 0,302$ ;  $P = 0,001$ ) i opsegom struka ( $r = 0,208$ ;  $P = 0,035$ ) (**Tablica 7**). Isto tako, kada su DXA rezultati uneseni u model multiple linearne regresije (prilagođene za dob, ITM i opseg struka), TBS indeks je ostao u značajnoj vezi s razinama dp-ucMGP-a ( $\beta \pm SE$ ;  $-93,77 \pm 38,1$ ;  $P = 0,001$ ), dok niti jedan od laboratorijskih parametara nije pokazao značajnu povezanost.

#### 4.5.3. TBS indeks i ostali parametri

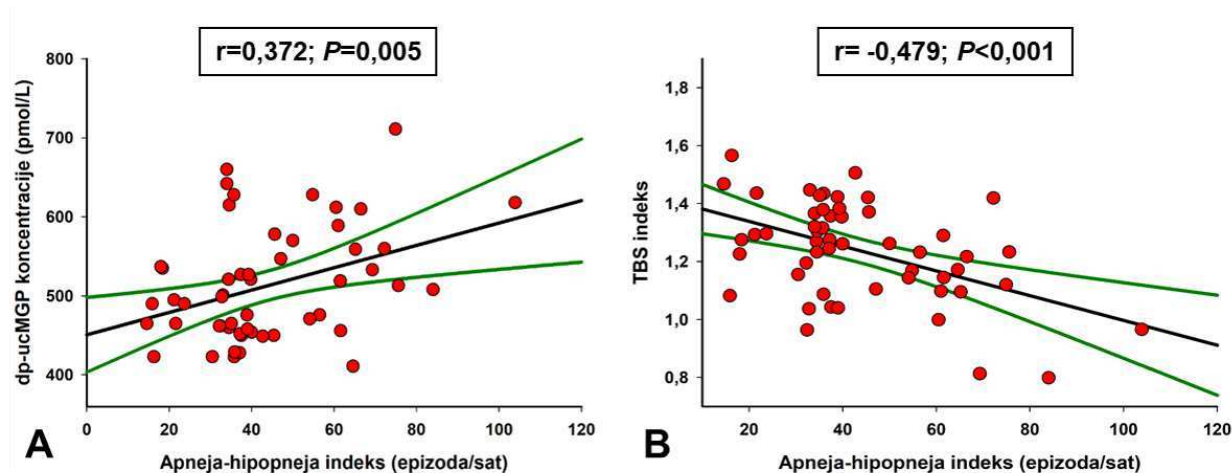
TBS vrijednosti su pokazale snažnu i signifikantnu negativnu korelaciju s većinom antropometrijskih parametara, ali nisu korelirale s niti jednom od DXA i biokemijskih rezultata, izuzev dp-ucMGP-a (**Tablica 7**). Nadalje, u analizi povezanosti s parametrima spavanja OSA skupine, TBS je pokazao značajnu negativnu korelaciju s AHI indeksom ( $r = -0,479$ ;  $P < 0,001$ ) (**Slika 5B**) i ODI ( $r = -0,470$ ;  $P < 0,001$ ) varijablama, dok je pozitivna korelacija pronađena s prosječnom  $SpO_2$  ( $r = -0,302$ ;  $P = 0,028$ ), kao i minimalnom  $SpO_2$  ( $r = -0,273$ ;  $P = 0,048$ ).

**Tablica 7.** Korelacija dp-ucMGP-a i TBS indeksa s odabranim antropometrijskim i biokemijskim parametrima u cjelokupnoj ispitivanoj populaciji (N=103)

Parametar	dp-ucMGP (pmol/L)	TBS indeks
	r (P*)	r (P*)
Dob (godine)	0,119 (0,230)	-0,043 (0,664)
ITM (kg/m <sup>2</sup> )	0,174 (0,780)	-0,589 (<0,001)
Opseg vrata (cm)	0,302 (0,001)	-0,521 (<0,001)
Opseg struka (cm)	0,208 (0,035)	-0,680 (<0,001)
Lumbalni (L <sub>1</sub> -L <sub>4</sub> ) BMD (g/cm <sup>2</sup> )	-0,049 (0,622)	0,137 (0,169)
BMD ukupnog područja kuka (g/cm <sup>2</sup> )	-0,020 (0,845)	-0,111 (0,266)
TBS indeks	-0,238 (0,016)	/
dp-ucMGP (pmol/L)	/	-0,238 (0,016)
ALP (U/L)	-0,069 (0,486)	-0,057 (0,564)
ALP-B (mcg/L)	-0,021 (0,834)	-0,128 (0,199)
P1NP (mcg/L)	-0,082 (0,409)	-0,030 (0,763)
Osteokalcin (g/L)	-0,056 (0,575)	0,169 (0,089)
β-CTx (ng/mL)	-0,109 (0,272)	0,048 (0,627)
25-hidroksi vitamin D (nmol/L)	-0,030 (0,765)	0,111 (0,264)

**TBS**- indeks trabekularne kosti; **dp-ucMGP**- inaktivni matrix Gla protein; **ALP**- alkalna fosfataza; **B-ALP**- koštani izoenzim alkalne fosfataze; **P1NP**- N-terminalni propeptid kolagena tipa I; **β-CTx**- β-izomer C-terminalnog telopeptida kolagena tipa I; **BMD**- koštana mineralna gustoća; **ITM**- indeks tjelesne mase.

\* Pearsonov korelacijski koeficijent



**Slika 5.** Pearsonov korelacijski test između apneja-hipopneja indeksa i koncentracije inaktivnog matrix Gla proteina (dp-ucMGP) (**A**) i indeksa trabekularne kosti (**B**) u OSA skupini (N=53)

Crne linije predstavljaju Pearsonov korelacijski koeficijent, a zelene linije odgovarajuće 95% intervale pouzdanosti.

#### 4.5.4. AHI indeks i ostali parametri

Analizom parametara spavanja OSA ispitanika, pokazano je da AHI indeks statistički značajno korelira s varijablama BMD-a ukupnog područja kuka ( $r=0,370$ ;  $P=0,006$ ) i P1NP-a ( $r=0,337$ ;  $P=0,014$ ), dok nije utvrđena povezanost s većinom ostalih laboratorijskih i DXA parametara. Detaljan prikaz korelacije AHI indeksa i ostalih PSG, antropometrijskih, biokemijskih i DXA rezultata je u **Tablici 8**.

**Tablica 8.** Korelacija AHI indeksa s odabranim parametrima u OSA pacijenata (N=53)

Parametar	AHI (epizode/sat) r (P*)
Dob (godine)	-0,094 (0,501)
ITM (kg/m <sup>2</sup> )	0,270 (0,050)
Opseg vrata (cm)	0,230 (0,097)
Opseg struka (cm)	0,342 (0,012)
ODI (epizode/sat)	0,975 (<0,001)
Prosječna SpO <sub>2</sub> (%)	-0,767 (<0,001)
Minimalna SpO <sub>2</sub> (%)	-0,767 (<0,001)
Ukupno vrijeme spavanja (sati)	0,031 (0,824)
Lumbalni (L <sub>1</sub> -L <sub>4</sub> ) BMD (g/cm <sup>2</sup> )	-0,091 (0,515)
BMD ukupnog područja kuka (g/cm <sup>2</sup> )	0,370 (0,006)
ALP (U/L)	0,001 (0,994)
ALP-B (mcg/L)	0,200 (0,151)
P1NP (mcg/L)	0,337 (0,014)
Osteokalcin (g/L)	0,027 (0,845)
β-CTx (ng/mL)	0,119 (0,397)
25-hidroksi vitamin D (nmol/L)	-0,026 (0,855)

**AHI**- apneja-hipopneja indeks; **ALP**- alkalna fosfataza; **B-ALP**- koštani izoenzim alkalne fosfataze; **P1NP**- N-terminalni propeptid kolagena tipa I; **β-CTx**- β-izomer C-terminalnog telopeptida kolagena tipa I; **BMD**- koštana mineralna gustoća; **ODI**- desaturacijski indeks; **SpO<sub>2</sub>**- saturacija arterijske krvi kisikom; **ITM**- indeks tjelesne mase.

\* Pearsonov korelacijski koeficijent

#### 4.6. Neovisni prediktori pozitivnog OSA statusa

Multivarijatna logistička regresija, prilagođena za dob, ITM, te opseg vrata i struka je korištena u svrhu određivanja nezavisnih prediktora pozitivnog OSA statusa. Analizom se pokazalo da su značajni prediktori pozitivnog OSA statusa TBS indeks (OR 0,001;  $P=0,002$ ) i dp-ucMGP (OR 1,01;  $P=0,019$ ), uz opsege vrata i struka. Detaljan prikaz modela se može vidjeti u **Tablici 9**.

**Tablica 9.** Multivarijatna logistička regresija nezavisnih prediktora pozitivnog OSA statusa

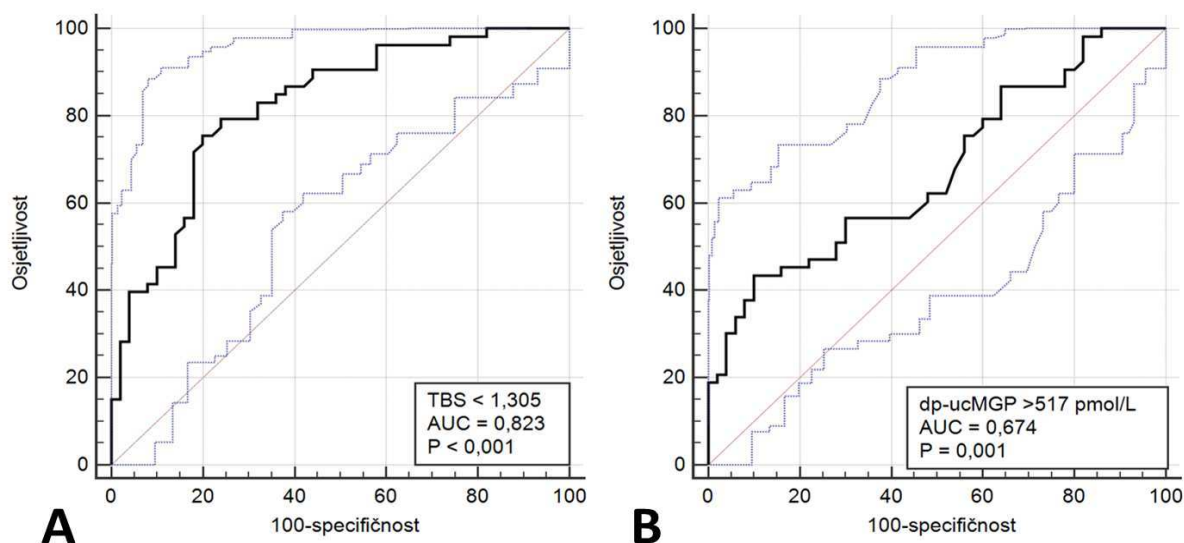
Parametar	OR	95% CI	P
Dob (godine)	0,999	0,939 – 1,063	0,986
ITM (kg/m <sup>2</sup> )	0,908	0,706 – 1,168	0,452
Opseg struka (cm)	0,923	0,858 – 0,994	0,034
Opseg vrata (cm)	1,409	1,096 – 1,810	0,007
TBS indeks	0,001	0,0002 – 0,086	0,002
dp-ucMGP (pmol/L)	1,010	1,001 – 1,019	0,019

**95% CI**- 95% interval pouzdanosti; **ITM**- indeks tjelesne mase; **dp-ucMGP**- inaktivni matriks Gla protein; **TBS**- indeks trabekularne kosti; **OR**- prilagođeni omjer izgleda.

#### 4.7. ROC analiza dijagnostičkih testova

Koristeći ROC analizu, rezultati su pokazali da se granična vrijednost za TBS indeks <1,305 može upotrijebiti za otkrivanje pozitivnog OSA statusa, uz osjetljivost testa od 75,5% te specifičnost od 80,0% (**Slika 6A**). AUC analize bio je 0,823 (SE 0,041; 95% CI 0,735 – 0,891;  $P<0,001$ ). Nadalje, jednakim testiranjem koncentracija dp-ucMGP-a, pokazalo se da je AUC bio 0.674 (SE 0,053; 95% CI 0,574 – 0,763;  $P=0,001$ ), te je granična vrijednost od >517 pmol/L pružila osjetljivost od 43,4% i specifičnost od 90,0% za otkrivanje OSA-e (**Slika 6B**).





**Slika 6.** ROC analiza indeksa trabekularne kosti (TBS) (**A**) i koncentracija inaktivnog matriks Gla proteina (dp-ucMGP) (**B**) u otkrivanju pozitivnog OSA statusa. Dijagonalna linija predstavlja referentnu liniju, dok je testna linija crne boje. Točkaste linije predstavljaju 95% intervale pouzdanosti.

#### 4.8. Analiza ispitivanih parametara OSA pacijenata prema ITM vrijednosti

Pretilih OSA pacijenata ( $ITM > 30 \text{ kg/m}^2$ ) bilo je 32, dok je onih koji nisu pretili ( $ITM < 30 \text{ kg/m}^2$ ) bilo 21. Nije bilo statistički značajne razlike u AHI indeksu ( $46,7 \pm 21,3$  vs.  $39,5 \pm 13,8$  epizoda/sat;  $P=0,141$ ), niti u razinama dp-ucMGP-a ( $513,6 \pm 76,5$  vs.  $511,5 \pm 65,9$  pmol/L;  $P=0,915$ ) između navedenih skupina (**Tablica 10**). Međutim, analiza je pokazala da su pretili OSA pacijenti imali značajno niže vrijednosti TBS indeksa ( $1,17 \pm 0,18$  vs.  $1,33 \pm 0,08$ ;  $P < 0,001$ ) (**Slika 7**), i razina vitamina D ( $47,4 \pm 18,1$  vs.  $59,3 \pm 18,4$  nmol/L;  $P=0,025$ ), dok su koncentracije  $\beta$ -CTx-a bile više u odnosu na ne-pretile OSA ispitanike ( $0,31 \pm 0,11$  vs.  $0,23 \pm 0,09$  ng/mL;  $P=0,015$ ) (**Tablica 10**).

