

# Specifičnosti cerebrovaskularnog, kardiorespiracijskog i simpatičkog živčanog odgovora na ugljični dioksid u ronilaca na dah

---

Ivančev, Vladimir

Doctoral thesis / Disertacija

2009

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:171:544290>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-10-05**



Repository / Repozitorij:

[MEFST Repository](#)



UNIVERSITY OF SPLIT



dabar

DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

**SVEUČILIŠTE U SPLITU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Vladimir Ivančev**

**SPECIFIČNOSTI CEREBROVASKULARNOG,  
KARDIORESPIRACIJSKOG I SIMPATIČKOG ŽIVČANOG  
ODGOVORA NA UGLJIČNI DIOKSID U RONILACA NA DAH**

Doktorska disertacija

Split, siječanj 2009.

Istraživanja su u potpunosti provedena u Zavodu za integrativnu fiziologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu, uz nesebičnu pomoć i suradnju kolega: prof. dr. sc. Zoran Valić, doc. dr. sc. Darija Baković, dr. sc. Ivan Palada, dr. med. Ante Obad, dr. med. Toni Brešković, dipl. ing. Ivana Banić (Zavod za integrativnu fiziologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu); dr. med. Gordan Džamonja (Klinika za neurologiju KBC Split); prof. dr. sc. Michael J. Joyner, prof. dr. sc. Niki M. Dietz (Department of Anesthesiology, Mayo Clinic College of Medicine, Rochester, USA); dr. sc. Jens Tank, dr. sc. Karsten Heusser, dr. sc. Jens Jordan (Franz-Volhard Clinical Research Center, Berlin, Germany); dr. sc. Andre Diedrich (Autonomic Dysfunction Service, Vanderbilt University, Nashville, USA).

Voditelj rada: prof. dr. sc. Željko Dujčić

<b>1. Sadržaj</b>		<b>stranica</b>
1.	<i>SADRŽAJ PREMA POGLAVLJIMA</i>	3
2.	<i>POPIS OZNAKA I SKRAĆENICA</i>	5
3.	<i>UVOD</i>	6
	<i>3.1. Središnja i periferna regulacija disanja</i>	6
	<i>3.2. Kemijska kontrola disanja</i>	7
	<i>3.3. Fiziološke osobitosti ronjenja na dah</i>	7
	<i>3.4. Pregled dosadašnjih istraživanja i spoznaja u okviru predložene problematike:</i>	9
	<i>3.4.1. Cerebrovaskularni odgovor na hiperkapniju u ronilaca na dah</i>	9
	<i>3.4.2. Osjetljivost kemosenzitivnog područja dišnog centra i odgovor simpatičkog živčanog sustava na hiperkapniju</i>	11
	<i>3.4.3. Učinak indometacina na odgovor cerebrovaskularnog, kardiovaskularnog i respiracijskog sustava u hiperkapniji</i>	13
	<i>3.5. Ciljevi i svrha istraživanja</i>	15
4.	<i>TVORIVA I POSTUPCI</i>	18
	<i>4.1. Etičnost postupaka</i>	18
	<i>4.2. Ispitanici i provedene mjerne metode</i>	18
	<i>4.3. Protokoli svojstveni pojedinim istraživanjima</i>	24
	<i>4.3.1. Istraživanje 1.</i>	24
	<i>4.3.2. Istraživanje 2.</i>	25
	<i>4.3.3. Istraživanje 3.</i>	25
	<i>4.4. Analiza podataka i statistički postupci</i>	26

5.	<i>REZULTATI</i>	29
	5.1. <i>Istraživanje 1.</i>	29
	5.2. <i>Istraživanje 2.</i>	32
	5.3. <i>Istraživanje 3.</i>	40
6.	<i>RASPRAVA</i>	50
	6.1. <i>Istraživanje 1.</i>	50
	6.2. <i>Istraživanje 2.</i>	53
	6.3. <i>Istraživanje 3.</i>	56
	<i>Ograničavajući čimbenici provedenih istraživanja</i>	59
7.	<i>ZAKLJUČAK</i>	61
8.	<i>SAŽETAK</i>	63
9.	<i>SUMMARY</i>	66
10.	<i>POPIS LITERATURE</i>	69
11.	<i>ŽIVOTOPIS</i>	77

## **2. Popis oznaka i skraćenica** ( prema abecednom redu )

BHD – ronionci na dah (*engl. breath hold divers*)

CO<sub>2</sub> – ugljični dioksid

CO – minutni volumen srca (*engl. cardiac output*)

CPAP – terapijski postupak (*engl. continuous positive airway pressure*)

CVR – cerebrovaskularni otpor (*engl. cerebral vascular resistance*)

FAMBV – brzina protoka kroz femoralnu arteriju (*engl. femoral artery mean blood velocity*)

FAVR – otpor protoku kroz femoralnu arteriju (*engl. femoral artery vascular resistance*)

FEV<sub>1</sub> – forsirani ekspiracijski volumen u 1. sekundi

FVC – forsirani vitalni kapacitet (*engl. forced vital capacity*)

H<sup>+</sup> – vodikov ion

HR – srčana frekvencija (*engl. heart rate*)

INDO – oznaka za indometacinski pokus

MAP – srednji arterijski tlak (*engl. mean arterial pressure*)

MCAV – brzina protoka kroz srednju cerebralnu arteriju (*engl. middle cerebral artery velocity*)

MSNA – mišićna simpatička živčana aktivnost (*engl. muscle sympathetic nerve activity*)

NO – dušični oksid

OSA – opstruktivni poremećaj disanja tijekom spavanja (*engl. obstructive sleep apnea*)

PCO<sub>2</sub> – parcijalni tlak ugljičnog dioksida

P<sub>ET</sub>CO<sub>2</sub> – vršna koncentracija ugljičnog dioksida na kraju izdisaja

PG – prostaglandini

RDI – pokazatelj respiracijskih poremetnji (*engl. respiratory disturbance index*)

R<sub>f</sub> – frekvencija disanja (*engl. respiratory frequency*)

SaO<sub>2</sub> – zasićenost arterijske krvi kisikom

SV – udarni volumen srca (*engl. stroke volume*)

TPR – ukupni periferni otpor (*engl. total peripheral resistance*)

V<sub>E</sub> – minutna ventilacija

V<sub>T</sub> – volumen udisaja (*engl. tidal volume*)

### **3. Uvod**

#### **3.1. Središnja i periferna regulacija disanja**

Osnovna je uloga disanja održavanje odgovarajućih koncentracija kisika ( $O_2$ ), ugljičnog dioksida ( $CO_2$ ) i vodikovih iona ( $H^+$ ) u tkivima. Sposobnost živčanog sustava u prilagođavanju alveolarne ventilacije trenutačnim potrebama organizma je razvijena do te mjere da se parcijalni tlakovi kisika i ugljičnog dioksida vrlo malo mijenjaju čak i za vrijeme intenzivnog mišićnog rada, odnosno svih drugih stanja povećane energetske potrošnje. Ovakva sposobnost je moguća uslijed dobre razvijenosti i usklađenosti središnje i periferne regulacije disanja.

Središnja, neuralna, kontrola disanja odvija se u tri glavne skupine respiracijskih neurona (1, 2):

1. dorzalna respiracijska skupina – dorzalni dio produljene moždine
2. ventralna respiracijska skupina – ventrolateralni dio produljene moždine, takozvano primarno ritmogeno područje (PreBötzinger područje)
3. pontina respiracijska skupina – dorzalni, gornji dio ponsa

Dorzalna respiracijska skupina neurona je većinom smještena u jezgri solitarnog trakta, gdje završavaju osjetna živčana vlakna glosofaringeusa i vagusa odakle se dalje u ventralnu respiracijsku skupinu prenose signali iz perifernih kemoreceptora, baroreceptora, te nekoliko vrsta receptora iz pluća.

### **3.2. Kemijska kontrola disanja**

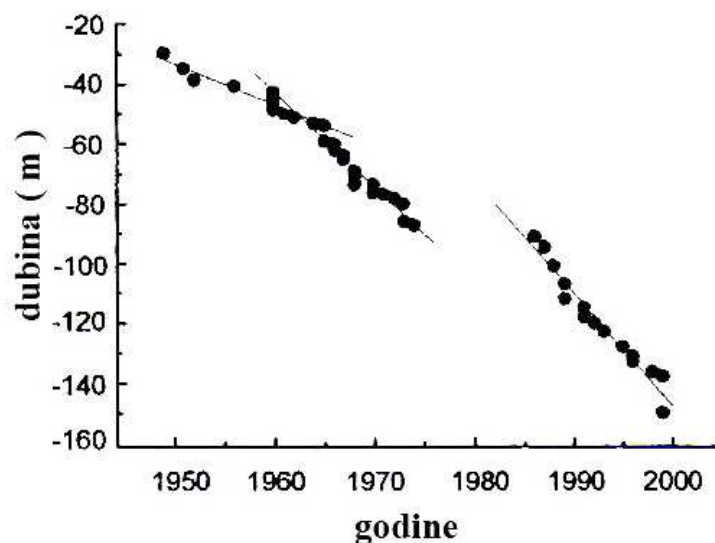
Povećana koncentracija CO<sub>2</sub> i H<sup>+</sup> u krvi djeluje izravno na dišni centar pojačavajući ventilacijski odgovor. Naglašen je akutni učinak promjene koncentracije ugljičnog dioksida na središnju regulaciju disanja, dok je kronični učinak neznatan zbog prilagodbe. Kisik nema snažan izravni učinak na središnju regulaciju disanja, nego djeluje na periferne kemoreceptore u karotidnim i aortalnim tjelešcima, koji dalje šalju informacije u dišni centar. Ipak, podražaj dišnog centra perifernim kemoreceptorima je pet puta brži od središnjeg podražaja što može imati bitnu ulogu u ventilacijskom odgovoru na početku mišićnog rada (3).

### **3.3. Fiziološke osobitosti ronjenja na dah**

Ronjenje na dah spominje se još u zapisima iz Stare Grčke, Perzije, Indije, Koreje i Japana prije više od 2000 godina (4). Svrha tadašnjih ronilaca na dah bila je višestruka: skupljanje morskih plodova (spužvi, bisera...); podvodni radovi prilikom popravka brodova ili podvodnih temelja građevina; korištenje u vojne svrhe (*Urinatores* u Rimskoj vojsci). Pronalaskom "ronilačkog zvona" (Hans von Treileben) učinjen je pomak u duljini trajanja ronjenja jer bi sav raspoloživi zrak ronilac trošio na aktivnost pod vodom, dok bi za vrijeme zaranjanja i izranjanja boravio u "zvonu". U jednom od liječničkih izvješća iz 1913. godine opisuje se zdravstveni status grčkog ronioca na dah koji je pomogao oslobađanju sidra talijanskog bojnog broda sa dubine od 70m. Liječnik je naznačio kako ronilac "boluje" od emfizema pluća, te kako nema niti jednog bubnjića. U moderno doba ovakvi ronioci lagano nestaju, s time kako im je aktivnost još uvijek održana u Koreji (Ama - žene ronilice) i u Japanu (Funado ronioci).



U današnje vrijeme u pravilu su zastupljene dvije skupine ronilaca na dah: profesionalni i rekreativni podvodni ribolovci, te natjecatelji u ronjenju na dah. Podvodni ribolovci u pravilu ne rone ispod 10-20 m. U natjecanjima u ronjenju na dah, ako se izuzmu natjecanja u statičkoj apneji, dubina zaranjanja, postignuta sa ili bez pomoći utega i drugih pomagala, glavni je klasifikacijski čimbenik. Godine 1949. kada su natjecanja službeno počela, rekord je iznosio 30 m. Želja za što većim dosegnutim dubinama dovela je nerijetko i do smrtnih slučajeva, te su 1991. godine propisana jasna i precizna pravila u svezi uporabe utega u potpomognutom zaranjanju. Općenito, uporaba utega ubrzava zaranjanje, odnosno produljuje boravak na konačnoj dubini sa 25 na 40 % od ukupnog vremena provedenog u vodi, smanjujući potrošnju energije na mišićnu aktivnost tijekom zaranjanja. Suha odijela omogućavaju čuvanje energije koja bi se inače trošila na održanje temperaturne homeostaze. Umberto Pellizzari je 1999. godine zaronio do 150 metara dubine. Današnji svjetski rekord u dubinskom zaranjanju na dah bez ograničenja iznosi 214 metara, a postigao ga je 2007. godine Herbert Nitsch. Svjetski rekord u istoj disciplini kod žena pripada Tanyi Streeter (2002. godine) i iznosi 160 metara (Apnea diving world records, <http://www.aida-international.org/>).



Slika 1. Maksimalne dosegnute dubine zaranjanja na natjecanjima od 1949. do 2000. godine (4).

### **3.4. Pregled dosadašnjih istraživanja i spoznaja u okviru predložene problematike**

#### **3.4.1. Cerebrovaskularni odgovor na hiperkapniju u ronilaca na dah**

Promjene cerebrovaskularnog protoka krvi mogle bi imati značajnu ulogu u ventilacijskom odgovoru preko utjecaja na razinu kemijskih podražaja dišnog centra. Povećanjem cerebrovaskularnog protoka vodikovi ioni bivaju pojačano odstranjeni iz područja dišnog centra koji se nalazi u produljenoj moždini i ponsu, što za posljedicu ima smanjenje podražaja za disanje (5). Obrnuto, smanjenjem moždanog protoka dolazi do nakupljanja vodikovih iona u dišnom centru, te posljedično pojačanog ventilacijskog odgovora. Ugljični dioksid ima snažan, akutni učinak na kontrolu disanja i na moždani protok. Hiperkapnija uzrokuje vazodilataciju i povećanje protoka u moždanim krvnim žilama, dok hipokapnija dovodi do vazokonstrukcije i posljedičnog smanjenja protoka.