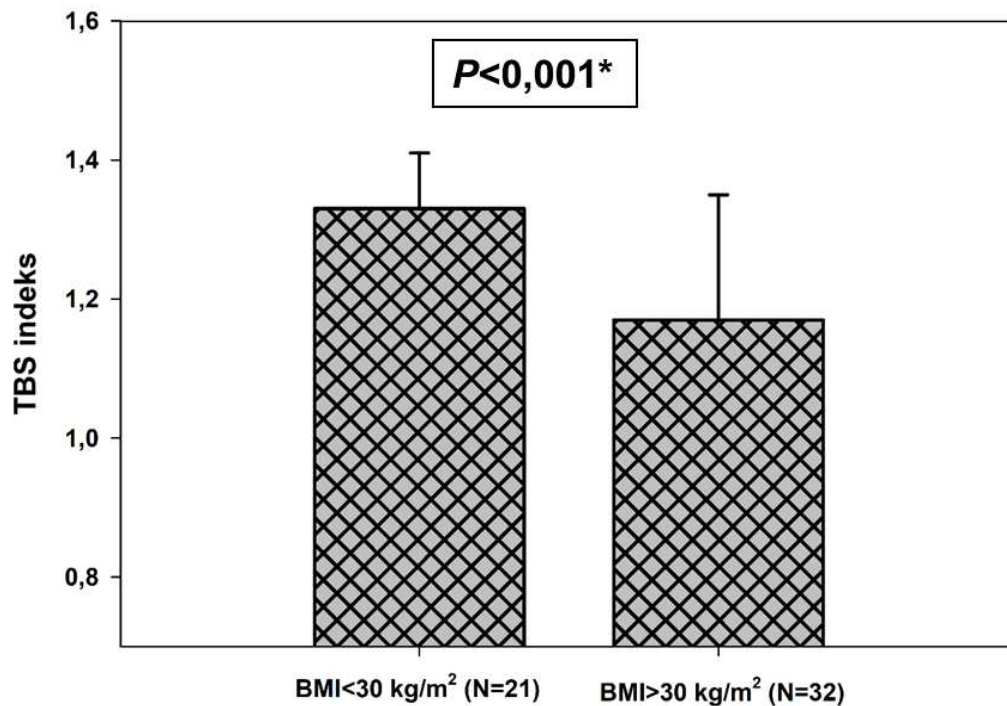
**Tablica 10.** Odabrani parametri OSA pacijenata podijeljenih prema ITM vrijednosti (N=53)

Parametar	Ne-pretili	Pretili	P*
	ITM<30 kg/m <sup>2</sup> (N=21)	ITM>30 kg/m <sup>2</sup> (N=32)	
Dob (godine)	53,0 ± 8,9	51,0 ± 8,2	0,415
AHI (epizoda/sat)	39,5 ± 13,8	46,7 ± 21,3	0,141
dp-ucMGP (pmol/L)	511,5 ± 65,9	513,6 ± 76,5	0,915
BMD ukupnog područja kuka (g/cm <sup>2</sup> )	1,08 ± 0,17	1,11 ± 0,26	0,622
BMD vrata bedrene kosti (g/cm <sup>2</sup> )	0,99 ± 0,16	1,00 ± 0,15	0,798
Lumbalni (L <sub>1</sub> -L <sub>4</sub> ) BMD (g/cm <sup>2</sup> )	1,08 ± 0,31	1,08 ± 0,32	0,987
B-ALP (mcg/L)	14,5 ± 2,96	16,5 ± 6,94	0,142
P1NP (mcg/L)	40,8 ± 10,6	48,6 ± 19,6	0,069
Osteokalcin (g/L)	19,1 ± 4,5	20,3 ± 5,4	0,413
β-CTx (ng/mL)	0,23 ± 0,09	0,31 ± 0,11	0,015
25-hidroksi vitamin D (nmol/L)	59,3 ± 18,4	47,4 ± 18,1	0,025

Podatci su prikazani kao srednja vrijednost ± standardna devijacija

**AHI**- apneja-hipopneja indeks; **dp-ucMGP**- inaktivni matriks Gla protein; **BMD**- koštana mineralna gustoća; **B-ALP**- koštani izoenzim alkalne fosfataze; **P1NP**- N-terminalni propeptid kolagena tipa I; **β-CTx**- β-izomer C-terminalnog telopeptida kolagena tipa I

\* t-test za nezavisne uzorke



**Slika 7.** Indeks trabekularne kosti (TBS) u skupini pretilih ( $\text{ITM} > 30 \text{ kg/m}^2$ ) i ne-pretilih ( $\text{ITM} < 30 \text{ kg/m}^2$ ) OSA ispitanika

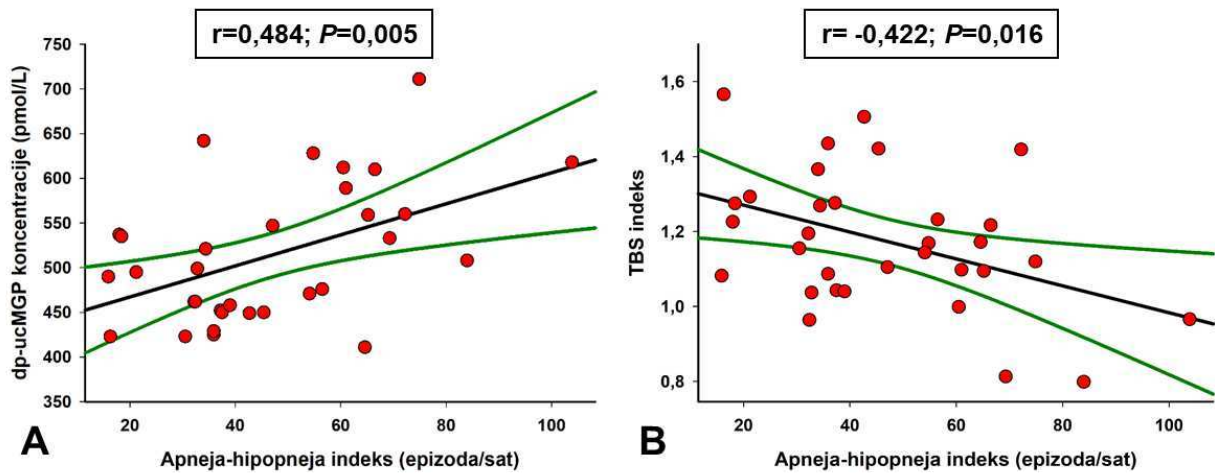
\* t-test za nezavisne uzorke

Nadalje, u pretiloj OSA skupini AHI indeks je značajno pozitivno korelirao s koncentracijama dp-ucMGP-a ( $r=0,484$ ;  $P=0,005$ ) (**Slika 8A**), dok je s TBS indeksom pokazao značajnu negativnu korelaciju ( $r= -0,422$ ;  $P=0,016$ ) (**Slika 8B**). Analizom povezanosti AHI indeksa s ostalim parametrima, utvrđena je još i značajna korelacija s vrijednostima BMD-a ukupnog područja kuka ( $r=0,422$ ;  $P=0,011$ ) (**Tablica 11**).

**Tablica 11.** Korelacija AHI indeksa s odabranim parametrima u pretilih OSA pacijenata (ITM>30 kg/m<sup>2</sup>; N=32)

Parametar	AHI (epizode/sat) r (P*)
Dob (godine)	-0,206 (0,257)
Lumbalni (L <sub>1</sub> -L <sub>4</sub> ) BMD (g/cm <sup>2</sup> )	0,116 (0,528)
BMD ukupnog područja kuka (g/cm <sup>2</sup> )	0,442 (0,011)
BMD vrata bedrene kosti (g/cm <sup>2</sup> )	0,225 (0,215)
ALP-B (mcg/L)	0,160 (0,381)
P1NP (mcg/L)	0,365 (0,040)
Osteokalcin (g/L)	0,004 (0,982)
β-CTx (ng/mL)	0,138 (0,451)
25-hidroksi vitamin D (nmol/L)	0,127 (0,489)

**AHI**- apneja-hipopneja indeks; **BMD**- koštana mineralna gustoća; **B-ALP**- koštani izoenzim alkalne fosfataze; **P1NP**- N-terminalni propeptid kolagena tipa I; **β-CTx**- β-izomer C-terminalnog telopeptida kolagena tipa I.  
\* Pearsonov korelacijski koeficijent



**Slika 8.** Korelacija između apneja-hipopneja indeksa i koncentracije inaktivnog matrix Gla proteina (dp-ucMGP) (A) i rezultata trabekularne kosti (TBS) (B) u pretiloj OSA skupini (N=32)

Crne linije predstavljaju Pearsonov korelacijski koeficijent, a zelene linije odgovarajuće 95% intervale pouzdanosti.

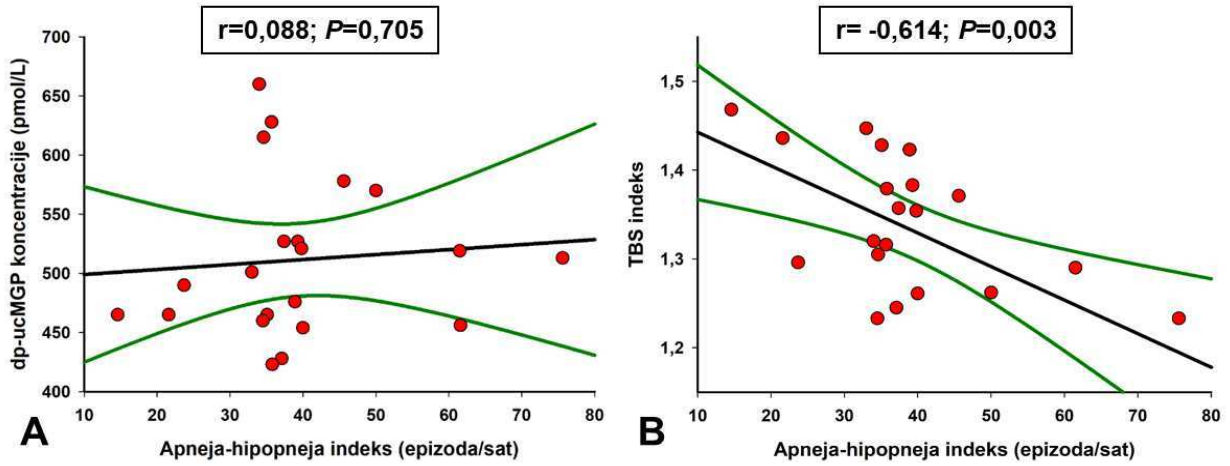
Isto tako, izvršena je i analiza povezanosti AHI indeksa s odabranim parametrima ne-pretilo OSA skupine, koja je pokazala značajnu negativnu korelaciju s TBS indeksom ( $r= -0,614$ ;  $P=0,003$ ) (Slika 9B), ali ne i korelaciju s razinama dp-ucMGP-a ( $r=0,088$ ;  $P=0,705$ ) (Slika 9A). AHI indeks nije značajno korelirao s niti jednom od ostalih varijabli, izuzev vrijednosti lumbalnog (L<sub>1</sub>-L<sub>4</sub>) BMD-a ( $r= -0,602$ ;  $P=0,003$ ) (Tablica 12).

**Tablica 12.** Korelacija AHI indeksa s odabranim parametrima u ne-pretilih OSA pacijenata (ITM<30 kg/m<sup>2</sup>; N=21)

Parametar	AHI (epizode/sat) r (P*)
Dob (godine)	0,207 (0,369)
Lumbalni (L <sub>1</sub> -L <sub>4</sub> ) BMD (g/cm <sup>2</sup> )	-0,602 (0,003)
BMD ukupnog područja kuka (g/cm <sup>2</sup> )	0,072 (0,756)
BMD vrata bedrene kosti (g/cm <sup>2</sup> )	-0,032 (0,889)
ALP-B (mcg/L)	0,254 (0,265)
P1NP (mcg/L)	0,063 (0,787)
Osteokalcin (g/L)	0,014 (0,950)
β-CTx (ng/mL)	-0,161 (0,484)
25-hidroksi vitamin D (nmol/L)	-0,179 (0,438)

**AHI**- apneja-hipopneja indeks; **BMD**- koštana mineralna gustoća; **B-ALP**- koštani izoenzim alkalne fosfataze; **P1NP**- N-terminalni propeptid kolagena tipa I; **β-CTx**- β-izomer C-terminalnog telopeptida kolagena tipa I.

\* Pearsonov korelacijski koeficijent



**Slika 9.** Korelacija između apneja-hipopneja indeksa i koncentracije inaktivnog matrix Gla proteina (dp-ucMGP) (A) i rezultata trabekularne kosti (TBS) (B) u ne-preti loj OSA skupini (N=21)

Crne linije predstavljaju Pearsonov korelacijski koeficijent, a zelene linije odgovarajuće 95% intervale pouzdanosti.

## **5. RASPRAVA**



Provedeno istraživanje je, prema našim saznanjima, prvo koje je promatralo plazmatske vrijednosti dp-ucMGP-a u pacijenata s dijagnosticiranom OSA-om. MGP je protein koji je opisan kao jedan od najsnažnijih inhibitora vaskularne kalcifikacije s velikim afinitetom za hidroksiapatit (212). Pojačana sinteza MGP-a je opisana i u angiogenezi, dok se njegove povišene koncentracije povezuju s razvojem endotelne disfunkcije (213,224). Jedan od glavnih rezultata ove studije je pokazao da su razine dp-ucMGP-a značajno više u pacijenata s OSA-om u odnosu na kontrolne ispitanike. Moguće objašnjenje ovog nalaza se nalazi u prisutnosti endotelne disfunkcije u pacijenata s OSA-om. Naime, studije su pokazale da intermitentna hipoksija i fragmentacija spavanja, ključne značajke OSA-e, povišuju rizik za razvoj endotelne disfunkcije (236). Važno je napomenuti da je prosječni AHI indeks naših ispitanika bio  $43,8 \pm 18,8$  epizoda/sat, što ukazuje na to da je većina imala teški oblik OSA-e, a time i teži stupanj endotelne disfunkcije, kao i više razine dp-ucMGP-a. Isto tako, multiplom linearnom regresijom je utvrđeno da je AHI indeks neovisni prediktor razina dp-ucMGP-a, što ide u prilog hipotezi da se dp-ucMGP može smatrati relevantnim pokazateljem endotelne disfunkcije.

Analiza daljnjih parametara koštanog metabolizma je pokazala da su vrijednosti TBS indeksa značajno niže u OSA pacijenata u odnosu na kontrole, te da nisu bile povezane s niti jednim biomarkerom koštane pregradnje, izuzev dp-ucMGP-a. Animalne studije su opisale MGP kao važnog regulatora koštane izgradnje, budući da su miševi s inaktiviranim genom za sintezu MGP-a razvili nisku koštanu masu zbog smanjene funkcije osteoblasta i razvoja vaskularnih kalcifikacija (230-232). Budući da MGP ima funkciju zaštite arterijske stijenke od stvaranja kalcifikacija, možemo pretpostaviti da posljedično tome služi i kao zaštitnik koštane mase. Međutim, niske vrijednosti TBS indeksa su povezane i s autoimunim poremećajima, te povišenjem upalnih markera, sedimentacije eritrocita i C-reaktivnog proteina (CRP) (237,238). Pored toga, velike populacijske studije navode da je visoko osjetljivi CRP (engl. *High Sensitivity CRP*, *hs-CRP*) neovisno povezan sa slabom čvrstoćom kostiju i visokim rizikom od

prijeloma (239,240), dok je OSA povezana s povišenim razinama upalnih parametara, uključujući CRP i hs-CRP (87,241). Sukladno tome, sistemska upala, uz hipoksiju i aktivaciju simpatičkog živčanog sustava može objasniti pogoršanje trabekularne mikroarhitekture u OSA pacijenata. Razvoj sistemske upale i endotelne disfunkcije bi tako mogli biti ključne zajedničke značajke koje povezuju visoke razine dp-ucMGP-a s nižim TBS indeksom, čiju smo vezu i potvrdili u korelacijskoj i regresijskoj analizi. Nadalje, uzimajući u obzir i značajnu negativnu korelaciju TBS-a i AHI indeksa u našoj studiji, možemo pretpostaviti da pacijenti s OSA-om, a posebice oni s teškim stupnjem bolesti, imaju veći rizik od prijeloma kostiju u usporedbi sa zdravom populacijom (87,177,178,241).

Pretraživanjem literature je pronađeno samo jedno istraživanje koje je promatralo koštanu mikroarhitekturu i BMD u pacijenata s OSA-om, ali je ta populacija imala i pridruženu šećernu bolest tipa 2 (181). Nimitphong i sur. su u studiju uključili ukupno 81 ispitanika (33 muškarca i 48 žena), od čega je 65 imalo dijagnozu OSA-e i šećerne bolesti. Rezultati su bili sukladni s našim nalazima, budući da je teži stupanj OSA-e bio značajno povezan s nižim TBS vrijednostima u muškaraca. Zanimljivo, analiza na postmenopauzalnim ženskim ispitanicama je pokazala da je viši AHI indeks bio prediktor većih TBS vrijednosti. Međutim, navedeno istraživanje ima više manjkavosti - nisu uključili odgovarajuću kontrolnu skupinu, te OSA nije bila dijagnosticirana PSG uređajem, već prijenosnim monitorom (WatchPAT 200, Itamar Medical, Caesarea, Izrael). Nadalje, budući da su ispitanici imali i šećernu bolest, postoji mogućnost da su promjene na koštanom sustavu velikim dijelom bile uzrokovane šećernom bolesti, a ne OSA-om. Isto tako, medijan AHI indeksa im je bio 10,7 (6,3-22,6), što su značajno niže vrijednosti od onih u našoj studiji, iako su unatoč tome dobiveni slični rezultati.

Naše istraživanje nije potvrdilo značajne razlike u BMD i T-score vrijednostima lumbalne (L<sub>1</sub>-L<sub>4</sub>) kralježnice, ukupnog područja kuka, kao ni vrata bedrene kosti između ispitivane i kontrolne skupine. Prethodne studije imaju oprečne rezultate o nalazima BMD-a i

rizika za razvoj snižene koštane mase i osteoporoze u OSA-i. Tako su dvije velike kohortne studije iz Taiwana prikazale povećan rizik nastanka osteoporoze u OSA pacijenata u usporedbi s općom populacijom (205,206), dok isto tako postoje i studije koje potvrđuju hipotezu o zaštitnom utjecaju OSA-e na koštanu masu (208,209). Također, Eimar i sur. (211) te Upala i sur. (210) su potvrdili navedene teze o vjerojatoj povezanosti OSA-e i osteoporoze u sustavnim preglednim člancima, na temelju pregleda presječnih studija koje su utvrdile niži BMD ili povišene markere koštane resorpcije u OSA skupini, te meta-analize napravljene na dvije navedene kohortne studije. Ipak, posebno se napominje da su podatci nedosljedni, s visokim rizikom od pristranosti, te da se zaključci moraju uzeti s oprezom. Postoji vjerojatnost da studije u kojima je potvrđena povezanost OSA-e i osteoporoze imaju različite sustavne pogreške reflektirane od strane nepoznatih zbunjujućih varijabli, odabira uzorka pacijenata, te neusklađenih ispitivanih i kontrolnih skupina (205,206).

Sukladno tome, provedeno je više presječnih studija u kojima je utvrđen niži BMD u OSA pacijenata u odnosu na kontrole, ali se u njima mogu primijetiti ključni elementi koji se razlikuju od naše studije. Hamada i sur. su koristili kompjutoriziranu tomografiju za mjerenje BMD-a u OSA pacijenata umjesto denzitometrije (242), dok su Wang i sur. istraživali stariju populaciju pacijenata s pridruženom OSA-om i KOPB-om, od kojih su neki bili na terapiji kortikosteroidima (243) Dvije studije provedene u Turskoj su koristile manji uzorak, te kontrolna skupina nije bila prilagođena za ITM vrijednosti (244,245), dok su Yuceege i sur. ispitivali mlađu OSA populaciju, bez odgovarajuće kontrolne skupine zdravih ispitanika (246). Moguće je da su navedene razlike u etničkoj pripadnosti populacije, te ustroju i provođenju studije mogle utjecati na dodatno sniženje BMD vrijednosti u OSA ispitanika.

S druge strane, neke eksperimentalne studije na animalnim OSA modelima govore u prilog zaštitnog djelovanja intermitentne hipoksije na BMD vrijednosti putem nekoliko različitih mehanizama, kao što su aktivacija mezenhimalnih stanica, aktivacija osteogeneze

kroz HIF-1 $\alpha$  i VEGF ekspresiju, te inhibitornu ulogu citokin-inducirajućeg NO-a na funkciju osteoblasta i osteoklasta (197-200). Nekoliko kliničkih studija također podupire navedene eksperimentalne nalaze. Sforza i sur. su utvrdili povišene vrijednosti lumbalnog i femoralnog BMD-a u starijih OSA pacijenata u odnosu na kontrolne ispitanike (209), dok su Chen i sur. pokazali povišene vrijednosti BMD-a na ukupnom području kuka, kao i pozitivnu korelaciju s AHI indeksom u teških OSA pacijenata (247). Slično tome, Tng i sur. su na ženskoj populaciji utvrdili povezanost povišenih vrijednosti BMD-a vrata bedrene kosti i OSA-e, ali bez korištenja PSG za potvrdu dijagnoze, što određuje veliku manjkavost studije (208).

Nadalje, neke studije nisu pokazale razlike u BMD-u između OSA pacijenata različitog stupnja bolesti (248,249), kao ni između OSA pacijenata i pridružene kontrolne skupine usklađene prema pretilosti ispitanika (207). Promatrajući BMD vrijednosti, rezultati ovih studija se najviše poklapaju s našim istraživanjem. Izostanak razlika u BMD vrijednosti između skupina u našem istraživanju može biti prisutan zbog nekoliko različitih razloga, uz već ranije spomenut potencijalni zaštitni MGP učinak. Postoji mogućnost da su odstupanja BMD vrijednosti vidljiva tek nakon više godina kroničnog, progresivnog oštećivanja koštanog tkiva (187), što znači da je naša populacija, stara približno 50 godina, još uvijek premlada da razvije takve promjene. Nadalje, mi ne možemo biti sigurni koliko je vremena prošlo od nastupa OSA-e u naših pacijenata, do dijagnoze koju smo potvrdili na početku studije. Time ne možemo znati vremenski odmak u kojem je OSA već utjecala na koštani metabolizam ispitanika, te možemo pretpostaviti da postoje oscilacije među pacijentima u trenutku dijagnoze koje nismo u mogućnosti utvrditi. Isto tako, zbog očigledne razlike u kvaliteti koštane mikroarhitekture između skupina, možemo pretpostaviti da TBS indeks, kao i dp-ucMGP spadaju u rane prediktore koštanih oštećenja u OSA pacijenata.

Važni pokazatelji tijekom koštanog metabolizma su i markeri koštane pregradnje. Analiza njihovih koncentracija u našem istraživanju sugerira smanjenje cjelokupnog procesa

koštane pregradnje, budući da su markeri koštane izgradnje, kao i markeri koštane resorpcije bili sniženi u OSA skupini u odnosu na kontrolne ispitanike. Također, niti jedan od markera nije pokazao korelaciju s težinom bolesti, izuzev čimbenika izgradnje kosti, P1NP-a, koji je pozitivno korelirao s AHI indeksom. Eimar i sur. su analizirali sedam presječnih studija koje su istraživale markere koštane pregradnje u sustavnom preglednom članku, te su zaključili da postoje velike razine nedosljednosti u rezultatima (211). Neke od analiziranih studija su pokazale pozitivnu povezanost OSA-e i biomarkera koštane resorpcije (244,250), te negativnu korelaciju AHI indeksa i osteokalcina (244), što ukazuje na povećane koštane resorpcijske aktivnosti. Ipak, ostale analizirane studije navode izostanak ikakve povezanosti OSA-e i markera koštane izgradnje, kao i markera koštane razgradnje (242,245,246). Važno je napomenuti da mogući razlozi visoke varijabilnosti u navedenim rezultatima leže u različitoj rasnoj pripadnosti ispitivane populacije, drugačijem prikupljanju i skladištenju uzoraka ili korištenih analitičkih metoda, ili pak zbog značajne biovarijabilnosti u razinama samih markera.

Istražili smo i povezanost TBS indeksa i koncentracija dp-ucMGP-a s antropometrijskim mjerama. Rezultati su pokazali izrazitu negativnu korelaciju TBS indeksa i ITM-a, opsega struka, te opsega vrata. Dobiveni rezultati potvrđuju zaključke više različitih studija koje su utvrdile značajno pogoršanje trabekularne strukture kosti u pretiloj populaciji, definiranoj prema ITM-u ili opsegu struka (251,252). Nadalje, snažan utjecaj tjelesne mase i OSA-e na trabekularnu strukturu u ovoj studiji smo potvrdili i značajno nižim TBS-om pretilih OSA ispitanika u odnosu na ne-pretile pacijente, te značajnom negativnom korelacijom s AHI indeksom u obje skupine OSA ispitanika. Uzimajući u obzir navedene rezultate, te usklađenost naše kontrolne i ispitivane skupine po svim parametrima koji bi mogli neovisno utjecati na koštanu kvalitetu, možemo pretpostaviti da je pretilost rizični čimbenik koji će u pacijenata s

OSA-om dodatno negativno utjecati na koštanu mikroarhitekturu i posljedično povećati rizik od patoloških prijeloma, posebice u pacijenata s težim stupnjevima bolesti.

S druge strane, razine dp-ucMGP-a su također pokazale značajnu korelaciju s opsegom struka, ali ne i s ITM vrijednosti. Isto tako, nije bilo razlika u razinama dp-ucMGP-a između pretilih i ne-pretilih OSA populacije, dok je pozitivnu korelaciju AHI indeksom dp-ucMGP pokazao samo u pretiloj skupini OSA ispitanika. Sukladno našim rezultatima, Shea i sur. su istraživali povezanost vitamina K i značajki osteoartritisa u kohorti starijih muškaraca i žena (N=791), te isto tako nisu pronašli značajne razlike u ITM vrijednosti u odnosu na kvartile koncentracija dp-ucMGP-a (253). Temeljem navedenih rezultata možemo pretpostaviti da razine dp-ucMGP-a više koreliraju sa stupnjem OSA-e u pretilih pacijenata posljedično snažnijem razvoju upale i endotelne disfunkcije, karakterističnima za pretilost i metabolički sindrom (254).

Analizom denzitometrijskih rezultata i stupnja bolesti, utvrdili smo pozitivnu korelaciju BMD-a ukupnog područja kuka i AHI indeksa u cjelokupnoj OSA populaciji, te u pretiloj OSA skupini, dok je negativna korelacija utvrđena u ne-pretilih OSA pacijenata s lumbalnim (L<sub>1</sub>-L<sub>4</sub>) BMD vrijednostima. Navedeni rezultati potiču hipotezu o intermitentnoj hipoksiji kao poticaju na stvaranje kosti, ali isto tako se poklapaju sa saznanjima različitih studija koje navode više BMD vrijednosti u pretiloj populaciji i povećanu tjelesnu masu kao zaštitni čimbenik koštane mase uslijed povišenog mehaničkog opterećenja (255). U našem slučaju, postoji mogućnost da je pretilost čimbenik koji može služiti kao protuteža smanjivanju koštane mase uzrokovano učincima OSA-e, uzevši u obzir da u ne-pretiloj OSA skupini AHI indeks negativno korelira s lumbalnim (L<sub>1</sub>-L<sub>4</sub>) BMD-om.

Ono što dodatno potvrđuje teze o TBS indeksu i dp-ucMGP-u kao prediktorima koštanih oštećenja u OSA-i su i rezultati multivarijatne logističke regresije, čime smo utvrdili da su TBS indeks, kao i dp-ucMGP neovisni i značajni prediktori pozitivnog statusa bolesti,

neovisno o dobi i antropometrijskim karakteristikama. Sukladno tome, napravljena je i ROC analiza kojom smo analizirali dijagnostičke performanse navedenih pokazatelja, te je utvrđeno da TBS ima bolje odlike dijagnostičkog testa u odnosu na dp-ucMGP, te s graničnom vrijednosti od  $<1,305$  pruža osjetljivost od 75,5% i specifičnost od 80,0%. Rezultati govore u prilog tome da, ukoliko promatramo TBS vrijednosti naše kontrolne skupine kao referentne vrijednosti, nije izgledno da će se u OSA ispitanika mjeriti normalne ili više vrijednosti TBS-a, i to posebice u onih s teškim oblicima bolesti.

Cjelokupno promatrajući rezultate ove disertacije, izgledno je da OSA ipak ima negativan utjecaj na koštano tkivo posredstvom brojnih ranije opisanih čimbenika, te da su ti mehanizmi snažniji i brojniji od onih koji potiču izgradnju kosti. Moguće je da se smanjenje koštane mase javlja tek u kasnijim fazama neliječene bolesti, nakon više godina repetitivnih mikro-oštećenja, te da štetni utjecaj OSA-e ima brži učinak na koštanu kvalitetu. Stoga se TBS može promatrati kao raniji prediktor oštećenja kosti u usporedbi s BMD-om, što je logično ukoliko promatramo trabekularnu kost kao površinski veći tip koštanog tkiva u odnosu na volumen, te značajno veću metaboličku aktivnost u odnosu na kortikalnu kost koja čini glavninu koštane mase. Posljedično metaboličkoj aktivnosti, aktivacija osteoklasta i supresija osteoblasta će najbrži razarajući učinak imati upravo na koštane trabekule, što je vidljivo iz degradiranog TBS indeksa.