Ronionci na dah se općenito uzimaju kao ekstremni primjeri "zdravih" ljudi koji se učestalo i dragovoljno izlažu višeminutnom prekidu disanja - apneji. Među njima ima i onih koji mogu zaustaviti disanje dulje od devet minuta, ili s posebnim pomagalicama zaroniti dublje od 200 m. Pritom im se pred ponovnu uspostavu disanja, alveolarni parcijalni tlak kisika može sniziti čak na 30 – 40 mm Hg, a zasićenje arterijske krvi kisikom smanji na, nevjerojatnih, 50 % (4). Danas ih najčešće susrećemo u podvodnom ribolovu, kako komercijalnom, tako i natjecateljskom. Prema uobičajenom slijedu natjecanja u podvodnom ribolovu traju oko 5 sati. Unutar toga vremena, čitav jedan sat otpada na boravak pod vodom, dakle rad bez disanja - *apneju*. Tijekom natjecanja u dubinskom ronjenju na dah prilično su

česti kratkotrajni gubici svijesti u trenutku izranjanja, odnosno ponovne uspostave disanja. Pokušaji uspostavljanja novih, nevjerojatnijih rekorda, dovode ronioce u granična fiziološka stanja. Kako drugačije opisati svjetski rekord Kristijana Curavića u zaranjanju do dubine od 51m ispod leda na Sjevernom polu, pri čemu je temperatura zraka iznosila  $-50^{\circ}\text{C}$ , a temperatura vode  $-2^{\circ}\text{C}$  ?

Vrhunski ronionci na dah imaju sposobnost duljeg zadržavanja daha unatoč prisutnoj ekstremnoj hipoksiji i hiperkapniji. Tijekom zaranjanja, te dospijećem do najniže točke zaranjanja, ronilac se izlaže hiperoksičnoj hiperkapniji uslijed porasta hidrostatskog tlaka (4, 6). Hipoksija je najveća prijetnja neposredno prije izranjanja, odnosno odmah nakon izranjanja uslijed naglog snižavanja hidrostatskog tlaka te velike potrošnje kisika tijekom ronjenja. Istovremeno, tijekom ronjenja ronionci su izloženi stalnom nakupljanju  $\text{CO}_2$ , odnosno progresivnoj hiperkapniji.

Neka od dosadašnjih istraživanja su pokazala postojanje oslabljenog ventilacijskog odgovora na hiperkapniju kod različitih populacija treniranih ronilaca na dah poput vojnih i civilnih ronilaca (7-11), dok je u istraživanjima drugih autora ili drugih populacija ronilaca isti bio nepromijenjen (12, 13). Razlike u ventilacijskom odgovoru na hiperkapniju mogle bi se objasniti razlikom u stimulansu (hipoksično-hiperkapnični ili hiperoksično-hiperkapnični), razlikom u spolu (progesteronom uzrokovana hiperventilacija u postovulacijskoj fazi), ili različitim protokolima izazivanja hiperkapnije i istraživanja kemosenzitivnosti (ravnotežna metoda nasuprot metodi ponovnog udisanja u zatvorenom krugu – *engl. rebreathing*). Općenito, kroz sva navedena istraživanja provlači se ideja kako ponavljano izlaganje hiperkapniji umanjuje ventilacijski odgovor na ugljični dioksid.

Umanjeni cerebrovaskularni odgovor na hiperkapniju tijekom dana je dokazan kod osoba s povremenim izostankom spontanog disanja tijekom spavanja (*OSA, engl. obstructive*

*sleep apnea*) (14-17) i bolesnika s kongestivnim zatajenjem srca (18). Umanjeni odgovor na hiperkapniju tijekom spavanja (19) i jutro (20, 21) zapažen je čak i kod zdravih ispitanika, dok je jutarnji kardiovaskularni odgovor na hipoksiju nepromijenjen (21). Korištenjem metode nazalne ventilacije s trajnim pozitivnim tlakom u dišnim putovima (*CPAP, engl. continuous positive airway pressure*) u OSA bolesnika cerebrovaskularni odgovor na hiperkapniju se normalizirao (14).

Temeljem spoznaja o oslabljenom ventilacijskom odgovoru na hiperkapniju u ronilaca na dah i OSA bolesnika, obostranom izlaganju povremenim hipoksično-hiperkapničnim epizodama, i oslabljenom cerebrovaskularnom odgovoru na hiperkapniju u OSA bolesnika, postavlja se pitanje kakav je cerebrovaskularni odgovor na hiperkapniju u ronilaca na dah.

### **3.4.2. Osjetljivost kemosenzitivnog područja dišnog centra i odgovor simpatičkog živčanog sustava na hiperkapniju**

Posebno zanimljivu skupinu u proučavanju središnje regulacije disanja predstavljaju osobe s povremenim izostankom spontanog disanja tijekom spavanja. Bitno svojstvo ovog poremećaja jesu prekidi spontanog disanja u trajanju od 10 ili više sekundi, 300 do 500 puta tijekom noći, iz čega se može zaključiti kako približno 20% vremena tijekom spavanja otpada na apneju. Čest uzrok ovih apneja je zatvaranje gornjih dišnih putova uslijed deformiteta ili promijenjenih anatomskih struktura. Kao bitan pokazatelj respiracijskih poremećaja u klasifikaciji i stupnjevanju OSA uzima se tzv. RDI pokazatelj (*engl. respiratory disturbance index*). Ovaj parametar u dijagnostici i stupnjevanju OSA uzima u obzir broj apneja u jedinici vremena kao i broj hipopneja izraženih kao smanjenje protoka kroz dišne putove za najmanje 50%. Povremena hipoksija i hiperkapnija tijekom opstruktivnih epizoda mogu utjecati na autonomnu regulaciju kronično povećavajući eferentnu simpatičku živčanu aktivnost (22) i

ukupni periferni otpor, što dovodi do nastanka arterijske hipertenzije kao jedne od značajnijih komplikacija toga poremećaja (23, 24). Pojačana simpatička aktivnost, kao i poremećaji simpatičke barorefleksne i kemorefleksne kontrole su prisutni i tijekom dana kada su OSA bolesnici budni (25-27). Kod oboljelih od OSA je povećan rizik od kardiovaskularnih oboljenja (28, 29) što se objašnjava pretjeranom simpatičkom aktivnošću, endotelnom disfunkcijom i arterijskom hipertenzijom (30-32). Kako se zasićenost arterijske krvi kisikom smanjuje, simpatička aktivnost raste (31). Na sličan način, hipoksemija izazvana apnejom u kliničkim i laboratorijskim uvjetima povećava simpatičku aktivnost i podešava arterijski barorefleksni mehanizam na više vrijednosti arterijskog tlaka (33-36). Pojačan odgovor simpatičkog autonomnog živčanog sustava na hipoksiju i hiperkapniju je dokazan na životinjskom modelu (37). Nedavna istraživanja naglašavaju veći značaj hiperkapnije na porast arterijskog tlaka i prilagodbu baroreceptora (38).

Navodeći sve ove promjene do kojih dolazi prilikom izlaganja povremenim, ali učestalim apnejama, uznemirava podatak kako se zdravi sportaši poput igrača podvodnog hokeja, sinkroniziranih plivačica i, konačno, ronilaca na dah u svakodnevnom treningu dragovoljno podvrgavaju višeminutnom prestanku disanja kao sastavnom dijelu uvježbavanja.

Iz navedenoga se može zaključiti kako je opetovano izlaganje apneji, odnosno hipoksičnoj hiperkapniji, svojstveno OSA bolesnicima u snu kao i ronionicima na dah tijekom ronjenja te kako bi se i u ronilaca na dah mogla očekivati povećana simpatička aktivnost.

### **3.4.3. Učinak indometacina na odgovor cerebrovaskularnog, kardiovaskularnog i respiracijskog sustava u hiperkapniji**

Hiperkapnija je poznata kao snažan cerebralni vazodilatator i ventilacijski poticaj, dok hipokapnija dovodi do cerebralne vazokonstrukcije te, posljedično, do smanjenja cerebralnog protoka. Xie (5) je naglasio važnu ulogu cerebrovaskularnog odgovora na CO<sub>2</sub> u normokapničkom i hiperkapničkom ventilacijskom odgovoru.

Prostaglandini imaju važnu ulogu u regulaciji cerebrovaskularnog protoka i vazodilatacijskog odgovora na hiperkapniju (39, 40). Do sada je pokazano na životinjskom modelu (41), i na ljudima (42, 43) kako nespecifični inhibitor ciklooksigenaze, indometacin, umanjuje bazalni cerebrovaskularni protok za 20% do 40%. Općenito, naglašava se vazokonstriktorski učinak indometacina koji dovodi do retencije tekućine i posljedično povećanja arterijskog tlaka. U istraživanjima brojnih autora indometacin je naveden kao snažan reverzibilni blokator ciklooksigenaze, koji smanjuje protok kroz moždane krvne žile i cerebrovaskularnu osjetljivost na ugljični dioksid (44-47) bez pratećeg učinka na druge metaboličke parametre (48, 49) ili katekolamine u plazmi (50-52). Ove spoznaje čine indometacin gotovo idealnim sredstvom za istraživanje učinaka cerebrovaskularnog protoka na mehanizme kontrole disanja kod ljudi.

Indometacinom uzrokovano smanjenje cerebrovaskularnog protoka kod zdravih ljudi dovodi do pojačanog ventilacijskog odgovora na hiperkapniju. Pojačan ventilacijski odgovor primijećen je kako u normoksičnim, tako i u hiperoksičnim uvjetima, što daje za pravo tvrdnji kako je uzrokovan učinkom indometacina na ekstracelularni segment središnjih kemoreceptora (5). Hiperoksični protokol se koristi s ciljem izuzimanja učinka perifernih kemoreceptora na ventilacijski odgovor u hiperkapniji (53). Budući da tijekom hiperkapničnog protokola disanja u zatvorenom krugu razlika PCO<sub>2</sub> između arterijske krvi i

mozga nije značajno uvjetovana promjenama cerebrovaskularnog protoka (54, 55), pretpostavili smo kako indometacin neće imati neki značajan učinak na ventilacijski i cerebrovaskularni odgovor pri navedenom protokolu u ronilaca na dah. Pokazano je kako ronionci na dah imaju nepromijenjen cerebrovaskularni odgovor (56) i mišićnu simpatičku živčanu aktivnost (57) u odnosu na kontrolnu populaciju tijekom progresivne hiperkapnije. Za razliku od njih, OSA bolesnici imaju tijekom dana umanjene hiperkapnične cerebrovaskularne odgovore (14, 16, 17).

### **3.5. Ciljevi i svrha istraživanja**

U dosadašnjim našim istraživanjima (58, 59) proučavani su učinci hipoksične hiperkapnije na cerebro- i kardiovaskularne parametre po principu modela "suhe apneje" gdje bi ispitanici dragovoljno zadržavali dah. Istraživanja opisana u ovoj disertaciji zasnivaju se na ideji proučavanja odgovora respiracijskog, kardiovaskularnog, cerebrovaskularnog i simpatičkog živčanog sustava na višeminutno stanje progresivne hiperkapnije, bez istovremene hipoksije, među skupinama zdravih muškaraca bez ronilačke anamneze, dugogodišnjih ronilaca na dah, te skupine OSA bolesnika bez drugih pridruženih bolesti i poremećaja.

#### **Istraživanje 1**

Vodeći se trenutno prevladavajućim mišljenjem o izravnom djelovanju CO<sub>2</sub> na središnju regulaciju disanja, ovim istraživanjem se pokušava rasvijetliti zasebna uloga progresivno rastuće hiperkapnije na središnju regulaciju disanja, ali i druge metaboličke procese. Provedenim protokolom sa hiperoksičnom hiperkapnijom se onemogućava hipoksija, te njen utjecaj na periferne kemoreceptore, a ispitanici se uvode u stanje kontrolirane, progresivne hiperkapnije. Nepoznat je cerebrovaskularni odgovor na hiperkapniju u ronilaca na dah, odnosno, može li se i u ovome segmentu očekivati promijenjen odgovor, ili je on nepromijenjen uslijed prilagodbe i razvoja zaštitnog mehanizma zbog učestalih hiperkapnija i hipoksija. Cilj ovoga istraživanja je usporediti cerebrovaskularne odgovore na hiperkapniju u ronilaca na dah i zdravih osoba bez ronilačke anamneze.



*Ovim istraživanjem nastoji se potvrditi hipoteza o nepromijenjenom cerebrovaskularnom odgovoru na hiperkapniju u ronilaca na dah. Temeljem ove pretpostavke pokušava se rasvijetliti uloga opetovanih epizoda hiperkapnije u cerebrovaskularnom odgovoru kod zdravih ronilaca na dah, dakle osoba bez pridruženih poremećaja kardiovaskularnog, respiracijskog ili nekog drugog sustava. Ovakav pristup je zamišljen kao prvi korak u razlučivanju promjena koje dovode do oslabljenog cerebrovaskularnog odgovora na hiperkapniju u OSA bolesnika.*

## **Istraživanje 2**

Spoznaje o pojačanoj simpatičkoj živčanoj aktivnosti u OSA bolesnika navele su nas na razmišljanje što se događa kod ekstremnih sportaša, dakle "zdravih" ljudi, izloženih učestaloj hipoksiji i hiperkapniji. Na ovaj način pokušava se pronaći odgovor na pitanje je li pojačana simpatička aktivnost posljedica akutnih ili kroničnih izlaganja hiperkapniji, ili je posljedica pridruženih patoloških zbivanja u OSA.