Provedeno istraživanje je imalo nekoliko ograničenja. Svi podaci o uključenim ispitanicima su sakupljeni iz jedne institucije, s relativno malim uzorkom pacijenata. Nadalje, zbog presječnog ustroja studije, ne možemo potvrditi nikakvu uzročnost u rezultatima, već samo povezanost. Budući da je studija provedena samo na muškim ispitanicima, svi rezultati i zaključci proizašli iz istraživanja nisu primjenjivi na cjelokupnu populaciju. Također, polisomnografsko ispitivanje nije provedeno na kontrolnoj skupini čime bi se definitivno isključila dijagnoza OSA-e, te je rizik za nastanak OSA-e samo ispitan putem STOP-BANG i

ESS upitnika. Sukladno tome, postoji potencijalna mogućnost da su neki od kontrolnih ispitanika imali klinički neprepoznatu i nedijagnosticiranu OSA-u.



## **6. ZAKLJUČCI**

1. Koncentracija dp-ucMGP-a je statistički značajno veća u skupini OSA ispitanika u odnosu na kontrolnu skupinu.
2. Koncentracije dp-ucMGP-a značajno pozitivno koreliraju s AHI indeksom.
3. Skupina OSA ispitanika ima statistički značajno niže vrijednosti TBS indeksa u odnosu na kontrolnu skupinu.
4. Pronađena je značajna negativna korelacija TBS indeksa u odnosu na AHI indeks.
5. Pronađena je statistički značajna negativna povezanost razina dp-ucMGP-a i TBS indeksa.
6. OSA skupina ima značajno niže plazmatske koncentracije biomarkera vezanih uz pregradnju kosti u odnosu na kontrolnu skupinu.
7. Nije pronađena statistički značajna razlika u BMD, kao i *T-score* vrijednostima lumbalne (L<sub>1</sub>-L<sub>4</sub>) kralježnice, ukupnog područja kuka i vrata bedrene kosti između OSA ispitanika i kontrolne skupine.
8. Razine dp-ucMGP-a i TBS indeks značajni su nezavisni prediktori pozitivnog OSA statusa.
9. Granična vrijednost TBS indeksa od <1,305 može se upotrijebiti za otkrivanje pozitivnog OSA statusa, uz osjetljivost testa od 75,5% i specifičnost od 80,0%.
10. Koncentracija dp-ucMGP-a u pretiloj skupini OSA pacijenata ne razlikuje se značajno u odnosu na OSA ispitanike koji nisu pretili.
11. Pretili OSA ispitanici imaju značajno niže vrijednosti TBS indeksa u odnosu na ne-pretile OSA skupinu.
12. U pretiloj OSA skupini, AHI indeks značajno pozitivno korelira s dp-ucMGP razinama, dok značajno negativno korelira s TBS indeksom.
13. U skupini ne-pretelih OSA ispitanika, AHI indeks značajno negativno korelira s TBS indeksom, dok nije pronađena značajna povezanost s razinama dp-ucMGP-a.

OSA je bolest koja povećanjem incidencije i dokazanom povezanošću s brojnim kardiometaboličkim poremećajima predstavlja sve veći javno-zdravstveni problem. Utjecaj OSA-e na koštani metabolizam i razvoj osteoporoze je još nedovoljno poznat, te je iz tog razloga od izrazite važnosti dodatno istraživati i razjašnjavati kompleksne patofiziološke putove poremećaja koštanog metabolizma u OSA pacijenata.

Nadalje, u ovoj je disertaciji su istraživane vrijednosti TBS indeksa u populaciji OSA pacijenata s umjerenim i teškim stupnjem bolesti, koji procjenjuje trabekularnu mikroarhitekturu kosti i predstavlja novi čimbenik rizika za razvoj patoloških prijeloma, neovisan o koštanoj mineralnoj gustoći. Isto tako, prvi put dosad je istražena i uloga jednog od najznačajnijih proteinskih inhibitora vaskularne mineralizacije – dp-ucMGP-a, koji ima neupitnu ulogu u upalnom, koštanom i kardiovaskularnom metabolizmu. Vjerujemo da su rezultati istraživanja novim spoznajama proširili znanja o promjenama u koštanom metabolizmu OSA populacije.

Znanstveni doprinos disertacije je u tome da obuhvaća integraciju rezultata brojnih parametara povezanih s koštanim zdravljem – rezultate denzitometrijskog mjerenja uz procjenu trabekularne mikroarhitekture kosti, te mjerenje biomarkera koštane pregradnje, uključujući razine dp-ucMGP-a u pacijenata s OSA-om, te ih uspoređuje s usklađenom kontrolnom skupinom. Pružaju se novi dokazi u daljnjem otkrivanju učinaka OSA-e na koštani metabolizam, te se prvi put spominje uloga dp-ucMGP-a i TBS indeksa u kompleksnoj patofiziologiji bolesti. Na ovaj način se omogućava potencijalna primjena novih saznanja u svakodnevnoj kliničkoj praksi i dijagnostičkoj obradi pacijenata s OSA-om, te se analizom novih markera otvara prostor za daljnje studije koje bi još detaljnije mogle ispitati njihovu ulogu u razvoju bolesti.

## **7. SAŽETAK**

**Uvod:** Utjecaj opstruktivske apneje tijekom spavanja (engl. *Obstructive Sleep Apnea, OSA*) na koštani metabolizam i razvoj osteoporoze nedovoljno je istraživana tema u kojoj i dalje postoje mnoge nedoumice. Unatoč ispitivanju različitih markera u brojnim studijama, dosad u ovoj populaciji nisu istražene uloge važnih parametara povezanih s koštanim zdravljem – indeksa trabekularne kosti (TBS), koji predstavlja neizravni indeks koštane miroarhitekture, te inaktivnog oblika matriks Gla proteina (dp-ucMGP), važnog inhibitora vaskularne mineralizacije. Cilj ove disertacije bio je ispitati razlike u parametrima denzitometrijskog snimanja, TBS indeksa, markera koštane pregradnje i dp-ucMGP-a između OSA pacijenata i usklađene kontrolne skupine.

**Ispitanici i metode:** U ovo istraživanje su uključena ukupno 53 muška pacijenata s novodijagnosticiranim OSA-om, uz 50 kontrolnih ispitanika usklađenih prema dobi i antropometrijskim mjerama s ispitivanom skupinom. Svi uključeni sudionici bili su podvrgnuti uzimanju detaljne medicinske anamneze i dnevnih navika, denzitometrijskom snimanju uz procjenu TBS indeksa, te uzorkovanju krvi za biokemijsku analizu.

**Rezultati:** Prosječni apneja-hipopneja indeks (AHI) OSA ispitanika bio je  $43,8 \pm 18,8$  epizoda/sat. OSA pacijenti su imali statistički značajno više plazmatske razine dp-ucMGP-a u usporedbi s kontrolnom skupinom ( $512,7 \pm 71,9$  vs.  $465,8 \pm 50,9$  pmol/L;  $P < 0,001$ ). Ispitivana i kontrolna skupina nisu se značajno razlikovale u odnosu na standardne denzitometrijske rezultate, dok su vrijednosti TBS indeksa bile značajno niže u OSA skupini ( $1,24 \pm 0,17$  vs.  $1,36 \pm 0,15$ ;  $P < 0,001$ ). Multipla linearna regresija je pokazala da je AHI indeks bio značajni neovisni prediktor dp-ucMGP koncentracija ( $\beta \pm SE$ ;  $1,461 \pm 0,45$ ;  $P = 0,002$ ), dok je TBS indeks zadržao značajnu povezanost s dp-ucMGP vrijednostima ( $\beta \pm SE$ ;  $-93,77 \pm 38,1$ ;  $P = 0,001$ ). Analiza dijagnostičkih performansi TBS indeksa je pokazala da se granična vrijednost od  $< 1,305$  može upotrijebiti za otkrivanje pozitivnog OSA statusa, uz osjetljivost testa od 75,5% i specifičnost od 80,0%. Također, multivarijatna logistička regresija je pokazala da su TBS

(OR 0,001; P=0,002) i dp-ucMGP (OR 1,01; P=0,019) neovisni i značajni prediktori pozitivnog OSA statusa.

**Zaključak:** Istraživanje je pokazalo da su razine dp-ucMGP-a značajno veće u OSA pacijenata u usporedbi s kontrolnim ispitanicima, te da pozitivno koreliraju s AHI indeksom. Nadalje, TBS indeks je značajno niži u OSA populaciji, te negativno korelira s AHI indeksom, dok se vrijednosti standardnih denzitometrijskih parametara nisu značajno razlikovale između ispitivanih skupina.

## **8. SUMMARY**

---

**TITLE: Bone metabolism and trabecular bone structure in patients with obstructive sleep apnea**

**Introduction:** The impact of obstructive sleep apnea (OSA) on bone metabolism and development of osteoporosis is an under-researched topic in which remains controversial. Despite examining various markers in numerous studies, the role of important parameters related to bone health have not been investigated so far in this population - trabecular bone score (TBS) results, which represents degree of degradation of bone microarchitecture, and inactive matrix Gla protein (dp-ucMGP), an important inhibitor of vascular mineralization. The aim of this dissertation was to examine differences in densitometric imaging parameters, TBS scores, bone remodeling markers, and dp-ucMGP between OSA patients and a matched control group.

**Subjects and Methods:** A total of 53 male patients with newly diagnosed OSA were included in this study, with 50 controls matched in age and anthropometric parameters with the study group. All of the participants were subjected to detailed medical interview and daily habits questioning, densitometric imaging with TBS calculation, and blood sampling for biochemical analysis.

**Results:** The mean apnea-hypopnea index (AHI) of OSA subjects was  $43.8 \pm 18.8$  episodes / hour. OSA patients had statistically significantly higher plasma levels of dp-ucMGP compared with the control group ( $512.7 \pm 71.9$  vs.  $465.8 \pm 50.9$  pmol / L;  $P < 0.001$ ). OSA and control groups did not significantly differ in standard densitometric results, while TBS scores were significantly lower in the OSA group ( $1.24 \pm 0.17$  vs.  $1.36 \pm 0.15$ ;  $P < 0.001$ ). Multiple linear regression indicated that AHI was a significant independent predictor of dp-ucMGP concentrations ( $\beta \pm SE$ ;  $1.461 \pm 0.45$ ;  $P = 0.002$ ), while TBS maintained a significant association with dp-ucMGP values ( $\beta \pm SE$ ;  $-93.77 \pm 38.1$ ;  $P = 0.001$ ). An analysis of the



diagnostic performances of TBS scores showed, that a cut-off value of <1,305 could be used to detect positive OSA status, with test sensitivity of 75.5% and specificity of 80.0%. Furthermore, multivariate logistic regression showed that TBS score (OR 0.001; P = 0.002) and dp-ucMGP (OR 1.01; P = 0.019) were independent and significant predictors of positive OSA status.

**Conclusion:** This dissertation showed that dp-ucMGP levels were significantly higher in OSA patients compared to controls and correlated positively with AHI index. Furthermore, TBS score was significantly lower in the OSA population, and negatively correlated with AHI index, while the values of standard densitometric parameters did not significantly differ between the study groups.

## **9. LITERATURA**

1. Đogaš Z, Valić M, Pecotić R, Čavar Pupiće M, Carev M, Bojić L, i sur. Poremećaji disanja tijekom spavanja. *Liječ Vjesn.* 2008;130:69-77.
2. McNicholas WT. Sleep-related breathing disorders: 1. Nosological classification, definitions, epidemiology. U: Bassetti C, Đogas Z, Peigneux P, ur. *Sleep Medicine Textbook*. Regensburg: European Sleep Research Society; 2014:215-220.
3. Punjabi NM. The epidemiology of adult obstructive sleep apnea. *Proc Am Thorac Soc.* 2008;5:136-43.
4. Deary V, Ellis JG, Wilson JA, Coulter C, Barclay NL. Simple snoring: not quite so simple after all? *Sleep Med Rev.* 2014;18:453-62.
5. Stoohs RA, Knaack L, Blum HC, Janicki J, Hohenhorst W. Differences in clinical features of upper airway resistance syndrome, primary snoring, and obstructive sleep apnea/hypopnea syndrome. *Sleep Med.* 2008;9:121-8.
6. Jonczak L, Pływaczewski R, Sliwiński P, Bednarek M, Górecka D, Zieliński J. Evolution of upper airway resistance syndrome. *J Sleep Res.* 2009;18:337-41.
7. Köktürk O, Baha A, Kanbay A. A new approach in the diagnosis of upper airway resistance syndrome (UARS): PAP method. *Tuberk Toraks.* 2015;63:31-6.
8. Jordan A, McSharry D, Malhotra A. Adult obstructive sleep apnoea. *Lancet.* 2014;383:736-47.
9. Randerath WJ. Sleep-related breathing disorders: 2. Pathophysiology. U: Bassetti C, Đogas Z, Peigneux P, ur. *Sleep Medicine Textbook*. Regensburg: European Sleep Research Society, 2014:221-32.
10. Mokhlesi B, Finn L, Hagen E, Young T, Hla K, Van Cauter E, i sur. Obstructive sleep apnea during REM sleep and hypertension. Results of the Wisconsin Sleep Cohort. *Am J Respir Crit Care Med.* 2014;190:1158-67.

11. De Backer W. Obstructive sleep apnea/hypopnea syndrome. *Panminerva Med* 2013;55:191-5.
12. Mostafiz W, Dalci O, Sutherland K, Malhorta A, Srinivasan V, Darendeliler MA, i sur. Influence of oral and craniofacial dimensions on mandibular advancement splint treatment outcome in patients with obstructive sleep apnea. *Chest*. 2011;139:1331-9.
13. Schwab RJ, Pasirstein M, Pierson R, Mackley A, Hachadoorian R, Arens R, i sur. Identification of upper airway anatomic risk factors for obstructive sleep apnea with volumetric magnetic resonance imaging. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003;168:522-30.
14. Tsuiki S, Isono S, Ishikawa T, Yamashiro Y, Tatsumi K, Nishino T. Anatomical balance of the upper airway and obstructive sleep apnea. *Anesthesiology*. 2008;108:1009-15.
15. Taranto Montemurro L, Kasai T. The upper airway in sleep-disordered breathing: UA in SDB. *Minerva Med*. 2014;105:25-40.
16. Yumino D, Redolfi S, Ruttanaumpawan P, Su M, Smith S, Newton G, i sur. Nocturnal rostral fluid shift: a unifying concept for the pathogenesis of obstructive and central sleep apnea in men with heart failure. *Circulation*. 2010;121:1598-605.
17. Dempsey J, Veasey S, Morgan B, O'Donnell C. Pathophysiology of sleep apnea. *Physiol Rev*. 2010;90:47-112.
18. Said S, Mukherjee D, Whayne TF. Interrelationships with metabolic syndrome, obesity and cardiovascular risk. *Curr Vasc Pharmacol*. 2016;14:415-25.
19. Tuomilehto H, Seppä J, Uusitupa M. Obesity and obstructive sleep apnea-clinical significance of weight loss. *Sleep Med Rev*. 2013;17:321-9.
20. Isono S. Obesity and obstructive sleep apnoea: mechanisms for increased collapsibility of the passive pharyngeal airway. *Respirology*. 2012;17:32-42.