*U ovom istraživanju ispitivala se hipoteza kako ronionci na dah imaju pojačanu simpatičku aktivnost u odnosu na zdrave osobe bez ronilačke anamneze. Nadalje, istraživao se odgovor simpatičkog živčanog sustava na progresivnu hiperkapniju tijekom pokusa ponovnog udisanja unutar zatvorenog kruga.*

### Istraživanje 3

Uzimajući u obzir pretpostavku o ronionicima na dah kao zdravim modelima OSA, razvila se ideja usporedbe ovih dviju skupina ljudi učestalo izloženih hipoksiji i hiperkapniji. Učinak hipokapnije i hiperkapnije na promatrane parametre se pratio i nakon blokade sinteze prostaglandina, spojeva važnih za regulaciju protoka u moždanoj cirkulaciji. Do sada su istraživanja ove vrste rađena isključivo na zdravim ispitanicima bez ronilačke ili OSA anamneze (5, 46). Posljednjim u nizu predloženih istraživanja uspoređivali su se hipokapnični i hiperkapnični odgovori skupine ronilaca na dah s odgovarajućom skupinom "zdravih" OSA bolesnika, te se na taj način ispitivala ispravnost tvrdnje o ronionicima na dah kao zdravim OSA modelima. Uz to, proučavao se hipokapnični i hiperkapnični odgovor pod utjecajem inhibitora sinteze prostaglandina, indometacina, promatranog kroz cerebrovaskularne, kardiovaskularne i respiracijske parametre.

*Primjenom indometacina ispituje se hipoteza o sličnosti vazodilatacijskih i vazokonstriksijskih prostaglandinskih i ne-prostaglandinskih mehanizama u ronilaca na dah i OSA bolesnika u smislu regulacije cerebralne cirkulacije u stanju intermitentne hiperkapnije.*

## **4. Tvoriva i postupci**

**4.1.** Istraživanja su se obavljala u sklopu znanstvenih projekata 216-2160133-0130, voditelja prof. dr. sc. Željka Dujića, i 216-2160133-0330, voditelja prof. dr. sc. Zorana Valića, potvrđenih od strane Ministarstva znanosti, obrazovanja i športa. Odobrena su od strane Etičkog povjerenstva Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu te su se provodila u skladu s Helsinškom deklaracijom. Svi planirani postupci, metode, te potencijalni rizici su se u pisanom obliku predložili i detaljno pojasnili ispitanicima, nakon čega su oni potpisom potvrdili sudjelovanje u pokusu. Istraživanje su mogli napustiti u bilo kojem trenutku bez ikakvih posljedica.

### **4.2. Ispitanici i provedene mjerne metode**

Istraživanja su se provodila u klimatiziranim laboratorijima, pri stalnoj temperaturi i vlažnosti zraka, u prijepodnevnim satima. Ispitanici su bili informirani kako 4 h prije istraživanja ne smiju ništa jesti, niti piti kofeinske napitke. U laboratorij bi dolazili 30 min prije predviđenog početka istraživanja u cilju prilagodbe na laboratorijske uvjete i informiranja o postupcima. Određivao im se antropometrijski status mjerenjem visine, težine i kožnih nabora (Harpender skinfold caliper, Burgess Hill, England). Iz navedenih parametara im se izračunao postotak masnog tkiva (60), te indeks tjelesne mase. Učinjena im je i spirometrija u stojećem položaju spirometrom (Quark PFT, Cosmed, Rome, Italy) u skladu s preporukama Američkog torakalnog društva (61). Nakon prethodno navedenih mjerenja, svi ispitanici su smješteni u odgovarajući položaj predviđen protokolom, te su se kroz narednih 15 min privikavali na postojeće uvjete.

### 4.2.1. Istraživanje 1

Ispitanike su činile dvije skupine od po 7 osoba, svi redom zdravi, normotenzivni i nepušači, od čega su jednu činili muškarci s dugogodišnjom anamnezom učestalog i dugotrajnog ronjenja na dah, dok su drugu činili muškarci, slične dobi, bez ronilačke anamneze.

#### Postupci i mjerni uređaji korišteni tijekom ovog istraživanja

##### 4.2.1.1. Postupak ponovnog udisanja u zatvorenom krugu

Ispitanici sjedeći dišu kroz usni nastavak pri čemu im je nos začepljen štupaljkom. Usni nastavak je postavljen na jednosmjerni udisajno - izdisajni ventil spojen sa slijedećim uređajima:

- a) metabolički analizator (Quark b<sup>2</sup>, Cosmed, Rome, Italy), koji po principu analize svakog respiracijskog ciklusa (*engl. breath by breath*) prikazuje učestalost disanja ( $R_f$ , *engl. respiratory frequency*), volumen udisaja ( $V_T$ , *engl. tidal volume*), minutnu ventilaciju ( $V_E$ , *engl. ventilation*).
- b) spirometar (Harvard apparatus, Student model, Holliston, USA), koji se puni sa 6 l smjese 95 % kisika i 5 % ugljičnog dioksida, te predstavlja zatvoreni respiracijski krug.
- c) Poet II (Criticare Systems, Waukesha, USA) kojim se određuje vršna koncentracija CO<sub>2</sub> na kraju izdisaja ( $P_{ET}CO_2$ ), te zasićenost arterijske krvi kisikom ( $SaO_2$ ).

#### **4.2.1.2. Mjerenje brzine protoka krvi kroz srednju cerebralnu arteriju**

*(MCAV, engl. middle cerebral artery velocity)*

Mjerenja su provedena transkranijском "doppler" ultrazvučnom sondom od 2 MHz (Transcranial Doppler, Neurovision System, Multigon, Yonkers, USA) postavljenom na temporalnoj kosti (*tzv. temporalni prozor*) snimajući srednju cerebralnu arteriju. Sonda se precizno postavlja i pričvršćuje držačem za glavu (Multigon, Yonkers, USA) kako bi se omogućio najpovoljniji kut prikaza ciljane krvne žile. Zbog razmještaja ostalih mjernih uređaja određuje se brzina protoka krvi kroz desnu cerebralnu arteriju, imajući u vidu prethodna istraživanja koja su pokazala kako nema razlike u protoku između lijeve i desne strane (62). Mjeri se brzina protoka krvi, što se zasniva na istraživanjima brojnih autora (63-65) koji su pokazali kako relativne promjene brzine protoka u srednjoj cerebralnoj arteriji izravno pokazuju relativne promjene u moždanom protoku krvi.

#### **4.2.1.3. Mjerenja ostalih kardiovaskularnih varijabli**

Neprekidno neinvazivno mjerenje srčane frekvencije (HR, *engl. heart rate*) i arterijskog tlaka se obavljalo fotopletizmometrom (Finometar, Finapres Medical System, Arnhem, Netherlands) sa manšetom postavljenom na srednjem prstu nedominantne ruke. Neprekidnim mjerenjem arterijskog tlaka, te metodom analize pulsnoг vala izračunavaju se promjene udarnog volumena srca (*SV, engl. stroke volume*). Za izračun udarnog volumena rabi se Wesseling-ova metoda, koristeći računalni Modelflow program, koji se temelji na nelinearnom, 3-elementnom modelu koji izračunava ulazni otpor aorte (66). Zasićenost arterijske krvi kisikom se neprekidno mjeri pulsним oksimetrom Poet II s probom uređaja postavljenom na srednji prst dominantne ruke. Analogni signali arterijskog tlaka, srčane

frekvencije i zasićenosti arterijske krvi kisikom su putem analogno-digitalnog pretvarača (PowerLab 16S data acquisition system, ADInstruments, Castle Hill, Australia) prevedeni u digitalni oblik, te neprekidno snimani i pohranjivani na tvrdi disk osobnog računala (Apple eMac PC). Srednji arterijski tlak (*MAP, engl. mean arterial pressure*) se uz pomoć PowerLab programa izračunavao iz kontinuiranog zapisa tlaka.

#### **4.2.2. Istraživanje 2**

U ovo istraživanje bilo je uključeno 20 ispitanika od čega u prvoj skupini 11 zdravih muškaraca sa dugogodišnjom anamnezom ronjenja na dah. Ostalih 9 ispitanika su činili kontrolnu skupinu zdravih muškaraca bez ronilačke anamneze.

#### **Postupci i mjerni uređaji korišteni tijekom ovog istraživanja**

##### **4.2.2.1. Mjerenje brzine protoka krvi kroz femoralnu arteriju**

*(FAMBV, engl. femoral artery mean blood velocity)*

Mjerenja su provedena ultrazvučnom sondom od 4 MHz (Transcranial Doppler, Neurovision System, Multigon, Yonkers, USA) postavljenoj iznad femoralne arterije u anteromedijalnom dijelu lijeve natkoljenice i učvršćene elastičnom ljepljivom trakom. Otpor protoku kroz femoralnu arteriju se izračunavao iz kvocijenta srednjeg arterijskog tlaka i srednje brzine protoka krvi kroz femoralnu arteriju.

#### 4.2.2.2. Mjerenje mišićne simpatičke živčane aktivnosti

*(MSNA, engl. muscle sympathetic nerve activity)*

Za mjerenje MSNA koristila se standardizirana mikroneurografska metoda zapisa postganglijske simpatičke živčane aktivnosti unipolarnom tungsten mikroelektrodom iz peronealnog živca uz glavu fibule desne noge ili u desnoj poplitealnoj jami (67, 68).

Simpatička živčana aktivnost je prikazana na dva načina:

- 1) kao broj izbijanja u jedinici vremena;
- 2) kao ukupna aktivnost izražena kao „područje ispod krivulje“ (*engl. area under curve*)

Primjena oba načina prikaza je poduzeta s ciljem što potpunijeg uvida u simpatičku aktivnost tijekom hiperoksično-hiperkapničnog pokusa. Mjerenja su provedena uređajima S48K Square Pulse Stimulator (Astro-Med. Inc, W. Warwick, RI, USA) i 662C-4 Nerve Traffic Analysis System (Bioengineering, The University of Iowa, USA) povezanim putem analogno-digitalnog pretvarača PowerLab 16S (ADInstruments, Castle Hill, Australia). Podaci su prevođeni u signal od 500 Hz WinDaq pro+ programom (Dataq Instruments, Akron, USA). Vrijednosti sistoličkog i dijastoličkog arterijskog tlaka, R-R intervali i respiracijski parametri su obrađeni uz pomoć programa zasnovanog na PV-WAVE (Visual Numerics, San Ramon, USA) (69).

Mišićna simpatička živčana aktivnost se bilježi nakon pročišćavanja integriranog signala na osnovi slijedećih kriterija:

1. odnos signal / šum  $> 2$
2. latencija izbijanja
3. širina pojedinih izbijanja (potencijali kratkog trajanja – artefakt; potencijali dugog trajanja – kožna simpatička ili aferentna živčana aktivnost)
4. izostanak ekstrasistola

Uz navedene parametre provedena su jednaka mjerenja kao pod 4.2.1.1. i 4.2.1.3.

### **4.2.3. Istraživanje 3**

Istraživanje je obuhvatilo dvije skupine od po sedam ispitanika iz populacije ronilaca na dah i OSA bolesnika. Svaki ispitanik iz jedne skupine je imao u drugoj skupini ispitanika približno jednake dobi. Svi su bili urednog zdravstvenog statusa, nepušači, te nisu bili pod nikakvom terapijom. Skupinu OSA ispitanika činili su OSA bolesnici sa što većim RDI pokazateljom, normoksični, normokapnični, bez drugih pratećih kardiorespiracijskih poremećaja svojstvenih OSA. OSA poremećaj im je dijagnosticiran polisomnografskim snimanjem (Poly-MESAM, MAP, Martinsried, Germany) u Laboratoriju za poremećaje spavanja Kliničkog bolničkog centra Split, iz čije baze podataka su i odabrani prema gore navedenim kriterijima.

Korišteni su isti mjerni uređaji kao i u prvom istraživanju (4.2.1.).



### 4.3. Protokoli

Osnovu sva tri istraživanja čini proučavanje cerebrovaskularnog, odnosno simpatičkog odgovora na progresivnu hiperkapniju koja se izaziva disanjem hiperoksično-hiperkapnične smjese u zatvorenom sustavu. Disanju u zatvorenom krugu pridruženi su hiperoksični uvjeti, odnosno više nego dovoljna količina kisika da bi se izbjegao učinak podražaja perifernih kemoreceptora hipoksijom. Na ovaj način nastoji se zasebno proučiti učinak hiperkapnije na promatrane parametre i sustave.

**4.3.1. Istraživanje 1.** Ispitanici su provodili postupak smješteni u udobnom, sjedećem, položaju. Nakon privikavanja na postojeće uvjete pristupali su *hiperkapničnom protokolu*. Osjetljivost na CO<sub>2</sub> je ispitivana uporabom modificirane metode ponovnog udisanja u zatvorenom sustavu (55). Disali su kroz usni nastavak sobni zrak u trajanju od 2 minute, da bi nakon toga nastavljali disati u zatvoreni sustav napunjen hiperoksično-hiperkapničnom smjesom (95 % O<sub>2</sub> i 5 % CO<sub>2</sub>). Disanje u zatvorenom krugu bi trajalo sve dok se P<sub>ET</sub>CO<sub>2</sub> sa početnih vrijednosti od približno 40 mm Hg ne bi povećao na 60 mm Hg. Nakon toga ispitanik bi ponovo nastavio disati sobni zrak u trajanju od 2 min, odnosno do vraćanja promatranih parametara na bazalne vrijednosti. Nakon 15 min koje su dovoljne za vraćanje kardiovaskularnih i respiracijskih funkcija na fiziološke vrijednosti u mirovanju, postupak se još jednom ponavljao. Za konačne vrijednosti promatranih parametara uzimane su srednje vrijednosti iz dva pokušaja. Tijekom cijelog postupka ispitanicima je preporučano disanje prema njihovim subjektivnim potrebama. Ventilacijski odgovor na hiperkapniju je izražen kroz promjenu minutne ventilacije tijekom progresivne hiperkapnije u odnosu na promjenu P<sub>ET</sub>CO<sub>2</sub>. Cerebrovaskularni odgovor na hiperkapniju je proučavan mjerenjem brzine protoka krvi kroz srednju cerebralnu arteriju, a izražen je kao promjena brzine protoka između bazalnih i vrijednosti na kraju disanja u zatvorenom krugu gledanih kroz razliku P<sub>ET</sub>CO<sub>2</sub> u

istom periodu. Cerebrovaskularni otpor (*CVR, engl. cerebral vascular resistance*) je izračunavan kao kvocijent srednjeg arterijskog tlaka i brzine protoka krvi kroz srednju cerebralnu arteriju. Od kardiovaskularnih parametara neprekidno su mjereni srčana frekvencija, arterijski tlak i udarni volumen srca. Minutni volumen srca (*CO, engl. cardiac output*) je izražen kao umnožak udarnog volumena i srčane frekvencije, dok je ukupni periferni otpor (*TPR, engl. total peripheral resistance*) izražen kao kvocijent srednjeg arterijskog tlaka i minutnog volumena srca.

**4.3.2. Istraživanje 2.** Nakon prilagodbe na laboratorijske uvjete i određivanja antropometrijskih parametara provodio se postupak disanja u zatvorenom sustavu nad svim ispitanicima kao i u prvom protokolu, no u ležećem položaju kako bi se što više smanjio utjecaj kontrakcija skeletne muskulature na kvalitetu signala mišićne simpatičke živčane aktivnosti mjerene u desnom peronealnom živcu. Radi određivanja utjecaja hiperkapnije i simpatikusa na periferni krvotok mjerila se i brzina protoka krvi kroz lijevu femoralnu arteriju. Ostali promatrani parametri bili su jednaki onima u prvom protokolu. S ciljem prikaza utjecaja kemorefleksne regulacije, minutna ventilacija i mišićna simpatička živčana aktivnost su prikazane kroz promjene  $P_{ET}CO_2$  tijekom hiperoksične hiperkapnije.

**4.3.3. Istraživanje 3.** Nakon prilagodbe laboratorijskim uvjetima i određivanja antropometrijskih parametara pristupalo se dvominutnom disanju sobnog zraka u bazalnim uvjetima, a zatim je slijedila hiperventilacija od približno 25 udisaja/min i volumenom udisaja od oko 1l, sve do dosezanja  $P_{ET}CO_2$  od približno 25 mm Hg u trajanju od 30 s. Nakon toga se ispitanik spontano vraćao na respiracijske vrijednosti u mirovanju. Po završetku hiperventilacijskog, hipokapničnog protokola, te uspostavljanja bazalnih uvjeta, nastavljao se hiperkapnični protokol kao i u prvom istraživanju. Rezultati ovog postupka su se uzimali kao kontrolni (A), a zatim bi ispitanici uzeli, po principu dvostruko slijepog uzorkovanja,

jednokratnu dozu indometacina (INDO) od 100 mg (Indometacin, Belupo, Hrvatska) ili istovjetne *placebo* kapsule (*placebo*), dobivene od proizvođača. Nakon 90 min, koliko je prema literaturi potrebno vremena za nastup učinka (46) ponavljao se cijeli postupak. Nakon, približno tjedan dana ispitanik bi ponovo dolazio te bi se proveo isti dvostruki protokol (kontrolni B + placebo ili INDO), pri čemu bi konzumirao uzorak suprotan od onoga prethodnog tjedna.

#### **4.4. Analiza podataka**

**4.4.1.** U prvom istraživanju bazalne vrijednosti respiracijskih, kardio- i cerebrovaskularnih parametara su izražene kao prosječna vrijednost posljednjih 30 s bazalnog stanja. Tijekom hiperkapničnog protokola kardio- i cerebrovaskularni parametri su analizirani kao prosječna vrijednost unatrag 5 srčanih otkucaja u trenutku kada  $P_{ETCO_2}$  dosegne vrijednosti od 46, 52 i 60 mm Hg. Respiracijski parametri su analizirani kao prosjek od 5 respiracijskih ciklusa u navedenim točkama (2 ciklusa neposredno prije i 3 po dosezanju navedenih vrijednosti  $P_{ETCO_2}$ ). Kao točka oporavka uzimao se trenutak kada se brzina protoka kroz srednju cerebralnu arteriju vrati na bazalne vrijednosti, te se unatrag 5 srčanih ciklusa izračuna prosječna vrijednost za sve promatrane kardiovaskularne parametre, odnosno 5 respiracijskih ciklusa za respiracijske parametre.

**4.4.2.** U drugom istraživanju su bazalne vrijednosti respiracijskih i kardiovaskularnih parametara te MSNA izražene kao prosječna vrijednost posljednjih 30 s bazalnog stanja. Tijekom hiperkapničnog protokola kardiovaskularni parametri i MSNA su analizirani kao prosječna vrijednost unatrag 5 srčanih otkucaja na 20, 40, 60, 80 i 100 % trajanja hiperkapničnog protokola tj. dosezanja  $P_{ETCO_2}$  od 60 mm Hg. Respiracijski parametri

su analizirani kao prosjek od 5 respiracijskih ciklusa u navedenim točkama mjerenja (2 ciklusa neposredno prije i 3 po dosezanju navedenih točaka). Tijekom 2 min oporavka podaci su se uzorkovali svakih 20 s kao prosječna vrijednost unatrag 5 srčanih ciklusa za sve promatrane kardiovaskularne parametre i MSNA, odnosno 5 respiracijskih ciklusa za respiracijske parametre.

**4.4.3.** U trećem istraživanju bazalne vrijednosti respiracijskih, kardio- i cerebrovaskularnih parametara prije hipokapničnog i hiperkapničnog protokola su izražene kao prosječna vrijednost posljednjih 30 s bazalnog stanja. Tijekom hipokapničnog protokola kardio- i cerebrovaskularni parametri su analizirani kao prosječna vrijednost unatrag 5 srčanih otkucaja na kraju hipokapničnog perioda (25 mm Hg  $P_{ET}CO_2$ ). Respiracijski parametri su analizirani kao prosjek od 5 respiracijskih ciklusa u navedenim točkama (2 ciklusa neposredno prije i 3 po dosezanju navedenih vrijednosti  $P_{ET}CO_2$ ). Analiza podataka u hiperkapničnom protokolu je istovjetna kao i u prvom istraživanju (4.4.1.).

### **Statistički postupci**

U prvom i trećem istraživanju podaci unutar skupine su izraženi kao srednja vrijednost  $\pm$  standardna devijacija. Usporedba unutar skupina učinjena je Friedmanovom neparametrijskom analizom varijance, a u slučaju statističke značajnosti pristupalo Wilcoxonovom testu. Usporedba između skupina učinjena je pomoću Mann-Whitney U testa. Neparametrijski testovi su korišteni zbog malog broja ispitanika (7 u svakoj skupini).

Podaci unutar skupine su u drugom istraživanju izraženi kao srednja vrijednost  $\pm$  standardna devijacija. Učinak hiperkapnije na sve promatrane parametre statistički je obrađen ANOVA metodom s analizom varijance, a kod statističke značajnosti se pristupalo Bonferroni testu (post hoc). Za usporedbu ventilacijskih odgovora na hiperkapniju koristio se neparni t-

test. Povezanost između pojedinih parametara je ispitivana Pearsonovim testom korelacije. Sve statističke analize su provedene pomoću programa STATISTICA 7.0 (Statsoft, Inc, Tulsa, USA) i EXCEL 2003 (Microsoft, Seattle, USA). Za razinu statističke značajnosti uzeta je vrijednost  $p < 0,05$ .

## 5. REZULTATI

### 5.1. Istraživanje 1

Svi ispitanici su oba pokušaja izveli uspješno. U antropometrijskim parametrima nije bilo statistički značajne razlike (tbl. 1).

Tablica 1. Prikaz antropometrijskih i spirometrijskih parametara, te podataka iz ronilačke anamneze.

Parametri	Ronioci na dah (N=7)	Kontrola (N=7)
dob (godine)	29,7 ± 6,3	31,4 ± 2,8
visina (cm)	188,0 ± 8,5	182,5 ± 8,0
težina (kg)	92,4 ± 14,3	86,9 ± 13,1
indeks tjelesne mase	26,1 ± 3,4	26,1 ± 3,5
tjelesna mast (%)	18,8 ± 8,3	19,9 ± 6,1
FEV <sub>1</sub> (% predviđenog)	111,9 ± 18,1	97,2 ± 9,3
FVC (% predviđenog)	118,4 ± 19,6	102,7 ± 13,0
ronilački staž (godine)	7 ± 4	
najveća dosegnuta dubina (m)	34 ± 6	
najdulje trajanje apneje (s)	284 ± 34	

Prosječna vrijednost skupine ± standardna devijacija; FEV<sub>1</sub>, forsirani ekspiracijski volumen na kraju prve sekunde; FVC, forsirani vitalni kapacitet.

#### Ventilacijski parametri

Tijekom hiperkapničnog pokusa obje su skupine pokazale povećanje minutnog volumena disanja ( $p=0,018$ ) (tbl. 2). Ronioci su imali značajno niže povećanje minutnog volumena disanja ( $p=0,035$ ) uslijed manjeg povećanja učestalosti disanja ( $p=0,048$ ). Nije bilo značajne razlike u duljini trajanja postupka, odnosno dosezanja ciljanih vrijednosti P<sub>ET</sub>CO<sub>2</sub>. Ventilacijski odgovor na hiperkapniju se nije bitno razlikovao između skupina (ronioci  $1,3 ± 0,7$  l/min/mm Hg; kontrole  $1,9 ± 0,9$  l/min/mm Hg;  $p=0,32$ ).

Tablica 2. Ventilacijski, kardiovaskularni i cerebrovaskularni parametri u svim točkama mjerenja.

			$P_{ET}CO_2$				
	<i>parametri</i>	<i>skupina</i>	bazalno	46 mm Hg	52 mm Hg	60 mm Hg	oporavak
<i>ventilacijski parametri</i>	$V_E$	kontrola	14,6 ± 3,5	18,4 ± 6,6	36,9 ± 10,9* <sup>#</sup>	54,6 ± 16,0* <sup>#</sup>	35,0 ± 8,2*
	(l/min)	ronioci	12,9 ± 3,2	14,7 ± 6,6	23,2 ± 10,8*	37,7 ± 15,2*	29,4 ± 4,7*
	$V_T$	kontrola	1,2 ± 0,5	1,6 ± 0,7	2,5 ± 0,4*	2,8 ± 0,5*	1,9 ± 0,4*
	(l)	ronioci	1,3 ± 0,4	1,6 ± 0,5	2,2 ± 0,6*	2,8 ± 0,7*	2,2 ± 0,5*
	$R_f$	kontrola	14,4 ± 6,4	12,7 ± 4,6	15,8 ± 6,0	19,9 ± 6,1 <sup>#</sup>	18,1 ± 3,2 <sup>#</sup>
	(udisaja/min)	ronioci	11,0 ± 4,5	9,4 ± 4,2	10,9 ± 4,6	13,9 ± 4,8	13,9 ± 4,2
<i>kardiovaskularni parametri</i>	MAP	kontrola	91,3 ± 9,9	92,6 ± 10,6	95,8 ± 9,3*	98,5 ± 11,4*	88,3 ± 9,9
	(mm Hg)	ronioci	94,2 ± 3,3	96,0 ± 3,8*	99,4 ± 5,9*	106,1 ± 6,3*	92,5 ± 4,0
	HR	kontrola	74,4 ± 13,4	69,9 ± 12,5	70,5 ± 9,2	72,0 ± 9,8	75,8 ± 18,0
	(otkucaja/min)	ronioci	74,6 ± 12,4	72,7 ± 11,4	70,5 ± 10,4	77,1 ± 17,1	74,3 ± 20,5
	SV	kontrola	72,7 ± 16,2	78,0 ± 16,5*	81,2 ± 12,3*	85,7 ± 12,6*	92,1 ± 12,7
	(ml/min)	ronioci	74,9 ± 11,5	76,6 ± 14,2	75,9 ± 14,9	77,7 ± 14,9	87,9 ± 13,2*
	CO	kontrola	5,3 ± 0,7	5,4 ± 1,0	5,6 ± 0,8*	6,3 ± 1,1*	6,9 ± 1,0*
	(l/min)	ronioci	5,6 ± 1,3	5,7 ± 1,6	5,4 ± 1,5	6,1 ± 1,9	7,0 ± 1,9*
	TPR	kontrola	17,8 ± 4,1	17,7 ± 4,6	17,4 ± 3,8	16,3 ± 4,6	13,1 ± 2,7*
	(mm Hg/l/min)	ronioci	17,5 ± 4,1	17,9 ± 4,3	19,3 ± 4,8*	19,0 ± 5,9*	14,2 ± 4,0*
<i>parametri protoka kroz cerebralnu arteriju</i>	MCAV	kontrola	52,5 ± 11,8	63,6 ± 12,5*	77,7 ± 17,2*	86,4 ± 16,0*	52,7 ± 12,0
	(cm/s)	ronioci	52,8 ± 11,5	62,7 ± 16,2*	75,1 ± 16,2*	90,5 ± 18,6*	53,7 ± 13,7
	vrijeme	kontrola					43 ± 20
	(s)	ronioci					36 ± 7
	CVR	kontrola	1,8 ± 0,4	1,5 ± 0,3*	1,3 ± 0,3*	1,2 ± 0,3*	1,8 ± 0,4
	(mm Hg/cm/s)	ronioci	1,9 ± 0,5	1,6 ± 0,4*	1,4 ± 0,3*	1,2 ± 0,3*	1,8 ± 0,5

Minutna ventilacija ( $V_E$ , l/min); dišni volumen ( $V_T$ , l); učestalost disanja ( $R_f$ , udisaja/min); srednji arterijski tlak (MAP, mm Hg); srčana frekvencija (HR, otkucaja/min); udarni volumen srca (SV, ml/min); minutni volumen srca (CO, l/min); ukupni periferni otpor (TPR, mm Hg/l/min); prosječna brzina protoka kroz srednju cerebralnu arteriju (MCAV, cm/s); cerebrovaskularni otpor (CVR, mm Hg/cm/s); vrijeme povratka MCAV na bazalne vrijednosti u oporavku (vrijeme, s); statistički značajna razlika tijekom hiperkapnije i oporavka u odnosu na bazalnu vrijednost (\*  $p < 0,05$ ); statistički značajna razlika između skupina (<sup>#</sup>  $p < 0,05$ ).