21. Kim AM, Keenan BT, Jackson N, Chan EL, Staley B, Poptani H, i sur. Tongue fat and its relationship to obstructive sleep apnea. *Sleep*. 2014;37:1639-48.
22. Tom C, Roy B, Vig R, Kang DW, Aysola RS, Woo MA, i sur. Correlations between waist and neck circumferences and obstructive sleep apnea characteristics. *Sleep Vigil*. 2018;2:111-8.
23. Peppard PE, Young T, Palta M, Dempsey J, Skatrud J. Longitudinal study of moderate weight change and sleep-disordered breathing. *JAMA*. 2000;284:3015-21.
24. Deng X, Gu W, Li Y, Liu M, Li Y, Gao X. Age-group-specific associations between the severity of obstructive sleep apnea and relevant risk factors in male and female patients. *PLoS One*. 2014;9:e107380
25. Young T, Peppard PE, Gottlieb DJ. Epidemiology of obstructive sleep apnea: a population health perspective. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002;165:1217-39.
26. Bixler E, Vgontzas A, Ten Have T, Tyson K, Kales A. Effects of age on sleep apnea in men. *Am J Respir Crit Care Med*. 1998;157:144-8.
27. Bixler E, Vgontzas A, Lin H, Ten Have T, Rein J, Vela-Bueno A, i sur. Prevalence of Sleep-disordered Breathing in Women. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001;163:608-13.
28. Lin CM, Davidson TM, Ancoli-Israel S. Gender differences in obstructive sleep apnea and treatment implications. *Sleep Med Rev*. 2008;12:481-96.
29. Jordan AS, McEvoy RD. Gender differences in sleep apnea: epidemiology, clinical presentation and pathogenic mechanisms. *Sleep Med Rev*. 2003;7:377-89.
30. Ruchała M, Bromińska B, Cyrańska-Chyrek E, Kuźnar-Kamińska B, Kostrzewska M, Batura-Gabryel H. Obstructive sleep apnea and hormones - a novel insight. *Arch Med Sci*. 2017;13:875-84.

31. Pamidi S, Pinto LM, Marc I, Benedetti A, Schwartzman K, Kimoff RJ. Maternal sleep-disordered breathing and adverse pregnancy outcomes: a systematic review and metaanalysis. *Am J Obstet Gynecol.* 2014;210:52.e1-52.e14.
32. Young T. Risk factors for obstructive sleep apnea in adults. *JAMA.* 2004;291:2013-6.
33. Wimms A, Woehrle H, Ketheeswaran S, Ramanan D, Armitstead J. Obstructive sleep apnea in women: specific issues and interventions. *Biomed Res Int.* 2016;2016:1764837.
34. Lévy P, Kohler M, McNicholas WT, Barbé F, McEvoy DR, Somers VK, i sur. Obstructive sleep apnoea syndrome. *Nat Rev Dis Primers.* 2015;1:15015.
35. Kohler M, Blair E, Risby P, Nickol A, Wordsworth P, Forfar C, i sur. The prevalence of obstructive sleep apnoea and its association with aortic dilatation in Marfan's syndrome. *Thorax.* 2009;64:162-6.
36. Peppard P, Young T, Barnet J, Palta M, Hagen E, Hla K. Increased prevalence of sleep-disordered breathing in adults. *Am J Epidemiol.* 2013;177:1006-14.
37. Young T, Palta M, Dempsey J, Skatrud J, Weber S, Badr S. The occurrence of sleep-disordered breathing among middle-aged adults. *N Engl J Med.* 1993;328:1230-5.
38. Lee W, Nagubadi S, Kryger M, Mokhlesi B. Epidemiology of obstructive sleep apnea: a population-based perspective. *Expert Rev Respir Med.* 2008;2:349-64.
39. Duran J, Esnaola S, Rubio R, Iztueta A. Obstructive sleep apnea–hypopnea and related clinical features in a population-based sample of subjects aged 30 to 70 yr. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001;163:685-9.
40. Heinzer R, Vat S, Marques-Vidal P, Marti-Soler H, Andries D, Tobback N, i sur. Prevalence of sleep-disordered breathing in the general population: the HypnoLaus study. *Lancet Respir Med.* 2015;3:310-8.

41. Garvey JF, Pengo MF, Drakatos P, Kent BD. Epidemiological aspects of obstructive sleep apnea. *J Thoracic Dis.* 2015;7:920-9.
42. Romero-Corral A, Caples SM, Lopez-Jimenez F, Somers VK. Interactions between obesity and obstructive sleep apnea: implications for treatment. *Chest.* 2010;137:711-9.
43. Drager LF, Togeiro SM, Polotsky VY, Lorenzi-Filho G. Obstructive sleep apnea: a cardiometabolic risk in obesity and the metabolic syndrome. *J Am Coll Cardiol.* 2013;62:569-76.
44. Myers K, Mrkobrada M, Simel D. Does this patient have obstructive sleep apnea?: The Rational Clinical Examination systematic review. *JAMA.* 2013;310:731-41.
45. Mihaicuta S, Grote L. Sleep-related breathing disorders: 3. Clinical picture and diagnosis. U: Bassetti C, Dogas Z, Peigneux P, ur. *Sleep Medicine Textbook.* Regensburg: European Sleep Research Society, 2014:233-50.
46. Philip P, Chaufton C, Taillard J, Sagaspe P, Léger D, Raimondi M, i sur. Maintenance of Wakefulness Test scores and driving performance in sleep disorder patients and controls. *Int J Psychophysiol.* 2013;89:195-202.
47. Pizza F, Contardi S, Mondini S, Cirignotta F. Simulated driving performance coupled with driver behaviour can predict the risk of sleepiness-related car accidents. *Thorax.* 2011;66:725-6.
48. Rodenstein D. Sleep apnoea: traffic and occupational accidents – individual risks, socioeconomic and legal implications. *Respiration.* 2009;78:241-8.
49. Lim DC, Pack AI. Obstructive sleep apnea and cognitive impairment: addressing the blood-brain barrier. *Sleep Med Rev.* 2014;18:35-48.
50. Chen YH, Keller JK, Kang JH, Hsieh HJ, Lin HC. Obstructive sleep apnea and the subsequent risk of depressive disorder: a population-based follow-up study. *J Clin Sleep Med.* 2013;9:417-23.

51. Epstein LJ, Kristo D, Strollo PJ Jr, Friedman N, Malhotra A, Patil SP, i sur. Clinical guideline for the evaluation, management and long-term care of obstructive sleep apnea in adults. *J Clin Sleep Med.* 2009;5:263-76.
52. Chiu HY, Chen PY, Chuang LP, Chen NH, Tu YK, Hsiesh YJ, i sur. Diagnostic accuracy of the Berlin questionnaire, STOP-BANG, STOP, and Epworth sleepiness scale in detecting obstructive sleep apnea: A bivariate meta-analysis. *Sleep Med Rev.* 2017;36:57-70.
53. Chung F, Abdullah HR, Liao P. STOP-Bang questionnaire: a practical approach to screen for obstructive sleep apnea. *Chest.* 2016;149:631-8.
54. Chung F, Yang Y, Liao P. Predictive performance of the STOP-Bang score for identifying obstructive sleep apnea in obese patients. *Obes Surg.* 2013;23:2050-7.
55. Amra B, Rahmati B, Soltaninejad F, Feizi A. Screening questionnaires for obstructive sleep apnea: an updated systematic review. *Oman Med J.* 2018;33:184-92.
56. Johns MW. Daytime sleepiness, snoring, and obstructive sleep apnea: the Epworth Sleepiness Scale. *Chest.* 1993;103:30-6.
57. Pecotić R, Dodig IP, Valić M, Ivković N, Đogas Z. The evaluation of the Croatian version of the Epworth sleepiness scale and STOP questionnaire as screening tools for obstructive sleep apnea syndrome. *Sleep Breath.* 2012;16:793-802.
58. Buysse DJ, Reynolds CF 3rd, Monk TH, Berman SR, Kupfer DJ. The Pittsburgh Sleep Quality Index: a new instrument for psychiatric practice and research. *Psychiatry Res.* 1989;28:193-213.
59. R Jansari M, Iyer K, S Kulkarni S. The role of Sleep Apnea Clinical Score (SACS) as a pretest probability in obstructive sleep apnea. *Int J Biomed Res.* 2015;6:479-81.



60. Yang H, Watach A, Varrasse M, King TS, Sawyer AM. Clinical trial enrollment enrichment in resource-constrained research environments: Multivariable Apnea Prediction (MAP) Index in SCIP-PA Trial. *J Clin Sleep Med.* 2018;14:173-81.
61. Fischer J, Dogas Z, Bassetti CL, Berg S, Grote L, Jennum P, i sur. Standard procedures for adults in accredited sleep medicine centres in Europe. *J Sleep Res.* 2012;21:357-68.
62. Berry RB, Budhiraja R, Gottlieb DJ, Gozal D, Iber C, Kapur VK, i sur. Rules for scoring respiratory events in sleep: update of the 2007 AASM manual for the scoring of sleep and associated events: deliberations of the sleep apnea definitions task force of the American Academy of Sleep Medicine. *J Clin Sleep Med.* 2012;8:597-619.
63. Grigg-Damberger MM. The AASM Scoring Manual four years later. *J Clin Sleep Med.* 2012;8:323-32.
64. Kapur VK, Auckley DH, Chowdhuri S, Kuhlmann DC, Mehra R, Ramar K, i sur. Clinical practice guideline for diagnostic testing for adult obstructive sleep apnea: An American Academy of Sleep Medicine Clinical Practice Guideline. *J Clin Sleep Med.* 2017;13:479-504.
65. Qaseem A, Dallas P, Owens DK, Starkey M, Holty JE, Shekelle P, i sur. Diagnosis of obstructive sleep apnea in adults: A clinical practice guideline from the American college of physicians. *Ann Intern Med.* 2014;161:210-20.
66. Kuna ST, Badr MS, Kimoff RJ, Kushida C, Lee-Chiong T, Levy P, i sur. An official ATS/AASM/ACCP/ERS workshop report: research priorities in ambulatory management of adults with obstructive sleep apnea. *Proc Am Thorac Soc.* 2011;8:1-16.
67. Collop NA, Tracy SL, Kapur V, Mehra R, Kuhlmann D, Fleishman SA, i sur. Obstructive sleep apnea devices for out-of-center (OOC) testing: technology evaluation. *J Clin Sleep Med.* 2011;7:531-48.

- 
68. BaHammam AS, ALAnbay E, Alrajhi N, Olaish AH. The success rate of split-night polysomnography and its impact on continuous positive airway pressure compliance. *Ann Thorac Med.* 2015;10:274-8.
  69. Collop NA, Anderson WM, Boehlecke B, Claman D, Goldberg R, Gottlieb DJ, i sur. Clinical guidelines for the use of unattended portable monitors in the diagnosis of obstructive sleep apnea in adult patients. Portable Monitoring Task Force of the American Academy of Sleep Medicine. *J Clin Sleep Med.* 2007;3:737-47.
  70. Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health (CADTH). Portable monitoring devices for diagnosis of obstructive sleep apnea at home: review of accuracy, cost-effectiveness, guidelines, and coverage in Canada. *CADTH Technol Overv.* 2010;1:e0123.
  71. Pevernagie D, Sastry M, Vanderveken O. Sleep-related breathing disorders: 5. Treatment of respiratory sleep disorders. U: Bassetti C, Dogas Z, Peigneux P, ur. *Sleep Medicine Textbook.* Regensburg: European Sleep Research Society, 2014:259-74.
  72. Simou E, Britton J, Leonardi-Bee J. Alcohol and the risk of sleep apnoea: a systematic review and meta-analysis. *Sleep Med.* 2018;42:38-46.
  73. De Vries GE, Hoekema A, Doff MHJ, Kerstjens HAM, Meijer PM, van der Hoeven J, i sur. Usage of Positional Therapy in Adults with Obstructive Sleep Apnea. *J Clin Sleep Med.* 2015;11:131-7.
  74. Caples SM, Rowley JA, Prinsell JR, Pallanch JF, Elamin MB, Katz SG, i sur. Surgical modifications of the upper airway for obstructive sleep apnoea in adults: a systematic review and meta-analysis. *Sleep.* 2010;33:1396-407.
  75. Bratton D, Gaisl T, Schlatzer C, Kohler M. Comparison of the effects of continuous positive airway pressure and mandibular advancement devices on sleepiness in patients

- with obstructive sleep apnoea: a network meta-analysis. *Lancet Respir Med.* 2015;3:869-78.
76. Galić T, Božić J, Pecotić R, Ivković N, Valić M, Đogas Z. Improvement of cognitive and psychomotor performance in patients with mild to moderate obstructive sleep apnea treated with mandibular advancement device: A Prospective 1-year study. *J Clin Sleep Med.* 2016;12:177-86.
77. Chang E, Fernandez-Salvador C, Giambo J, Nesbitt B, Liu S, Capasso R, i sur. Tongue retaining devices for obstructive sleep apnea: A systematic review and meta-analysis. *Am J Otolaryngol.* 2017;38:272-8.
78. Giles TL, Lasserson TJ, Smith BH, White J, Wright J, Cates CJ. Continuous positive airways pressure for obstructive sleep apnoea in adults. *Cochrane Database Syst Rev.* 2006;3:CD001106.
79. McDaid C, Duree KH, Griffin SC, Weatherly HL, Stradling JR, Davies RJ, i sur. A systematic review of continuous positive airway pressure for obstructive sleep apnoea-hypopnoea syndrome. *Sleep Med Rev.* 2009;13:427-36.
80. Khattak HK, Hayat F, Pamboukian SV, Hahn HS, Schwartz BP, Stein PK. Obstructive sleep apnea in heart failure: review of prevalence, treatment with continuous positive airway pressure, and prognosis. *Tex Heart Inst J.* 2018;45:151-61.
81. Nieto F. Association of sleep-disordered breathing, sleep apnea, and hypertension in a large community-based study. *JAMA.* 2000;283:1829-36.
82. De Torres-Alba F, Gemma D, Armada-Romero E, Rey-Blas J, Lopez-de-Sa E, Lopez-Sendon J. Obstructive sleep apnea and coronary artery disease: from pathophysiology to clinical implications. *Pulm Med.* 2013;2013:1-9.
83. Hersi A. Obstructive sleep apnea and cardiac arrhythmias. *Ann Thorac Med.* 2010;5:10-7.