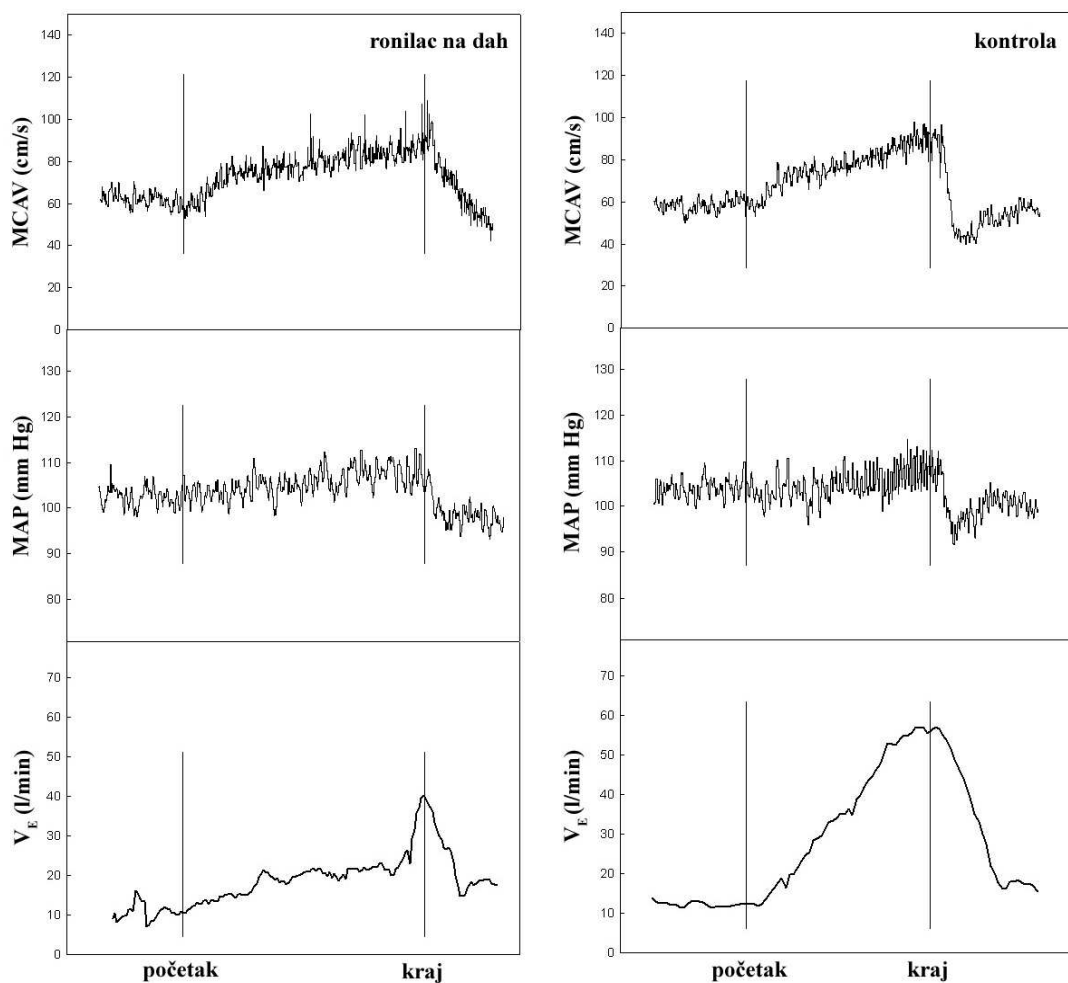
### Kardiovaskularni parametri

Nije bilo značajnih razlika u bazalnim vrijednostima MAP, HR, SV, CO, TPR među skupinama (tbl. 2). Tijekom disanja u zatvorenom krugu dogodile su se slične promjene MAP u obje skupine. U kontrolnoj skupini MAP se povećao uslijed porasta udarnog volumena ( $p=0,03$ ), dok se u skupini ronilaca povećao uslijed porasta ukupnog perifernog otpora ( $p=0,04$ ) (tbl. 2).

## Parametri protoka i otpora kroz srednju cerebralnu arteriju

Obje skupine su pokazale slično povećanje MCAV tijekom hiperkapničnog protokola u odnosu na period prethodnog mirovanja (tbl. 2). Povećanje MCAV u skupini ronilaca je bilo približno oko 74% pri  $P_{ET}CO_2$  od 60 mm Hg, dok je istovremeno u kontrolnoj skupini u tom periodu iznosilo oko 67%. Cerebrovaskularni odgovor se nije značajno razlikovao između skupina ( $3,7 \pm 1,4$  u ronilaca nasuprot  $3,4 \pm 1,3$  %/mm Hg  $P_{ET}CO_2$  kod kontrolne skupine;  $p=0,9$ ), a sličan odgovor je zabilježen i kod cerebrovaskularnog otpora.

Na sl. 2. usporedno su prikazana neprekidna mjerenja brzine protoka kroz srednju cerebralnu arteriju, srednjeg arterijskog tlaka, te minutne ventilacije tijekom hiperkapničnog protokola kod jednog ronioca na dah i kontrolnog ispitanika.



Slika 2. Brzina protoka kroz srednju cerebralnu arteriju (MCAV, cm/s); srednji arterijski tlak (MAP, mm Hg); minutna ventilacija ( $V_E$ , l/min); početak hiperkapnije (početak); završetak hiperkapnije (kraj).



## 5.2. Istraživanje 2

Svi ispitanici su uspješno proveli zadani protokol. Antropometrijski i spirometrijski parametri skupine ronilaca na dah i kontrolne skupine nisu se značajno razlikovali (tbl. 3).

Tablica 3. Prikaz antropometrijskih i spirometrijskih parametara.

<b>Parametri :</b>	<b>Ronioci na dah (N=11)</b>	<b>Kontrolna skupina (N=9)</b>
dob (godine)	27,2 ± 4,0	28,2 ± 7,1
visina (cm)	187,0 ± 7,0	181,0 ± 7,5
težina (kg)	88,5 ± 12,0	86,9 ± 9,8
indeks tjelesne mase	25,3 ± 3,2	26,5 ± 2,3
tjelesna mast (%)	16,9 ± 6,5	19,1 ± 5,3
FEV <sub>1</sub> (% predviđenog)	109,2 ± 14,6	104,9 ± 14,4
FVC (% predviđenog)	115,4 ± 15,8	109,7 ± 11,5

Prosječna vrijednost skupine ± standardna devijacija; FEV<sub>1</sub>, forsirani ekspiracijski volumen na kraju prve sekunde; FVC, forsirani vitalni kapacitet.

Bazalne vrijednosti promatranih parametara se nisu značajno razlikovale među skupinama (tbl. 4).

Tablica 4. Prikaz bazalnih vrijednosti srčane frekvencije, srednjeg arterijskog tlaka, zasićenosti arterijske krvi kisikom, srednjeg protoka kroz femoralnu arteriju, vršne koncentracije CO<sub>2</sub> na kraju izdisaja, te mišićne simpatičke živčane aktivnosti.

<b>Parametri :</b>	<b>Ronioci na dah (N=11)</b>	<b>Kontrolna skupina (N=9)</b>
HR (otkucaja/min)	60,5 ± 9,6	61,5 ± 8,8
MAP (mm Hg)	88,8 ± 7,7	91,9 ± 10,0
SaO <sub>2</sub> (%)	98,7 ± 0,8	98,4 ± 0,6
FAMBV (cm/s)	11,1 ± 5,7	10,0 ± 4,8
P <sub>ET</sub> CO <sub>2</sub> (mm Hg)	36,3 ± 4,9	42,6 ± 1,6
MSNA <sub>f</sub> (okidanja/min)	30,6 ± 11,3	33,3 ± 12,8
MSNA <sub>t</sub> (arbitrarne jedinice)	1,8 ± 1,5	1,8 ± 1,3

Srčana frekvencija (HR, otkucaja/min); srednji arterijski tlak (MAP, mm Hg); zasićenost arterijske krvi kisikom (SaO<sub>2</sub>, %); srednja brzina protoka kroz femoralnu arteriju (FAMBV, cm/s); vršna koncentracija CO<sub>2</sub> na kraju izdisaja (P<sub>ET</sub>CO<sub>2</sub>, mm Hg); mišićna simpatička živčana aktivnost (MSNA<sub>f</sub>, okidanja/min); integrirana mišićna simpatička živčana aktivnost (MSNA<sub>t</sub>, arbitrarne jedinice).

### Ventilacijski parametri

Trajanje hiperkapničnog protokola, odnosno vrijeme dosezanja vrijednosti  $P_{ET}CO_2$  od 60 mm Hg je u prosjeku 76 s dulje u skupini ronilaca na dah ( $p=0,03$ ). Ventilacijski odgovor na hiperkapniju je sličan u obje skupine ( $p=0,54$ ) (tbl. 5).

Tablica 5. Ventilacijski odgovor na hiperkapniju u ronilaca na dah i kontrolnih ispitanika.

Parametar :	Roniodi na dah	Kontrolna skupina
ventilacijski odgovor (l/min/mm Hg $P_{ET}CO_2$ )	$1,7 \pm 1,0$	$2,1 \pm 0,8$

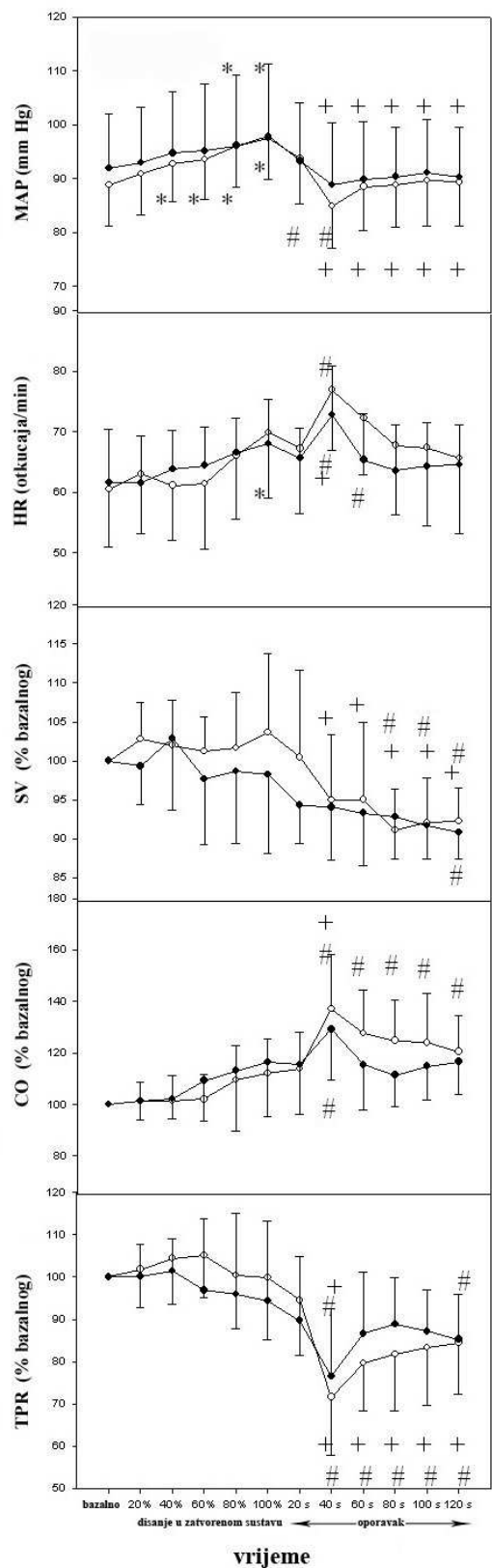
Prosječne vrijednosti  $\pm$  SD.

Zasićenost arterijske krvi kisikom nije se značajno mijenjala tijekom hiperkapničnog protokola, dok se  $P_{ET}CO_2$  kontinuirano povećavao.

### Kardiovaskularni parametri

Tijekom hiperkapnije MAP se u skupini ronilaca na dah povećao sa  $89,0 \pm 7,7$  na  $97,0 \pm 7,5$  mm Hg, dok se, istovremeno, u kontrolnoj skupini povećao sa  $92,0 \pm 10,0$  mm Hg na  $98,0 \pm 13,0$  mm Hg ( $p<0,0001$ , u obje skupine) (sl. 3). Po svršetku protokola arterijski tlak se vrlo brzo vratio na bazalne vrijednosti.