- 
84. Durgan D, Bryan R. Cerebrovascular consequences of obstructive sleep apnea. *J Am Heart Assoc.* 2012;1:e000091.
  85. Feng J, Zhang D, Chen B. Endothelial mechanisms of endothelial dysfunction in patients with obstructive sleep apnea. *Sleep Breath.* 2011;16:283-94.
  86. Eisele HJ, Markart P, Schulz R. Obstructive sleep apnea, oxidative stress, and cardiovascular disease: evidence from human studies. *Oxid Med Cell Longev.* 2015;2015:608438.
  87. Unnikrishnan D, Jun J, Polotsky V. Inflammation in sleep apnea: an update. *Rev Endocr Metab Disord.* 2015;16:25-34.
  88. Jelic S, Lederer D, Adams T, Padeletti M, Colombo P, Factor P, i sur. Vascular inflammation in obesity and sleep apnea. *Circulation.* 2010;121:1014-21.
  89. Drager L, Lopes H, Maki-Nunes C, Trombetta I, Toschi-Dias E, Alves M, i sur. The impact of obstructive sleep apnea on metabolic and inflammatory markers in consecutive patients with metabolic syndrome. *PLoS One.* 2010;5:e12065.
  90. Doonan R, Scheffler P, Lalli M, Kimoff R, Petridou E, Daskalopoulos M, i sur. Increased arterial stiffness in obstructive sleep apnea: a systematic review. *Hypertens Res.* 2010;34:23-32.
  91. Mills K, Bundy J, Kelly T, Reed J, Kearney P, Reynolds K, i sur. Global disparities of hypertension prevalence and control: a systematic analysis of population-based studies from 90 countries. *Circulation.* 2016;134:441-50.
  92. Phillips C, O'Driscoll. Hypertension and obstructive sleep apnea. *Nat Sci Sleep.* 2013;5:43-52.
  93. Kent BD, Grote L, Ryan S, Pepin JL, Bonsignore MR, Tkacova R, i sur. Diabetes mellitus prevalence and control in sleep disordered breathing: the European Sleep Apnea Cohort (ESADA) study. *Chest.* 2014;146:982-90.

- 
94. Kent BD, Grote L, Bonsignore M, Saaresranta T, Verbraecken J, Levy P, i sur. Sleep apnoea severity independently predicts glycaemic health in nondiabetic subjects: the ESADA study. *Eur Respir J.* 2014;44:130-9.
  95. Vale J, Manuel P, Oliveira E, Oliveira AR, Silva E, Melo V, i sur. Obstructive sleep apnea and diabetes mellitus. *Rev Port Pneumol (2006).* 2015;21:55-60.
  96. Wilcox I, McNamara SG, Collins FL, Grunstein RR, Sullivan CE. "Syndrome Z": the interaction of sleep apnoea, vascular risk factors and heart disease. *Thorax.* 1998;53:25-8.
  97. Božic J, Galić T, Šupe-Domić D, Ivković N, Tičinović Kurir T, Valić Z, i sur. Morning cortisol levels and glucose metabolism parameters in moderate and severe obstructive sleep apnea patients. *Endocrine.* 2016;53:730-9.
  98. Hirotsu C, Tufik S, Andersen M. Interactions between sleep, stress, and metabolism: From physiological to pathological conditions. *Sleep Sci.* 2015;8:143-52.
  99. Imayama I, Prasad B. Role of leptin in obstructive sleep apnea. *Ann Am Thorac Soc.* 2017;14:1607-21.
  100. Pan W, Kastin AJ. Leptin: a biomarker for sleep disorders?. *Sleep Med Rev.* 2014;18:283-90.
  101. Đogaš Z, Pecotić R. Metabolički i endokrinološki poremećaji u sindromu opstrukcijske apneje tijekom spavanja. U: Tičinović Kurir T, i sur. *Patofiziologija endokrinopatija.* Split: Redak; 2013:147-58.
  102. Musso G, Cassader M, Olivetti C, Rosina F, Carbone G, Gambino R. Association of obstructive sleep apnoea with the presence and severity of non-alcoholic fatty liver disease. A systematic review and meta-analysis. *Obes Rev.* 2013;14:417-31.
  103. Vasu TS, Grewal R, Doghramji K. Obstructive sleep apnea syndrome and perioperative complications: a systematic review of the literature. *J Clin Sleep Med.* 2012;8:199-207.

- 
104. Edwards KM, Kamat R, Tomfhor LM, Ancoli-Israel S, Dimsdale JE. Obstructive sleep apnea and neurocognitive performance: the role of cortisol. *Sleep Med* 2014;15:27-32.
  105. Bucks RS, Olaithe M, Eastwood P. Neurocognitive function in obstructive sleep apnoea: A meta-review. *Respirology* 2013;18:61-70.
  106. Young T, Finn L, Peppard PE, Szklo-Coxe M, Austin D, Nieto FJ, i sur. Sleep disordered breathing and mortality: eighteen-year follow-up of the Wisconsin Sleep Cohort. *Sleep*. 2008;31:1071-8.
  107. Đudarić L, Zoričić Cvek S, Cvijanović O, Fužinac-Smojver A, Čelić T, Martinović D. Osnove biologije koštanog tkiva. *Med Fulminensis*. 2014;50:21-38.
  108. Song L. Calcium and bone metabolism indices. *Adv Clin Chem*. 2017;82:1-46.
  109. Hadjidakis DJ, Androulakis II. Bone remodeling. *Ann N Y Acad Sci*. 2006;1092:385-96.
  110. Cooper DM, Kawalilak CE, Harrison K, Johnston BD, Johnston JD. Cortical bone porosity: what is it, why is it important, and how can we detect it?. *Curr Osteoporos Rep*. 2016;14:187-98.
  111. Compston JE. Sex steroids and bone. *Physiol Rev*. 2001;81:419-47.
  112. Oftadeh R, Perez-Viloria M, Villa-Camacho JC, Vaziri A, Nazarian A. Biomechanics and mechanobiology of trabecular bone: a review. *J Biomech Eng*. 2015;137:0108021-15.
  113. Blair HC, Larrouture QC, Li Y, Lin H, Beer-Stoltz D, Liu L, i sur. Osteoblast differentiation and bone matrix formation in vivo and in vitro. *Tissue Eng Part B Rev*. 2017;23:268-80.
  114. Mann V, Noble B. Techniques for the study of apoptosis in bone. *Methods Mol Biol*. 2019;1914:451-65.

115. de Vernejoul MC, Cohen-Solal M, Orcel P. Bone cytokines. *Curr Opin Rheumatol.* 1993;5:332-8.
116. Amarasekara DS, Yu J, Rho J. Bone loss triggered by the cytokine network in inflammatory autoimmune diseases. *J Immunol Res.* 2015;2015:832127.
117. Florencio-Silva R, Sasso GR, Sasso-Cerri E, Simões MJ, Cerri PS. Biology of bone tissue: structure, function, and factors that influence bone cells. *Biomed Res Int.* 2015;2015:421746.
118. Rosenberg N, Rosenberg O, Soudry M. Osteoblasts in bone physiology-mini review. *Rambam Maimonides Med J.* 2012;3:e0013.
119. Caetano-Lopes J, Canhão H, Fonseca JE. Osteoblasts and bone formation. *Acta Reumatol Port.* 2007;32:103-10.
120. van Driel M, van Leeuwen JP. Vitamin D endocrine system and osteoblasts. *Bonekey Rep.* 2014;3:493.
121. Chen D, Zhao M, Mundy GR. Bone morphogenetic proteins. *Growth Factors.* 2004;22:233-41
122. Greenblatt MB, Tsai JN, Wein MN. Bone turnover markers in the diagnosis and monitoring of metabolic bone disease. *Clin Chem.* 2017;63:464-74.
123. Aarden EM, Burger EH, Nijweide PJ. Function of osteocytes in bone. *J Cell Biochem.* 1994;55:287-99.
124. Asagiri M, Takayanagi H. The molecular understanding of osteoclast differentiation. *Bone.* 2007;40:251-64 .
125. Boyce BF, Xing L. The RANKL/RANK/OPG pathway. *Curr Osteoporos Rep.* 2007;5:98-104.
126. Chen X, Wang Z, Duan N, Zhu G, Schwarz EM, Xie C. Osteoblast-osteoclast interactions. *Connect Tissue Res.* 2018;59:99-107.

127. Heino TJ, Hentunen TA, Väänänen HK. Osteocytes inhibit osteoblastic bone resorption through transforming growth factor b: Enhancement by estrogen. *J Cell Biochem.* 2002;85:185-97.
128. Kurata K, Heino TJ, Higaki H, Väänänen HK. Bone marrow cell differentiation induced by mechanically damaged osteocytes in three-dimensional gel-embedded culture. *J Bone Miner Res.* 2006;21:616-26.
129. Demontiero O, Vidal C, Duque G. Aging and bone loss: new insights for the clinician. *Ther Adv Musculoskelet Dis.* 2012;4:61-76.
130. Aaron JE, Makins NB, Sagreiya K. The microanatomy of trabecular bone loss in normal aging men and women. *Clin Orthop Relat Res.* 1987;215:260-71.
131. Siddiqui JA, Partridge NC. Physiological bone remodeling: systemic regulation and growth factor involvement. *Physiology (Bethesda).* 2016;31:233-45.
132. Szulc P. Bone turnover: Biology and assessment tools. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2018;32:725-38.
133. Chavassieux P, Portero-Muzy N, Roux JP, Garnero P, Chapurlat R. Are biochemical markers of bone turnover representative of bone histomorphometry in 370 postmenopausal women? *J Clin Endocrinol Metab.* 2015;100:4662-8.
134. Henriksen K, Christiansen C, Karsdal MA. Role of biochemical markers in the management of osteoporosis. *Climacteric.* 2015;18:10-8.
135. Seibel MJ. Biochemical markers of bone turnover: part I: biochemistry and variability. *Clin Biochem Rev.* 2005;26:97-122.
136. Halleen JM, Tiitinen SL, Ylipahkala H, Fagerlund KM, Väänänen HK. Tartrate-resistant acid phosphatase 5b (TRACP 5b) as a marker of bone resorption. *Clin Lab.* 2006;52:499-09.



137. Consensus development conference: diagnosis, prophylaxis, and treatment of osteoporosis. *Am J Med.* 1993;94:646-50.
138. Al Anouti F, Taha Z, Shamim S, Khalaf K, Al Kaabi L, Alsafar H. An insight into the paradigms of osteoporosis: From genetics to biomechanics. *Bone Rep.* 2019;11:100216.
139. Kanis JA, Cooper C, Rizzoli R, Reginster JY; Scientific Advisory Board of the European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis (ESCEO); Committees of Scientific Advisors and National Societies of the International Osteoporosis Foundation (IOF). European guidance for the diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women. *Osteoporos Int.* 2019;30:3-44.
140. Johnell O, Kanis JA. An estimate of the worldwide prevalence and disability associated with osteoporotic fractures. *Osteoporos Int.* 2006;17:1726-33.
141. Kanis JA, Johnell O, Oden A, Sembo I, Redlund-Johnell I, Dawson A, i sur. Long-term risk of osteoporotic fracture in Malmö. *Osteoporos Int.* 2000;11:669-74.
142. Kanis JA, Oden A, Johnell O, De Laet C, Jonsson B, Oglesby AK. The components of excess mortality after hip fracture. *Bone.* 2003;32:468-73.
143. Kanis JA, Borgström F, Compston J, Dreinhöfer K, Nolte E, Jonsson L, i sur. SCOPE: a scorecard for osteoporosis in Europe. *Arch Osteoporos.* 2013;8:144.
144. Poursmaeili F, Kamalidehghan B, Kamarehei M, Goh YM. A comprehensive overview on osteoporosis and its risk factors. *Ther Clin Risk Manag.* 2018;14:2029-49.
145. Paccou J, Edwards MH, Ward K, Jameson K, Moon R, Dennison E, i sur. Relationships between bone geometry, volumetric bone mineral density and bone microarchitecture of the distal radius and tibia with alcohol consumption. *Bone.* 2015;78:122-9.

146. Ortego-Centeno N, Munoz-Torres M, Jodar E, Hernandez-Quero J, Jurado-Duce A, de la Higuera Torres-Puchol J. Effect of tobacco consumption on bone mineral density in healthy young males. *Calcif Tissue Int.* 1997;60:496-500.
147. Kline J, Tang A, Levin B. Smoking, alcohol and caffeine in relation to two hormonal indicators of ovarian age during the reproductive years. *Maturitas.* 2016;92:115-22.
148. Brot C, Jorgensen N, Sorensen O. The influence of smoking on vitamin D status and calcium metabolism. *Eur J Clin Nutr.* 1999;53:920-6.
149. Riggs BL, Melton LJ 3rd. Clinical review 8: Clinical heterogeneity of involutional osteoporosis: implications for preventive therapy. *J Clin Endocrinol Metab.* 1990;70:1229-32.
150. Canalis E. Mechanisms of glucocorticoid action in bone. *Curr Osteoporos Rep.* 2005;3:98-102.
151. Oei L, Koromani F, Rivadeneira F, Zillikens MC, Oei EH. Quantitative imaging methods in osteoporosis. *Quant Imaging Med Surg.* 2016;6:680-98.
152. Genant HK, Engelke K, Prevrhal S. Advanced CT bone imaging in osteoporosis. *Rheumatology (Oxford).* 2008;47:iv9–iv16.
153. Punda M. Uloga modificiranoga upitnika kao mjernoga instrumenta u predviđanju niske vrijednosti mineralne gustoće kosti. Zagreb: Medicinski fakultet; 2014. [doktorska distertacija]
154. Marshall D, Johnell O, Wedel H. Meta-analysis of how well measures of bone mineral density predict occurrence of osteoporotic fractures. *BMJ.* 1996;312:1254-9.
155. Kanis JA, Harvey NC, Johansson H, Odén A, McCloskey EV, Leslie WD. Overview of fracture prediction tools. *J Clin Densitom.* 2017;20:444-50
156. Hui SL, Slemenda CW, Johnston CC Jr. Age and bone mass as predictors of fracture in a prospective study. *J Clin Invest.* 1988;81:1804-9.