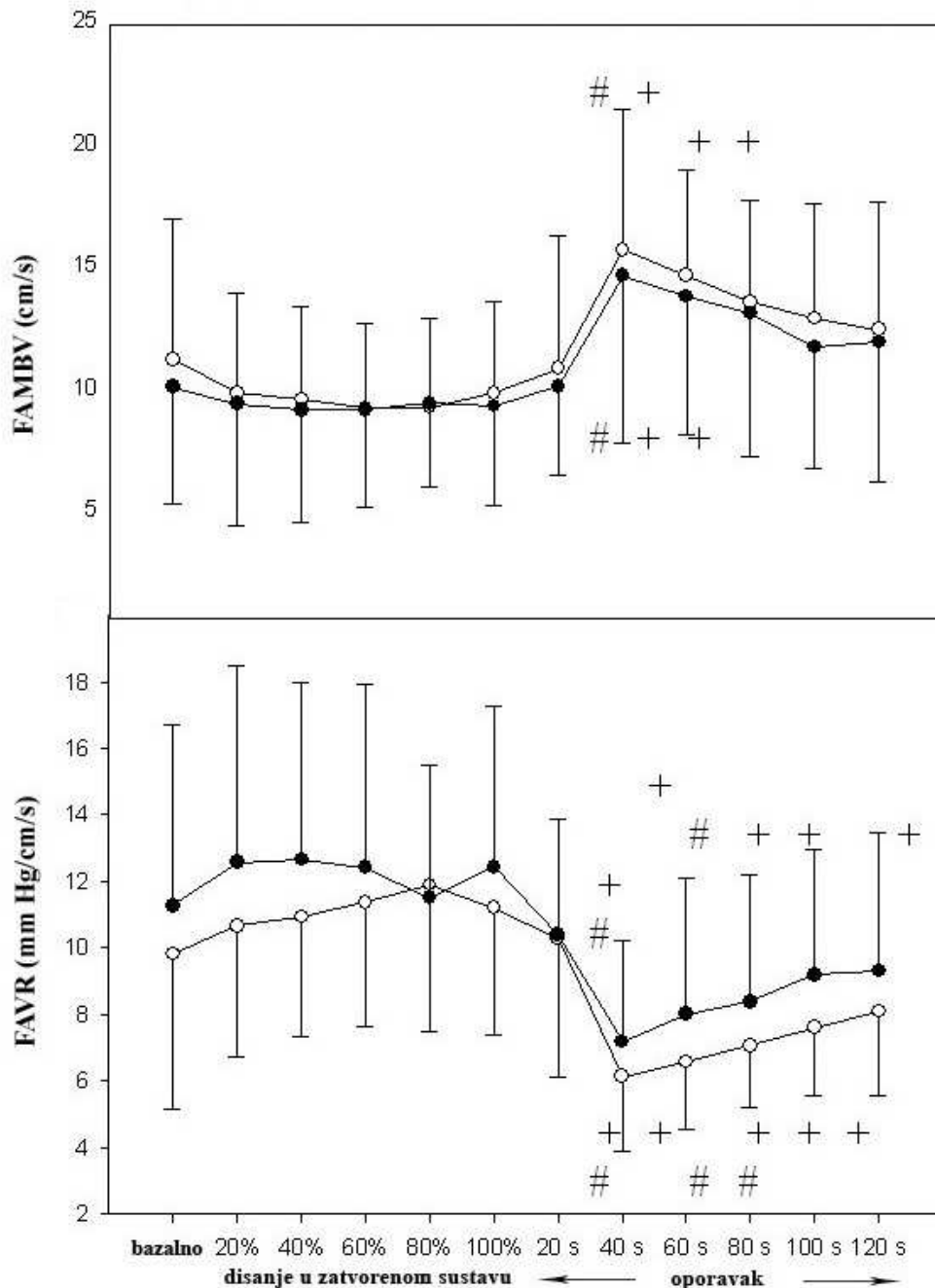
Ukupni periferni otpor nije se značajno povećao tijekom hiperkapničnog protokola, dok se po svršetku protokola smanjio ispod bazalnih vrijednosti (sl. 3). Usprkos tome, arterijski tlak se u periodu oporavka održao zahvaljujući povećanom minutnom volumenu srca.



Slika 3. Prikaz kardiovaskularnih parametara tijekom hiperkapničnog protokola u svim točkama mjerenja. Srednji arterijski tlak (MAP, mm Hg); srčana frekvencija (HR, otkucaja/min); promjena udarnog volumena srca (SV, % bazalnog); promjena minutnog volumena srca (CO, % bazalnog); promjena ukupnog perifernog otpora (TPR, % bazalnog); statistički značajna razlika vrijednosti tijekom hiperkapnije u odnosu na bazalne (\* p<0,05); statistički značajna razlika vrijednosti u oporavku u odnosu na bazalne (# p<0,05); statistički značajna razlika vrijednosti u periodu oporavka u odnosu na kraj hiperkapničnog protokola (+ p<0,05); ronioci na dah (○); kontrolni ispitanici (●).

## Parametri otpora i protoka kroz femoralnu arteriju

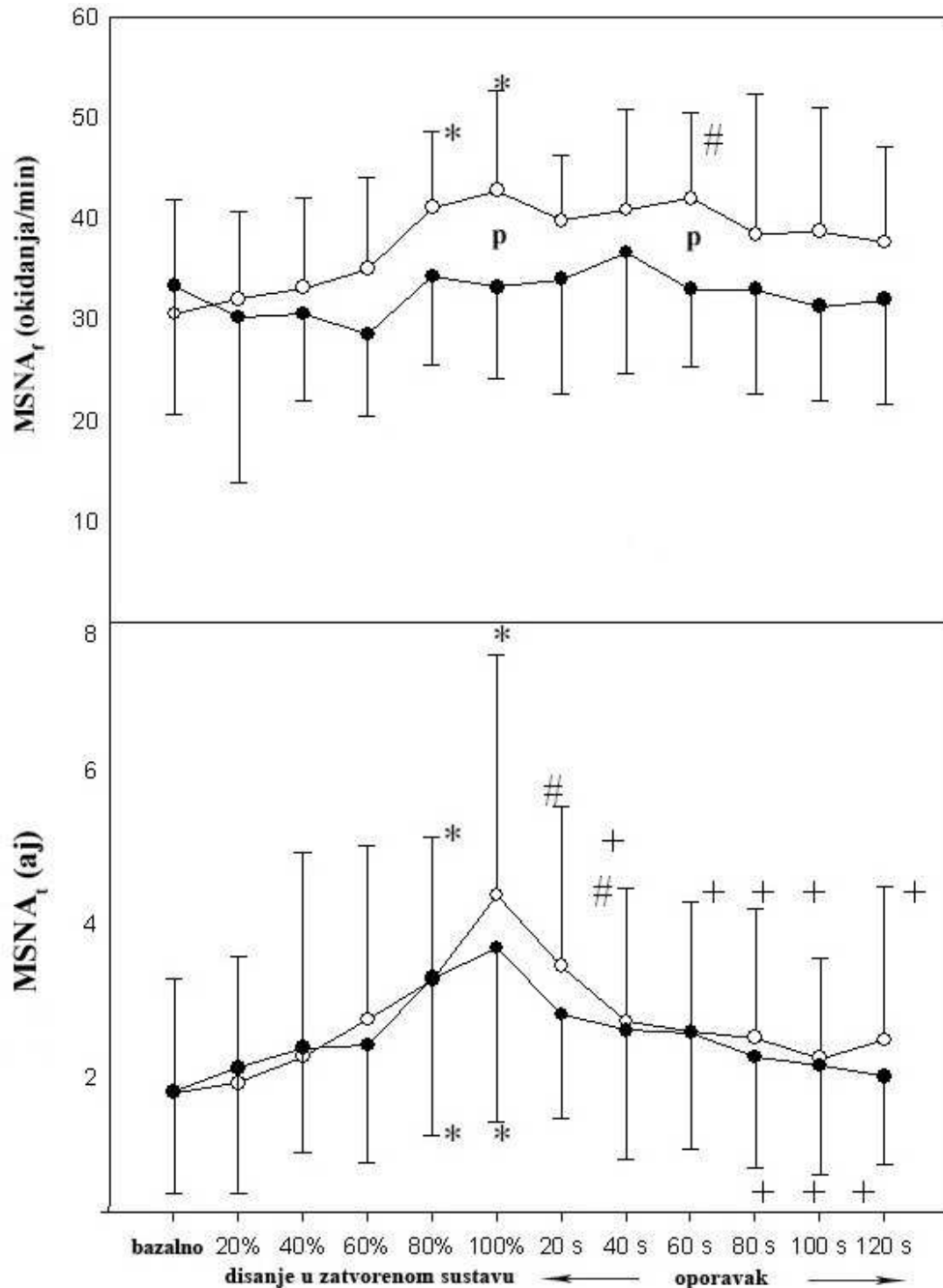
Tijekom hiperkapnije nije bilo značajne promjene u brzini protoka niti u jednoj skupini, a u oporavku se tijekom prve minute brzina protoka značajno povećala (sl. 4). Femoralni vaskularni otpor se nije značajno povećao tijekom hiperkapničnog protokola, dok se po svršetku protokola smanjio ispod bazalnih vrijednosti, što odgovara vijednostima ukupnog perifernog otpora.



Slika 4. Prikaz brzine protoka i otpora femoralne arterije tijekom hiperkapničnog protokola u svim točkama mjerenja. Srednja brzina protoka kroz femoralnu arteriju (FAMBV, cm/s); otpor protoku kroz femoralnu arteriju (FAVR, mm Hg/cm/s); statistički značajna razlika vrijednosti tijekom hiperkapnije u odnosu na bazalne (\* p<0,05); statistički značajna razlika vrijednosti u oporavku u odnosu na bazalne (# p<0,05); statistički značajna razlika vrijednosti u periodu oporavka u odnosu na kraj hiperkapničnog protokola (+ p<0,05); ronioci na dah (○); kontrolni ispitanici (●).

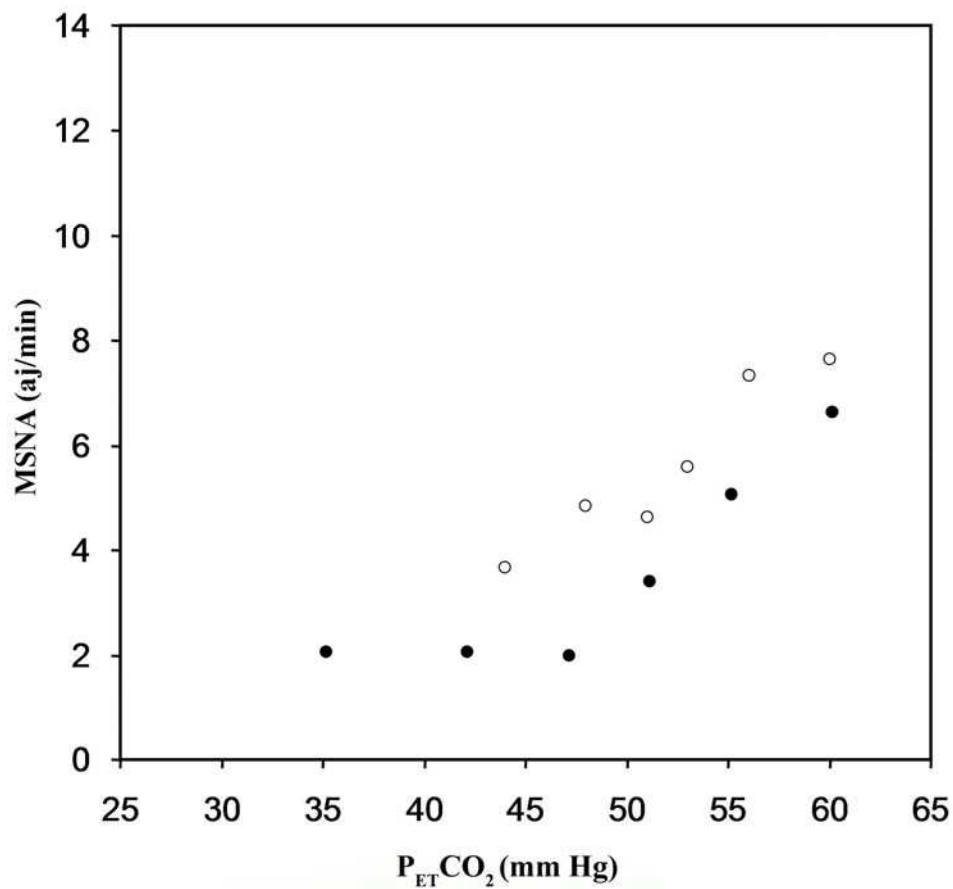
## Mišićna simpatička živčana aktivnost

Tijekom hiperkapničnog protokola frekvencija okidanja MSNA se značajno povećala samo u ronilaca (u odnosu na kontrolnu skupinu,  $p=0,04$ ), dok se ukupna MSNA aktivnost povećala približno podjednako u obje skupine (sl. 5).