157. Pisani P, Renna MD, Conversano F, Casciaro E, Di Paola M, Quarta E, i sur. Major osteoporotic fragility fractures: Risk factor updates and societal impact. *World J Orthop.* 2016;7:171-81.
158. Vasikaran S, Eastell R, Bruyère O, Foldes AJ, Garnero P, Griesmacher A, i sur. Markers of bone turnover for the prediction of fracture risk and monitoring of osteoporosis treatment: a need for international reference standards. *Osteoporos Int.* 2011;22:391-20.
159. Johansson H, Odén A, Kanis JA, McCloskey EV, Morris HA, Cooper C, i sur. A meta-analysis of reference markers of bone turnover for prediction of fracture. *Calcif Tissue Int.* 2014;94:560-7.
160. Kanis JA, Johnell O, Oden A, Johansson H, McCloskey E. FRAX and the assessment of fracture probability in men and women from the UK. *Osteoporos Int.* 2008;19:385-97.
161. Hans D, Šteňová E, Lamy O. The trabecular bone score (TBS) complements DXA and the FRAX as a fracture risk assessment tool in routine clinical practice. *Curr Osteoporos Rep.* 2017;15:521-31.
162. Link TM, Heilmeyer U. Bone quality-beyond bone mineral density. *Semin Musculoskelet Radiol.* 2016;20:269-78.
163. Griffith JF, Engelke K, Genant HK. Looking beyond bone mineral density: Imaging assessment of bone quality. *Ann N Y Acad Sci.* 2010;1192:45-56.
164. Kanis JA, Johnell O, Oden A, Dawson A, De Laet C, Jonsson B. Ten year probabilities of osteoporotic fractures according to BMD and diagnostic thresholds. *Osteoporos Int.* 2001;12:989-95.
165. Sornay-Rendu E, Munoz F, Garnero P, Duboeuf F, Delmas PD. Identification of osteopenic women at high risk of fracture: the OFELY study. *J Bone Miner Res.* 2005;20:1813-9.

- 
166. Pasco JA, Seeman E, Henry MJ, Merriman EN, Nicholson GC, Kotowicz MA. The population burden of fractures originates in women with osteopenia, not osteoporosis. *Osteoporos Int.* 2006;17:1404-9.
  167. Silva BC, Leslie WD. Trabecular bone score: A new DXA-derived measurement for fracture risk assessment. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2017;46:153-80.
  168. Harvey NC, Glüer CC, Binkley N, McCloskey EV, Brandi ML, Cooper C, i sur. Trabecular bone score (TBS) as a new complementary approach for osteoporosis evaluation in clinical practice. *Bone.* 2015;78:216-24.
  169. Pothuaud L, Carceller P, Hans D. Correlations between grey-level variations in 2D projection images (TBS) and 3D microarchitecture: applications in the study of human trabecular bone microarchitecture. *Bone.* 2008;42:775-87.
  170. Winzenrieth R, Michelet F, Hans D. Three-dimensional (3D) microarchitecture correlations with 2D projection image gray-level variations assessed by trabecular bone score using high-resolution computed tomographic acquisitions: effects of resolution and noise. *J Clin Densitom.* 2013;16:287-96.
  171. Roux JP, Wegrzyn J, Boutroy S, Bouxsein ML, Hans D, Chapurlat R. The predictive value of trabecular bone score (TBS) on whole lumbar vertebrae mechanics: an ex vivo study. *Osteoporos Int.* 2013;24:2455-60.
  172. Silva BC, Walker MD, Abraham A, Boutroy S, Zhang C, McMahon DJ, i sur. Trabecular bone score is associated with volumetric bone density and microarchitecture as assessed by central QCT and HRpQCT in Chinese American and white women. *J Clin Densitom.* 2013;16:554-61.
  173. Bousson V, Bergot C, Sutter B, Levitz P, Cortet B; Scientific Committee of the Groupe de Recherche et d'Information sur les Ostéoporoses. Trabecular bone score (TBS):

- available knowledge, clinical relevance, and future prospects. *Osteoporos Int.* 2012;23:1489-501.
174. Cormier C, Lamy O, Poriau S. TBS in routine clinical practice: proposals of use. For the Medimaps Group, 2012. [Internet] [pristupljeno 18.12.2019.] Dostupno na: <https://www.roentgen-baden.at/home/wp-content/uploads/TBS%20in%20der%20klinischen%20Routine.pdf>
175. Olivieri FM, Silva BC, Sardanelli F, Hans D, Bilezikian JP, Caudarella R. Utility of the trabecular bone score (TBS) in secondary osteoporosis. *Endocrine.* 2014;47:435-48.
176. McClung MR, Lippuner K, Brandi ML, Zanchetta JR, Bone HG, Chapurlat R, i sur. Effect of denosumab on trabecular bone score in postmenopausal women with osteoporosis. *Osteoporos Int.* 2017;28:296-73.
177. Hans D, Goertzen AL, Krieg MA, Leslie WD. Bone microarchitecture assessed by TBS predicts osteoporotic fractures independent of bone density: the Manitoba study. *J Bone Miner Res.* 2011;26:2762-9.
178. Leslie WD, Aubry-Rozier B, Lix LM, Morin SN, Majumdar SR, Hans D, i sur. Spine bone texture assessed by trabecular bone score (TBS) predicts osteoporotic fractures in men: the Manitoba Bone Density Program. *Bone.* 2014;67:10-4.
179. McCloskey EV, Odén A, Harvey NC, Leslie WD, Hans D, Johansson H, i sur. A meta-analysis of trabecular bone score in fracture risk prediction and its relationship to FRAX. *J Bone Miner Res.* 2016;31:940-8.
180. Dhaliwal R, Cibula D, Ghosh C, Weinstock RS, Moses AM. Bone quality assessment in type 2 diabetes mellitus. *Osteoporos Int.* 2014;25:1969-73.
181. Nimitphong H, Siwasaranond N, Sritara C, Saetung S, Chailurkit LO, Chirakalwasan N, i sur. The differences in the relationship between obstructive sleep apnea severity

- and trabecular bone score in men and women with type 2 diabetes. *J Clin Transl Endocrinol.* 2019;16:100193.
182. Song C, Wang J, Kim B, Lu C, Zhang Z, Liu H, i sur. Insights into the role of circadian rhythms in bone metabolism: a promising intervention target?. *Biomed Res Int.* 2018;2018:9156478.
183. Mavroudis PD, Scheff JD, Calvano SE, Lowry SF, Androulakis IP. Entrainment of peripheral clock genes by cortisol. *Physiol Genomics.* 2012;44:607-21.
184. Rüger M, St Hilaire MA, Brainard GC, Khalsa SB, Kronauer RE, Czeisler CA, i sur. Human phase response curve to a single 6.5 h pulse of short-wavelength light. *J Physiol.* 2013;591:353-63.
185. Bagai K, Muldowney JA 3rd, Song Y, Wang L, Bagai J, Artibee KJ, i sur. Circadian variability of fibrinolytic markers and endothelial function in patients with obstructive sleep apnea. *Sleep.* 2014;37:359-67.
186. Touitou Y, Coste O, Dispersyn G, Pain L. Disruption of the circadian system by environmental factors: Effects of hypoxia, magnetic fields and general anesthetics agents. *Adv Drug Deliv Rev.* 2010;62:928-45.
187. Swanson CM, Shea SA, Stone KL, Cauley JA, Rosen CJ, Redline S, i sur. Obstructive sleep apnea and metabolic bone disease: insights into the relationship between bone and sleep. *J Bone Miner Res.* 2015;30:199-211.
188. Fan L, Li J, Yu Z, Dang X, Wang K. The hypoxia-inducible factor pathway, prolyl hydroxylase domain protein inhibitors, and their roles in bone repair and regeneration. *Biomed Res Int.* 2014;2014:239356.
189. Krieger NS, Bushinsky DA, Frick KK. Cellular mechanisms of bone resorption induced by metabolic acidosis. *Semin Dial.* 2003;16:463-6.
190. Arnett TR. Acidosis, hypoxia and bone. *Arch Biochem Biophys.* 2010;503:103-9.

191. Sheweita SA, Khoshhal KI. Calcium metabolism and oxidative stress in bone fractures: role of antioxidants. *Curr Drug Metab.* 2007;8:519-25.
192. Cervellati C, Bonaccorsi G, Cremonini E, Romani A, Fila E, Castaldini MC, i sur. Oxidative stress and bone resorption interplay as a possible trigger for postmenopausal osteoporosis. *Biomed Res Int.* 2014;2014:569563.
193. Almeida M, Han L, Martin-Millan M, O'Brien CA, Manolagas SC. Oxidative stress antagonizes Wnt signaling in osteoblast precursors by diverting beta-catenin from T cell factor- to forkhead box O-mediated transcription. *J Biol Chem.* 2007;282:27298-305.
194. Elefteriou F, Takeda S, Ebihara K, Magre J, Patano N, Kim CA i sur. Serum leptin level is a regulator of bone mass. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2004;101:3258-63.
195. Amstrup AK, Sikjaer T, Mosekilde L, Rejnmark L. Melatonin and the skeleton. *Osteoporos Int.* 2013;24:2919-27.
196. Chakhtoura M, Nasrallah M, Chami H. Bone loss in obesity and obstructive sleep apnea: a review of literature. *J Clin Sleep Med.* 2015;11:575-80.
197. Almendros I, Carreras A, Montserrat J, Gozal D, Navajas D, Farré R. Potential role of adult stem cells in obstructive sleep apnea. *Front Neur.* 2012;3:1-8.
198. Carreras A, Almendros I, Acerbi I, Montserrat JM, Navajas D, Farré R. Obstructive apneas induce early release of mesenchymal stem cells into circulating blood. *Sleep.* 2009;32:117-9.
199. Guner I, Uzun DD, Yaman MO, Genc H, Gelisgen R, Korkmaz GG, i sur. The effect of chronic long-term intermittent hypobaric hypoxia on bone mineral density in rats: role of nitric oxide. *Biol Trace Elem Res.* 2013;154:262-7.
200. Oishi S, Shimizu Y, Hosomichi J, Kuma Y, Maeda H, Nagai H, i sur. Intermittent hypoxia influences alveolar bone proper microstructure via hypoxia-inducible factor

- and VEGF expression in periodontal ligaments of growing rats. *Front Physiol.* 2016;7:416.
201. Camacho-Cardenosa M, Camacho-Cardenosa A, Timón R, Olcina G, Tomas-Carus P, Brazo-Sayavera J. Can hypoxic conditioning improve bone metabolism? a systematic review. *Int J Environ Res Public Health.* 2019;16:1799.
202. Cauley JA, Blackwell TL, Redline S, Ensrud KE, Ancoli-Israel S, Fink HA, i sur. Hypoxia during sleep and the risk of falls and fractures in older men: the Osteoporotic Fractures in Men Sleep Study. *J Am Geriatr Soc.* 2014;62:1853-9.
203. Feskanich D, Hankinson SE, Schernhammer ES. Nightshift work and fracture risk: the Nurses' Health Study. *Osteoporos Int.* 2009;20:537-42.
204. Stone KL, Ewing SK, Lui LY, Ensrud KE, Ancoli-Israel S, Bauer DC, i sur. Self-reported sleep and nap habits and risk of falls and fractures in older women: the study of osteoporotic fractures. *J Am Geriatr Soc.* 2006;54:1177-83.
205. Yen CM, Kuo CL, Lin MC, Lee CF, Lin KY, Lin CL, i sur. Sleep disorders increase the risk of osteoporosis: a nationwide population-based cohort study. *Sleep Med.* 2014;15:1339-44.
206. Chen YL, Weng SF, Shen YC, Chou CW, Yang CY, Wang JJ, i sur. Obstructive sleep apnea and risk of osteoporosis: a population-based cohort study in Taiwan. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;99:2441-7.
207. Qiao Y, Wang B, Yang JJ, Fan YF, Guo Q, Dou ZJ, i sur. Bone metabolic markers in patients with obstructive sleep apnea syndrome. *Chin Med J (Engl).* 2018;131:1898-903.
208. Tng HY, Thu WPP, Logan S, Aris IM, Cauley J, Yong EL. Sleep apnea and femoral neck BMD among Singaporean mid-life women. *Arch Osteoporos.* 2018;13:19.



- 
209. Sforza E, Thomas T, Barthélémy JC, Collet P, Roche F. Obstructive sleep apnea is associated with preserved bone mineral density in healthy elderly subjects. *Sleep*. 2013;36:1509-15.
  210. Upala S, Sanguankeo A, Congrete S. Association between obstructive sleep apnea and osteoporosis: a systematic review and meta-analysis. *Int J Endocrinol Metab*. 2016;14:e36317.
  211. Eimar H, Saltaji H, Ghorashi S, Isfeld D, MacLean JE, Gozal D, i sur. Association between sleep apnea and low bone mass in adults: a systematic review and meta-analysis. *Osteoporos Int*. 2017;28:1835-52.
  212. Roy ME, Nishimoto SK. Matrix Gla protein binding to hydroxyapatite is dependent on the ionic environment: calcium enhances binding affinity but phosphate and magnesium decrease affinity. *Bone*. 2002;31:296-302.
  213. Roumeliotis S, Dounousi E, Eleftheriadis T, Liakopoulos V. Association of the inactive circulating matrix gla protein with vitamin K intake, calcification, mortality, and cardiovascular disease: A Review. *Int J Mol Sci*. 2019;20:628.
  214. Price PA, Urist MR, Otawara Y. Matrix Gla protein, a new gamma-carboxyglutamic acid-containing protein which is associated with the organic matrix of bone. *Biochem Biophys Res Commun*. 1983;117:765-71.
  215. Luo G, Ducy P, McKee MD, Pinero GJ, Loyer E, Behringer RR, i sur. Spontaneous calcification of arteries and cartilage in mice lacking matrix GLA protein. *Nature*. 1997;386:78-81.
  216. Demer LL, Tintut Y. Vascular calcification: pathobiology of a multifaceted disease. *Circulation*. 2008;117:2938-48.
  217. Shanahan CM. Mechanisms of vascular calcification in renal disease. *Clin Nephrol*. 2005;63:146-57.