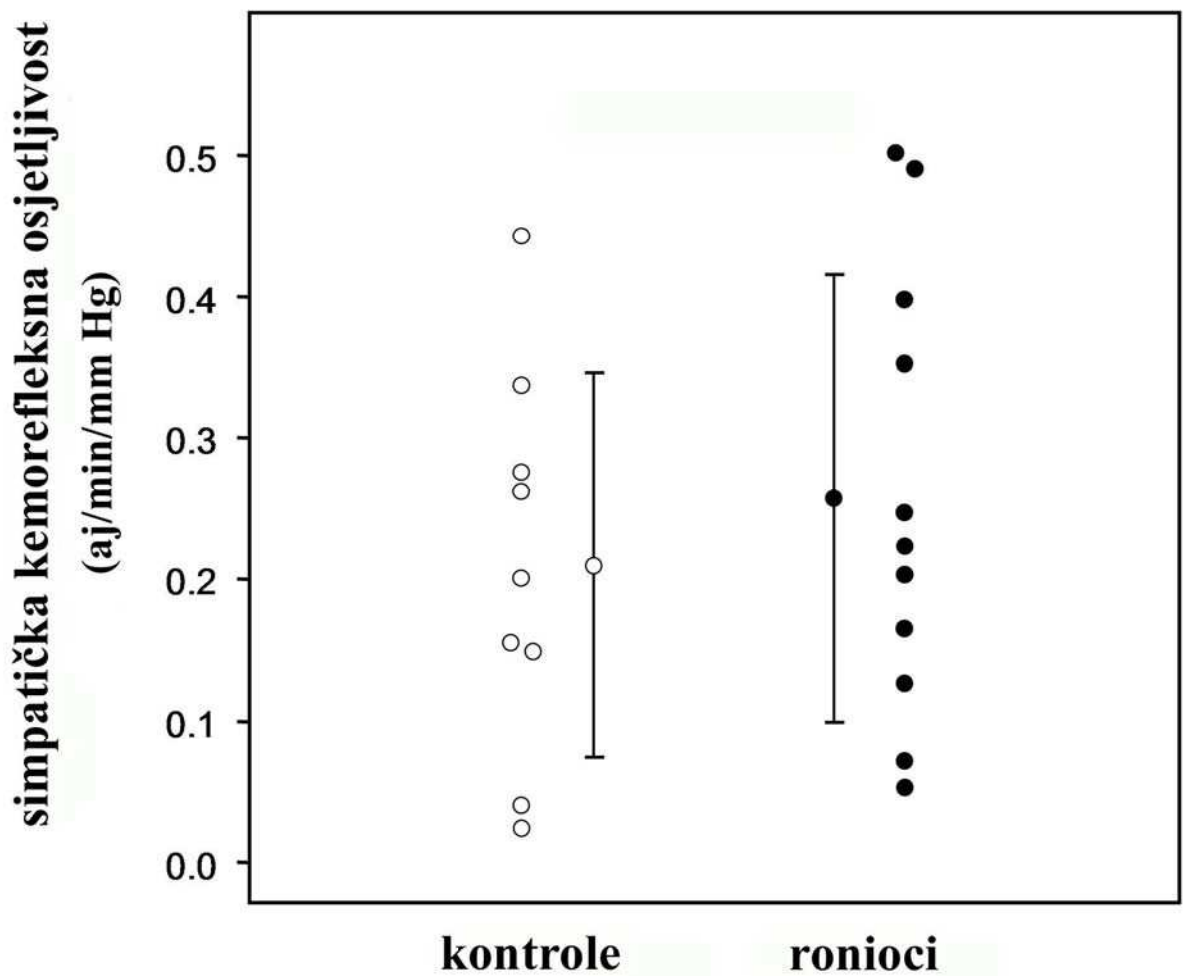
Slika 5. Prikaz mišićne simpatičke živčane aktivnosti u svim točkama mjerenja. Mišićna simpatička živčana aktivnost (MSNA<sub>f</sub>, okidanja/min); integrirana mišićna simpatička živčana aktivnost (MSNA<sub>i</sub>, arbitrarne jedinice); statistički značajna razlika vrijednosti tijekom hiperkapnije u odnosu na bazalne (\*  $p<0,05$ ); statistički značajna razlika vrijednosti u oporavku u odnosu na bazalne (#  $p<0,05$ ); statistički značajna razlika vrijednosti u periodu oporavka u odnosu na kraj hiperkapničnog protokola (+  $p<0,05$ ); statistički značajna razlika među skupinama (P,  $p<0,05$ ); roniloci na dah (○); kontrolni ispitanici (●).

Simpatički kemorefleksni odgovor na hiperkapniju može se predstaviti kao promjena simpatičke aktivnosti u odnosu na povećanje  $P_{ET}CO_2$  tijekom pokusa (sl. 6).



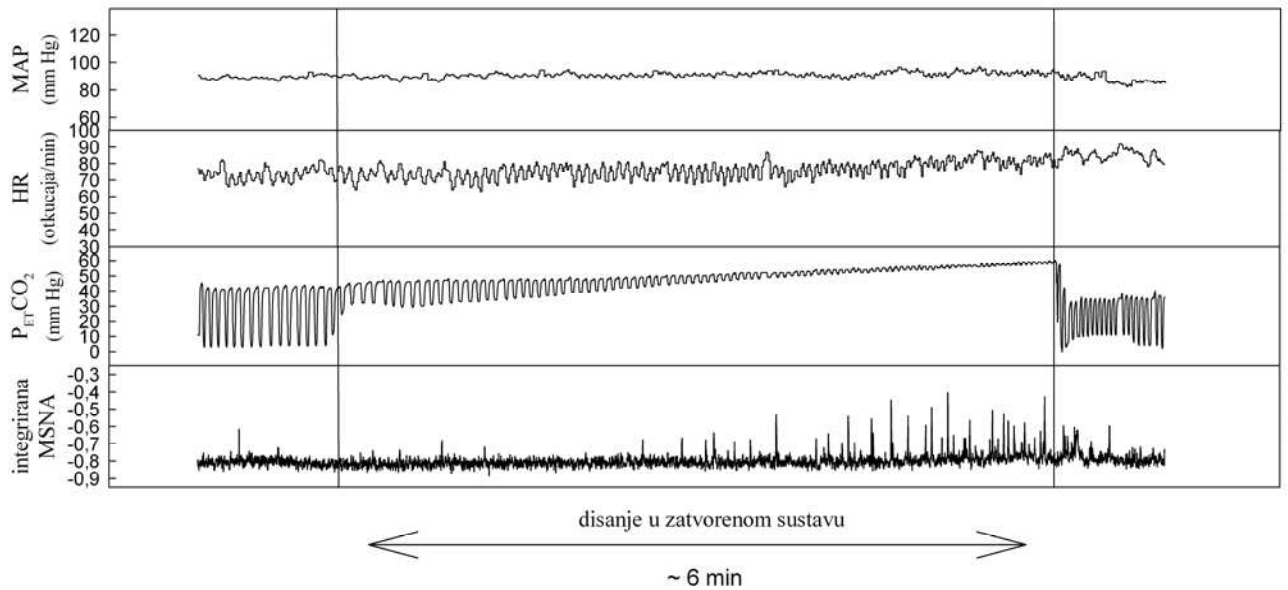
Slika 6. Prikaz simpatičkog kemorefleksnog odgovora u 6 točki mjerenja (bazalna, 20, 40, 60, 80, 100% trajanja hiperkapnije) kod jednog ronioca na dah (●) i jednog kontrolnog ispitanika (○) (MSNA, arbitrarne jedinice/min);.

Simpatička kemorflexna osjetljivost se može prikazati kroz pojedinačne MSNA odgovore na hiperkapnični podražaj izražene kroz nagibe pravca dobivene linearnom regresijom (sl. 7.). Nije bilo značajne razlike između skupina, no primjećuje se veliki rasap pojedinačnih vrijednosti.



Slika 7. Prikaz pojedinačnih vrijednosti simpatičke kemoreflexne osjetljivosti (arbitrarne jedinice/min/mm Hg). U sredini su prikazane prosječne vrijednosti skupine  $\pm$  standardna devijacija; sa strana su pojedinačni odgovori 11 ronilaca na dah (●) i 9 kontrolnih ispitanika (○).

Na sl. 8. dat je prikaz neprekidnog mjerenja srednjeg arterijskog tlaka, srčane frekvencije, vršne koncentracije CO<sub>2</sub> na kraju izdisaja, te integrirane mišićne simpatičke živčane aktivnosti tijekom protokola disanja u zatvorenom krugu kod jednog ronioca na dah.



Slika 8. Zapis promatranih parametara tijekom hiperkapničnog pokusa. Srednji arterijski tlak (MAP, mm Hg); srčana frekvencija (HR, otkucaja/min); vršna koncentracija CO<sub>2</sub> na kraju izdisaja (P<sub>ET</sub>CO<sub>2</sub>, mm Hg); integrirana mišićna simpatička živčana aktivnost (MSNA<sub>i</sub>, arbitrarne jedinice).



### 5.3. Istraživanje 3

Svi ispitanici su izveli sva četiri pokušaja uspješno. Primijećena je statistički značajna razlika između skupina u spirometrijskim parametrima ( $FEV_1$ ,  $p=0,01$ ;  $FVC$ ,  $p=0,03$ ) (tbl. 6).

Kako unutar skupina nije bilo statistički značajne razlike u ventilacijskim, kardiovaskularnim i cerebrovaskularnim parametrima između kontrolnih (A i B), te placebo pokušaja, u nastavku će se navoditi samo vrijednosti indometacinskog (INDO) i prethodnog kontrolnog (kontrola) pokušaja.

Tablica 6. Prikaz antropometrijskih i spirometrijskih parametara, te podataka iz ronilačke, odnosno OSA anamneze.

<b>Parametri :</b>	<b>Ronionci na dah (N=7)</b>	<b>OSA (N=7)</b>
dob (godine)	46,9 ± 9,6	49,3 ± 10,5
visina (cm)	184,0 ± 7,5	180,0 ± 5,0
težina (kg)	90,3 ± 10,4	92,6 ± 14,4
indeks tjelesne mase	26,8 ± 3,3	28,4 ± 3,7
tjelesna mast (%)	18,7 ± 5,2	24,7 ± 5,8
$FEV_1$ (% predviđenog)	115,8 ± 11,7 <sup>#</sup>	99,3 ± 11,8
$FVC$ (% predviđenog)	122,2 ± 14,1 <sup>#</sup>	108,8 ± 9,2
ronilački staž (godine)	26,9 ± 6,6	
najdublji osobni zaron (m)	24,7 ± 8,4	
najdulje trajanje apneje (sekunde)	240 ± 48	
RDI		25,1 ± 9,0

Prosječne vrijednosti ± standardna devijacija; forsirani ekspiracijski volumen na kraju prve sekunde ( $FEV_1$ , % predviđenog); forsirani vitalni kapacitet ( $FVC$ , % predviđenog); pokazatelj respiracijskih poremetnji tijekom spavanja (RDI, engl. respiratory disturbance index); statistički značajna razlika između skupina (<sup>#</sup>  $p<0,05$ ).

## **Učinak indometacina u ventilacijskom, kardiovaskularnom i cerebrovaskularnom odgovoru na HIPOKAPNIJU**

### **Ventilacijski parametri :**

Hiperventilacija je trajala  $82,4 \pm 56,4$  s u ronilaca u odnosu na  $54,9 \pm 21,6$  s u OSA uz velika međusobna odstupanja.

### **Kardiovaskularni parametri :**

U skupini OSA, bazalna vrijednost MAP se značajno povećala pod utjecajem indometacina ( $p=0,03$ ) (tbl. 7). Pod utjecajem indometacina u ronilaca na dah se MAP u hipokapniji značajno smanjio ( $p=0,03$ ).

Smanjenje TPR uzrokovano hiperventilacijom je primjećeno u obje skupine u oba pokušaja (tbl. 7).

Bazalna srčana frekvencija je u OSA značajno veća ( $75,9$  /min u odnosu na  $65,1$ /min u ronilaca;  $p=0,04$ ) (tbl. 7). Indometacin dovodi do značajnog smanjenja bazalne srčane frekvencije u obje skupine (ronioci,  $p=0,03$ ; OSA,  $p=0,02$ ).

U obje skupine minutni volumen srca se značajno povećao tijekom hiperventilacije, kako u kontrolnom, tako i u INDO pokušaju ( $p=0,02$ ) uslijed povećanja frekvencije srca (tbl. 7).

Tablica 7. Kardiovaskularni odgovor na hipokapniju prije i nakon indometacina.

Parametri / Pokušaj		Ronioci (N=7)		OSA (N=7)	
		normokapnija	hipokapnija	normokapnija	hipokapnija
MAP (mm Hg)	kontrolni	92,1 ± 2,9	90,7 ± 3,9	94,7 ± 9,5	89,9 ± 12,7
	INDO	93,0 ± 8,9	88,6 ± 8,6*	99,8 ± 9,9 <sup>+</sup>	94,6 ± 10,6
HR (otkucaja/min)	kontrolni	65,1 ± 4,5 <sup>#</sup>	77,7 ± 10,2*	75,9 ± 9,6 <sup>#</sup>	82,7 ± 15,8*
	INDO	56,5 ± 4,8 <sup>+</sup>	73,3 ± 12,3*	64,6 ± 7,3 <sup>+</sup>	74,0 ± 10,9 <sup>+</sup> *
SV (ml)	kontrolni	69,7 ± 11,8	69,6 ± 11,0	62,9 ± 12,2	64,2 ± 11,7
	INDO	69,0 ± 6,3	70,6 ± 11,0	67,9 ± 14,6	66,9 ± 10,8
CO (l/min)	kontrolni	4,6 ± 0,9	5,5 ± 1,6*	4,8 ± 0,9	5,3 ± 1,4
	INDO	3,9 ± 0,6	5,2 ± 1,4*	4,4 ± 0,8	4,9 ± 1,0*
TPR (mm Hg/l/min)	kontrolni	20,9 ± 4,1	17,6 ± 4,5*	20,7 ± 5,0	18,3 ± 6,5*
	INDO	24,3 ± 4,6 <sup>+</sup>	18,0 ± 4,6*	23,9 ± 6,5	20,2 ± 7,1*

Prikazane su prosječne vrijednosti za skupinu ± standardna devijacija; srednji arterijski tlak (MAP, mm Hg); srčana frekvencija (HR, otkucaja/min); udarni volumen srca (SV, ml); minutni volumen srca (CO, l/min); ukupni periferni otpor (TPR, mm Hg/l/min); statistički značajna razlika između normokapnije i hipokapnije (\* p<0,05); statistički značajna razlika između skupina (ronioci nasuprot kontrolnoj skupini; <sup>#</sup> p<0,05); statistički značajna razlika između pokušaja (kontrolni nasuprot INDO; <sup>+</sup> p<0,05).