218. Schurgers LJ, Teunissen KJ, Knapen MH, Kwaijtaal M, van Diest R, Appels A, i sur. Novel conformation-specific antibodies against matrix gamma-carboxyglutamic acid (Gla) protein: undercarboxylated matrix Gla protein as marker for vascular calcification. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005;25:1629-33.
219. Zebboudj AF, Imura M, Boström K. Matrix GLA protein, a regulatory protein for bone morphogenetic protein-2. *J Biol Chem.* 2002;277:4388-94.
220. Schurgers LJ, Cranenburg EC, Vermeer C. Matrix Gla-protein: the calcification inhibitor in need of vitamin K. *Thromb Haemost.* 2008;100:593-603.
221. Liabeuf S, Bourron O, Olivier B, Vermeer C, Theuwissen E, Magdeleyns E, i sur. Vascular calcification in patients with type 2 diabetes: the involvement of matrix Gla protein. *Cardiovasc Diabetol.* 2014;13:85.
222. Barrett H, O'Keeffe M, Kavanagh E, Walsh M, O'Connor EM. Is Matrix Gla protein associated with vascular calcification? A systematic review. *Nutrients.* 2018;10.pii:E415.
223. Miyata KN, Nast CC, Dai T, Dukkipati R, LaPage JA, Troost JP, i sur. Renal matrix Gla protein expression increases progressively with CKD and predicts renal outcome. *Exp Mol Pathol.* 2018;105:120-9.
224. Fain ME, Kapuku GK, Paulson WD, Williams CF, Raed A, Dong Y, i sur. Inactive matrix Gla protein, arterial stiffness, and endothelial function in African American hemodialysis patients. *Am J Hypertens.* 2018;31:735-41.
225. Mayer O Jr, Seidlerová J, Wohlfahrt P, Filipovský J, Vaněk J, Cífková R, i sur. Desphospho-uncarboxylated matrix Gla protein is associated with increased aortic stiffness in a general population. *J Hum Hypertens.* 2016;30:418-23.

- 
226. Liu YP, Gu YM, Thijs L, Knapen MH, Salvi E, Citterio L. Inactive matrix Gla protein is causally related to adverse health outcomes: a Mendelian randomization study in a Flemish population. *Hypertension*. 2015;65:463-70.
227. Sato M, Yasui N, Nakase T, Kawahata H, Sugimoto M, Hirota S, i sur. Expression of bone matrix proteins mRNA during distraction osteogenesis. *J Bone Miner Res*. 1998;13:1221-31.
228. Naves M, Rodríguez-García M, Díaz-López JB, Gómez-Alonso C, Cannata-Andía JB. Progression of vascular calcifications is associated with greater bone loss and increased bone fractures. *Osteoporos Int*. 2008;19:1161-6.
229. Schulz E, Arfai K, Liu X, Sayre J, Gilsanz V. Aortic calcification and the risk of osteoporosis and fractures. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89:4246-53.
230. Marulanda J, Gao C, Roman H, Henderson JE, Murshed M. Prevention of arterial calcification corrects the low bone mass phenotype in MGP-deficient mice. *Bone*. 2013;57:499-508.
231. Luo G, Ducky P, McKee MD, Pinero GJ, Loyer E, Behringer RR. Spontaneous calcification of arteries and cartilage in mice lacking matrix, i sur. GLA protein. *Nature*. 1997;386:78-81.
232. Vassalle C, Mazzone A. Bone loss and vascular calcification: A bi-directional interplay?. *Vascul Pharmacol*. 2016;86:77-86.
233. Apovian CM. Obesity: definition, comorbidities, causes, and burden. *Am J Manag Care*. 2016;22:s176-s185.
234. Goddard E. Estimating alcohol consumption from survey data: updated method of converting volumes to units. Cardiff: Office for National Statistics; 2007.
235. International Osteoporosis Foundation. Calcium calculator. [Internet] [pristupljeno 15.12.2019.] Dostupno na: <https://www.iofbonehealth.org/calcium-calculator>
-

- 
236. Hoyos CM, Melehan KL, Liu PY, Grunstein RR, Phillips CL. Does obstructive sleep apnea cause endothelial dysfunction? A critical review of the literature. *Sleep Med Rev.* 2015; 20:15-26.
237. Watanabe R, Tai N, Hirano J, Ban Y, Inoue D, Okazaki R. Independent association of bone mineral density and trabecular bone score to vertebral fracture in male subjects with chronic obstructive pulmonary disease. *Osteoporos Int.* 2018;29:615-23.
238. Hernández JL, López-Mejías R, Blanco R, Pina T, Ruiz S, Sierra I, i sur. Association of trabecular bone score with inflammation and adiposity in patients with psoriasis: effect of adalimumab therapy. *J Osteoporos.* 2016;2016:5747852.
239. Oei L, Campos-Obando N, Dehghan A, Oei EH, Stolk L, van Meurs JB, i sur. Dissecting the relationship between high-sensitivity serum C-reactive protein and increased fracture risk: the Rotterdam Study. *Osteoporos Int.* 2014;25:1247-54.
240. Eriksson AL, Movérare-Skrtic S, Ljunggren Ö, Karlsson M, Mellström D, Ohlsson C. High-sensitivity CRP is an independent risk factor for all fractures and vertebral fractures in elderly men: the MrOS Sweden study. *J Bone Miner Res.* 2014;29:418-23.
241. Bozic J, Borovac JA, Galic T, Kurir TT, Supe-Domic D, Dogas Z. Adropin and inflammation biomarker levels in male patients with obstructive sleep apnea: a link with glucose metabolism and sleep parameters. *J Clin Sleep Med.* 2018;14:1109-18.
242. Hamada S, Ikezoe K, Hirai T, Oguma T, Tanizawa K, Inouchi M, i sur. Evaluation of bone mineral density by computed tomography in patients with obstructive sleep apnea. *J Clin Sleep Med.* 2016;12:25-34.
243. Wang TY, Lo YL, Chou PC, Chung FT, Lin SM, Lin TY, i sur. Associated bone mineral density and obstructive sleep apnea in chronic obstructive pulmonary disease. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis.* 2015;10:231-7.
-

244. Terzi R, Yilmaz Z. Bone mineral density and changes in bone metabolism in patients with obstructive sleep apnea syndrome. *J Bone Miner Metab.* 2016;34:475-81.
245. Uzkeser H, Yildirim K, Aktan B, Karatay S, Kaynar H, Araz O, i sur. Bone mineral density in patients with obstructive sleep apnea syndrome. *Sleep Breath.* 2013;17:339-42.
246. Yuceede M, Dulgeroglu DE, Firat H, Yalcindag A. Can sleep apnea be a secondary cause of osteoporosis in young people? *Sleep Biol Rhythms.* 2015;13:189-94.
247. Chen DD, Huang JF, Lin QC, Chen GP, Zhao JM. Relationship between serum adiponectin and bone mineral density in male patients with obstructive sleep apnea syndrome. *Sleep Breath.* 2017;21:557-64.
248. Mariani S, Fiore D, Varone L, Basciani S, Persichetti A, Watanabe M, i sur. Obstructive sleep apnea and bone mineral density in obese patients. *Diabetes Metab Syndr Obes.* 2012;5:395-401.
249. Bromińska B, Cyrańska-Chyrek E, Kuźnar-Kamińska B, Kostrzewska M, Winiarska H, Sawicka-Gutaj N, i sur. Association between bone remodeling and inflammatory markers in obstructive sleep apnea in relation to disease severity. *Pol Arch Intern Med.* 2018;128:9-14.
250. Tomiyama H, Okazaki R, Inoue D, Ochiai H, Shiina K, Takata Y, i sur. Link between obstructive sleep apnea and increased bone resorption in men. *Osteoporos Int.* 2008;19:1185-92.
251. Romagnoli E, Lubrano C, Carnevale V, Costantini D, Nieddu L, Morano S, i sur. Assessment of trabecular bone score (TBS) in overweight/obese men: effect of metabolic and anthropometric factors. *Endocrine.* 2016;54:342-47.

252. Kim YS, Han JJ, Lee J, Choi HS, Kim JH, Lee T. The correlation between bone mineral density/trabecular bone score and body mass index, height, and weight. *Osteoporos Sarcopenia*. 2017;3:98-103.
253. Shea MK, Kritchevsky SB, Hsu FC, Nevitt M, Booth SL, Kwok CK, et al. The association between vitamin K status and knee osteoarthritis features in older adults: the Health, Aging and Body Composition Study. *Osteoarthritis Cartilage*. 2015;23:370-8.
254. Engin A. Endothelial dysfunction in obesity. *Adv Exp Med Biol*. 2017;960:345-79.
255. Palermo A, Tuccinardi D, Defeudis G, Watanabe M, D'Onofrio L, Lauria Pantano A, et al. BMI and BMD: The potential interplay between obesity and bone fragility. *Int J Environ Res Public Health*. 2016;13:544.

## **10. ŽIVOTOPIS**

## **OPĆI PODATCI:**

**Ime i prezime:** Marino Vilović

**Datum rođenja:** 31. listopada 1989.

**Adresa stanovanja:** Osječka 20, 21 000 Split

**Kontakt:** +385 91 78 99 088

**E-mail:** mvilovic@mefst.com

## **OBRAZOVANJE I OSPOSOBLJAVANJE:**

2014. doktor medicine, Medicinski fakultet u Splitu

2017. - danas, polaznik poslijediplomskog doktorskog studija “Klinička medicina utemeljena na dokazima”, Medicinski fakultet u Splitu

## **RADNO ISKUSTVO**

2014.-2015. pripravnik doktor medicine, Dom zdravlja Splitsko-dalmatinske županije

2015. - danas, asistent, Katedra za patofiziologiju, Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu

## **NASTAVNA AKTIVNOST**

2015.- danas, predmet Patofiziologija (studij medicine, dentalne medicine, farmacije, studij medicine na engleskom jeziku, zdravstveni studiji), Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu

## **ČLANSTVA U ORGANIZACIJAMA I POVJERENSTVIMA:**

2014. - danas, član Hrvatske liječničke komore

2019. - danas, član Etičkog povjerenstva Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu



**ORGANIZACIJSKE VJEŠTINE**

2016. - danas, tajnik Katedre za patofiziologiju, Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu

2018. - tajnik poslijediplomskog tečaja trajne medicinske izobrazbe "Dijabetes u srcu",  
Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu

2019. - tajnik poslijediplomskog tečaja trajne medicinske izobrazbe "Dijabetes u praksi",  
Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu

**NAGRADE I PRIZNANJA**

2009. - 2014., stipendija "A" kategorije grada Splita

2016. - nagrada za najbolje ocijenjenog suradnika prema rezultatima studentske ankete (studij  
dentalne medicine), Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu

2018. - nagrada za najbolje ocijenjenog suradnika prema rezultatima studentske ankete (studij  
medicine), Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu

**STRANI JEZICI**

engleski jezik (napredno), francuski jezik (osnovno)

**POPIS PUBLIKACIJA**

1. Vilovic M, Kurir TT, Novak A, Krnic M, Borovac JA, Lizatovic IK, Kokic V, Bozic J. Hypoglycemia and glucagon utilization in insulin-treated diabetic patients. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2018. doi: 10.1055/a-0741-6763.
2. Rusic D, Bozic J, Vilovic M, Bukic J, Zivkovic PM, Leskur D, Perisin AS, Tomic S, Modun D. Attitudes and knowledge regarding antimicrobial use and resistance among pharmacy and medical students at the University of Split, Croatia. *Microb Drug Resist*. 2018. doi: 10.1089/mdr.2018.0010.
3. Gabric K, Matetic A, Vilovic M, Ticinovic Kurir T, Rusic D, Galic T, Jonjic I, Bozic J. Health-related quality of life in type 2 diabetes mellitus patients with different risk for obstructive sleep apnea. *Patient Prefer Adherence*. 2018;12:765-773.
4. Tadin Hadjina I, Zivkovic PM, Matetic A, Rusic D, Vilovic M, Bajo D, Puljiz Z, Tonkic A, Bozic J. Impaired neurocognitive and psychomotor performance in patients with inflammatory bowel disease. *Sci Rep*. 2019 Sep 24;9(1):13740.
5. Vilovic M, Dogas Z, Ticinovic Kurir T, Borovac JA, Supe-Domic D, Vilovic T, Ivkovic N, Rusic D, Novak A, Bozic J. Bone metabolism parameters and inactive matrix Gla protein in patients with obstructive sleep apnea. *Sleep*. 2019. doi:10.1093/sleep/zsz243.

## **11. PRIVITCI**

**A. Epworthova ljestvica pospanosti**

**B. STOP-BANG upitnik**

**A. Epworthova ljestvica pospanosti***Epworthova ljestvica pospanosti*

Koliko često Vam se događa da osjetite potrebu za spavanjem u niže navedenim situacijama? U ovim se primjerima radi o uobičajenim dnevnim aktivnostima. Čak i ako se u skoro vrijeme niste našli u nekoj od niže navedenih situacija, pokušajte zamisliti kako biste se osjećali. Uporabite predložene brojeve kojima ćete najbolje ocijeniti kako se u datom trenutku osjećate.

0 = neću osjećati potrebu za spavanjem (drijemanjem, kunjanjem)

1 = imat ću laganu potrebu za spavanjem (drijemanjem, kunjanjem)

2 = imat ću veliku potrebu za spavanjem (drijemanjem, kunjanjem)

3 = imat ću neodoljivu potrebu za spavanjem (drijemanjem, kunjanjem)

Prilika:

Sjedite i čitate	0	1	2	3
Gledate TV	0	1	2	3
Sjedite na sastanku (predstavi ili sl. na kojemu aktivno ne sudjelujete	0	1	2	3
Vozite se u automobilu kao putnik sat vremena neprekidne vožnje	0	1	2	3
Ležite i odmarate se u dnevnom boravku kad Vam prilike dopuste	0	1	2	3
Sjedite i razgovarate s nekim	0	1	2	3
Sjedite nakon obroka bez da ste popili alkoholno piće	0	1	2	3
Nalazite se u automobilu zaustavljeni i stojite u gužvi nekoliko minuta	0	1	2	3

Zbroj \_\_\_\_\_

**B. STOP-BANG upitnik*****STOP-BANG upitnik***

Spol: M Ž

Visina: \_\_\_\_\_ (cm) Tj. masa: \_\_\_\_\_ (kg) Dob: \_\_\_\_\_ (godine)

Opseg vrata: \_\_\_\_\_ (cm)

Opseg struka: \_\_\_\_\_ (cm)

Imate li položen vozački ispit? DA NE Kategorija? \_\_\_\_\_

Jeste li ikada imali prometnu nezgodu kao vozač? DA NE Ako DA, koliko puta? \_\_\_\_\_

1. Hrkanje:  
Hrčete li glasno (glasnije nego što pričate ili dovoljno glasno da Vas se može čuti iza zatvorenih vrata)?  
DA NE
2. Umor:  
Osjećate li se često umorni, zamarate li se ili ste pospani tijekom dana?  
DA NE
3. Zamijećenost:  
Je li netko zamijetio da ste prestali disati tijekom spavanja?  
DA NE
4. Imate li ili se liječite od povišenog arterijskog tlaka (hipertenzije)?  
DA NE
5. Imate li BMI vrijednost  $>35 \text{ kg/m}^2$ ?  
DA NE
6. Imate li  $>50$  godina?  
DA NE
7. Imate li opseg vrata  $>40$  cm?  
DA NE
8. Muški spol?  
DA NE