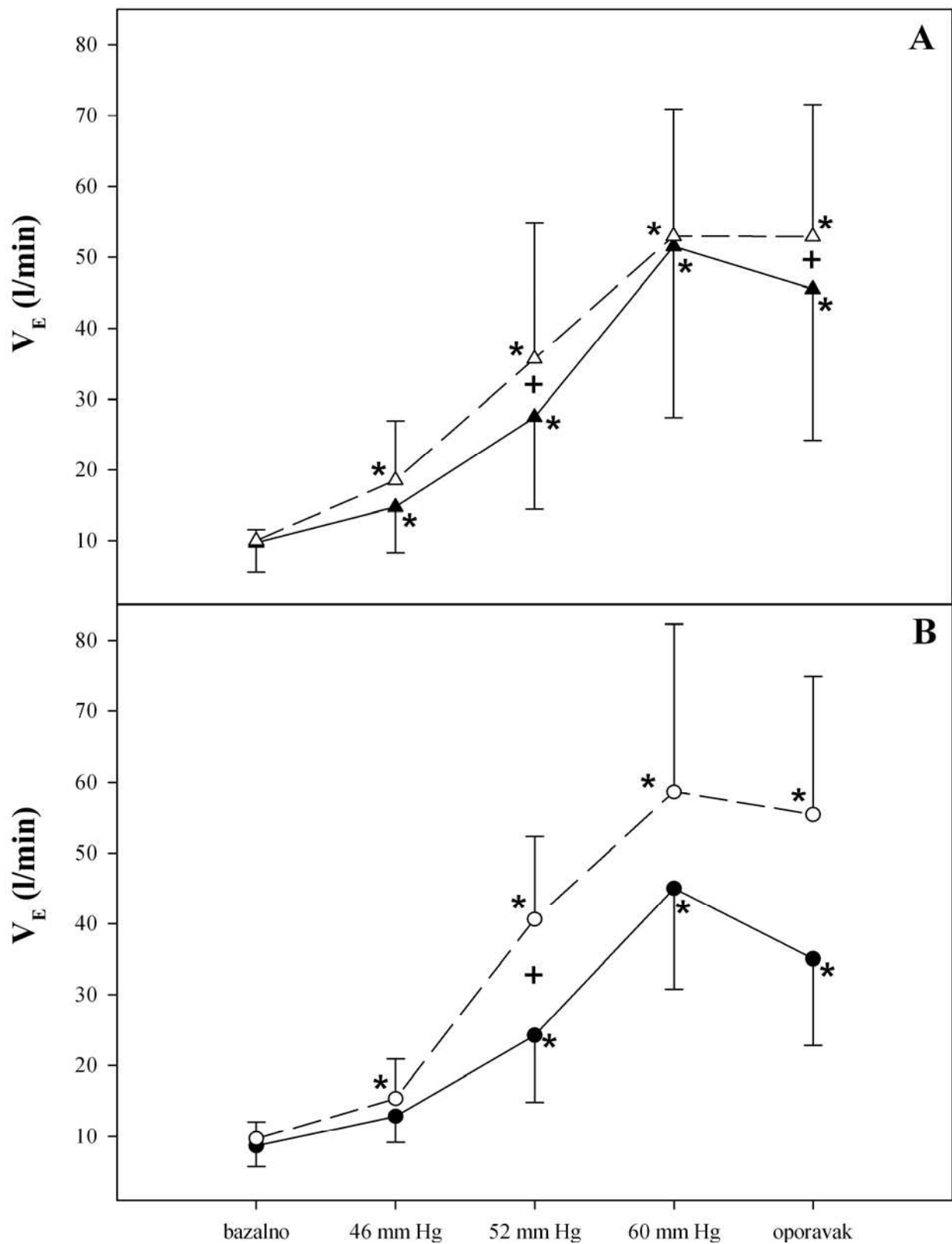
### Cerebrovaskularni parametri :

Hipokapnija je u kontrolnom pokušaju dovela do smanjenja MCAV u ronilaca za 35,6 % (p=0,02) i u OSA za 37,6 % (p=0,02). U INDO pokušaju MCAV se u hipokapniji smanjio za 19,2 % u ronilaca (p=0,02) i za 16,8 % u OSA (p=0,02). Cerebrovaskularni otpor se povećao u hipokapniji tijekom kontrolnog pokusa u ronilaca za 55,7 % (p=0,02), a u OSA za 63,3 % (p=0,02). U INDO pokušaju cerebrovaskularni otpor se povećao za svega 21,2 % (p=0,02) u ronilaca, te 17,9 % (p=0,02) u OSA. Indometacin je doveo, također, do povećanja bazalnog CVR za 32,6 % (p=0,03) u ronilaca, te 28,8 % (p=0,04) u OSA.

**Učinak indometacina u ventilacijskom, kardiovaskularnom i cerebrovaskularnom odgovoru na hiperoksičnu HIPERKAPNIJU**

**Ventilacijski parametri :**

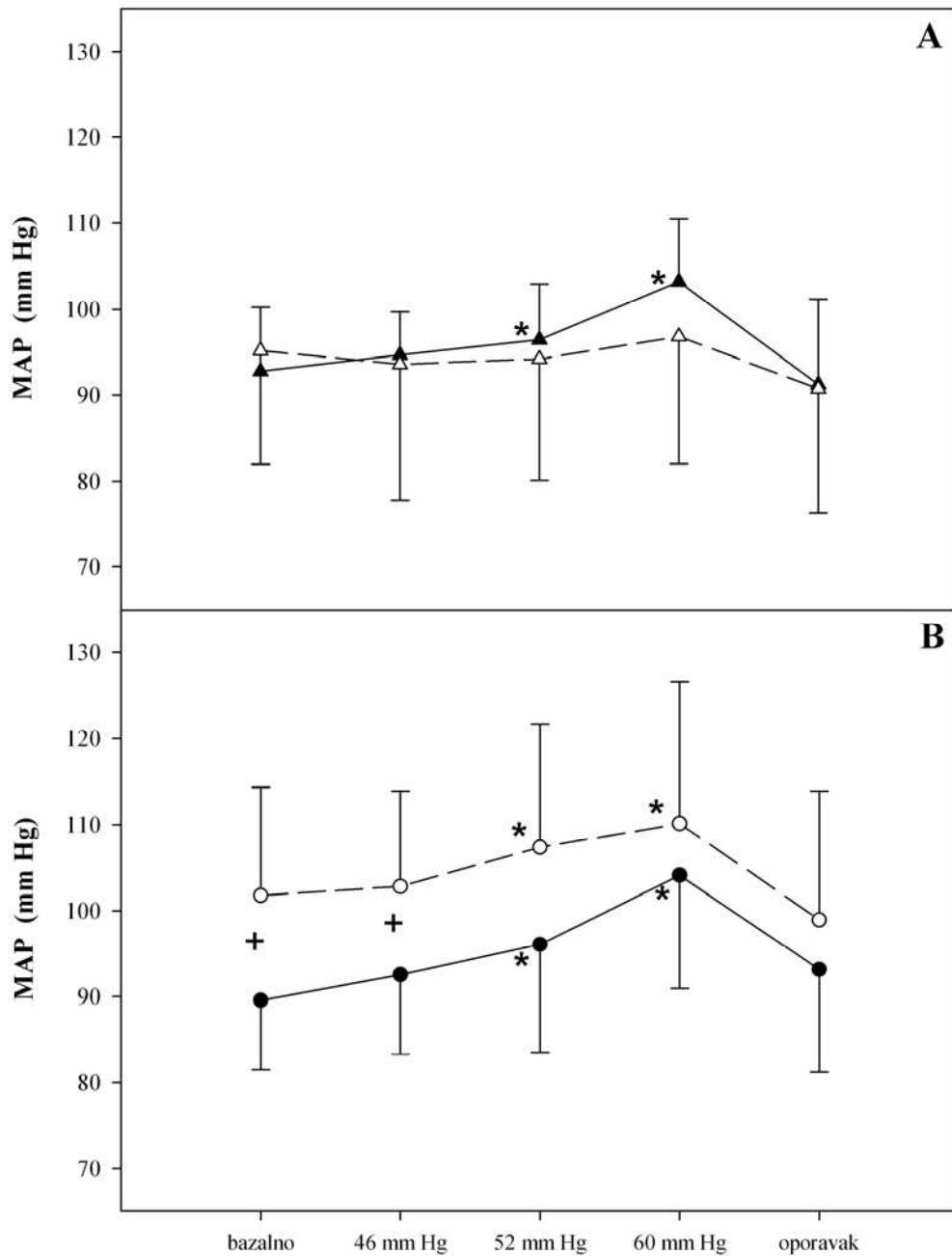
Između skupina nije bilo značajne razlike u trajanju pokusa disanja u zatvorenom sustavu do dosezanja ciljne vrijednosti  $P_{ET}CO_2$  od 60 mm Hg niti u jednom od pokušaja. Obje skupine su pokazale slično povećanje minutne ventilacije u oba pokušaja, premda se u INDO pokušaju u OSA primjećuje povećanje ventilacijskog odgovora obostranim povećanjem kako frekvencije disanja, tako i volumena udisaja (sl. 9). Općenito, ventilacijski odgovor u obje skupine nije značajno promijenjen. U ronilaca iznosio je  $2,2 \pm 1,2$  u kontrolnom pokušaju, te  $2,2 \pm 0,9$  l/min/mm Hg u INDO. Ventilacijski odgovor u OSA iznosio je  $2,0 \pm 0,7$  u kontrolnom pokušaju, te  $2,3 \pm 0,9$  l/min/mm Hg u INDO.



Slika 9. Promjene u minutnoj ventilaciji tijekom hiperkapnije i u oporavku. Minutna ventilacija ( $V_E$ , l/min); roniosi (Panel A; kontrola (▲), INDO (Δ)); OSA (Panel B; kontrola (●), INDO (○)); statistički značajna razlika u hiperkapniji i oporavku u odnosu na bazalno stanje (\*  $p < 0,05$ ); statistički značajna razlika između pokušaja (kontrolni nasuprot INDO; +  $p < 0,05$ ).

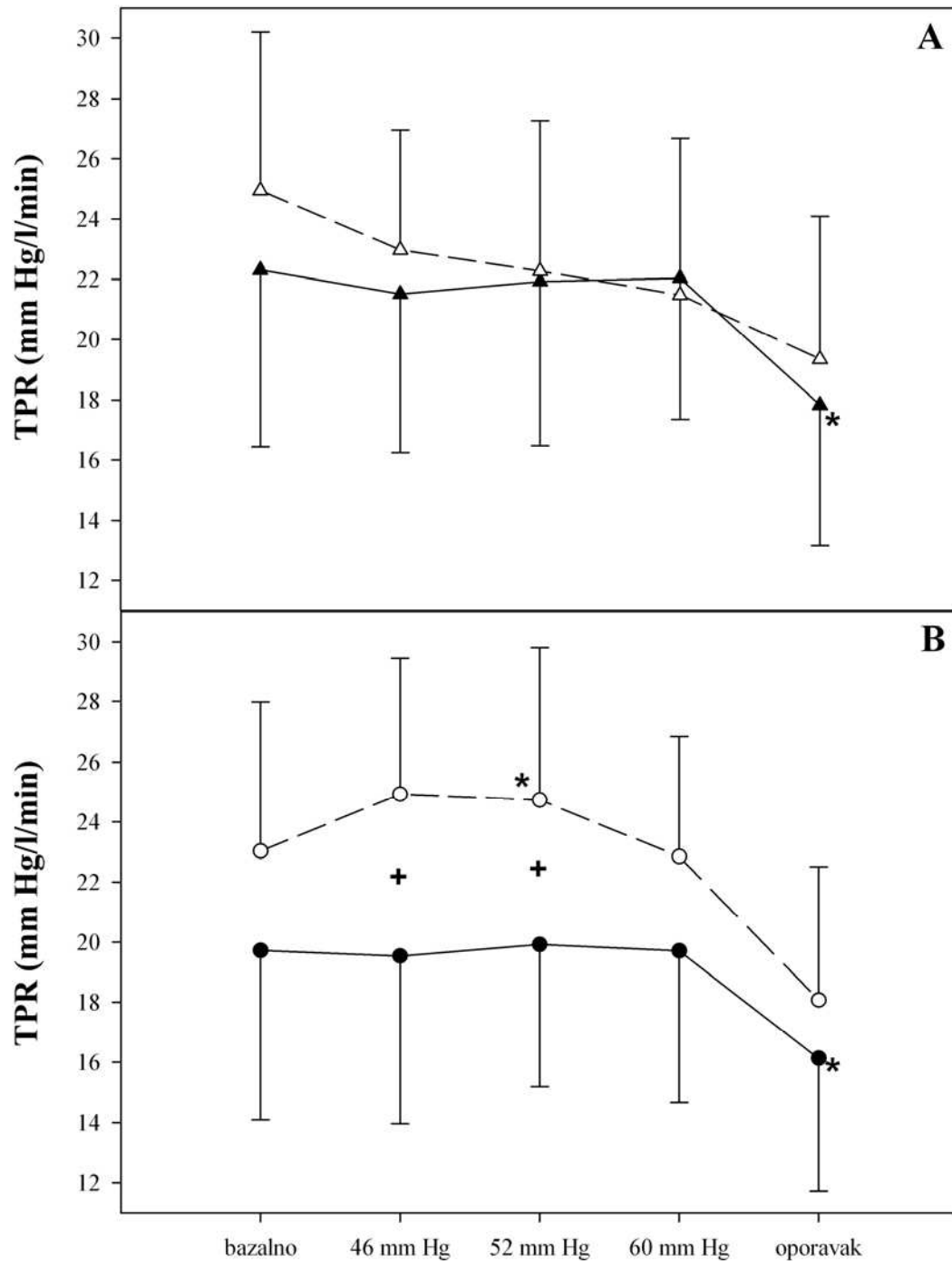
### Kardiovaskularni parametri :

Srednji arterijski tlak se značajno povećao tijekom kontrolnog pokušaja u obje skupine (sl. 10). Tijekom INDO pokušaja MAP je u ronilaca ostao nepromijenjen (sl. 10A), dok se u OSA povećao ( $p=0,03$ ) (sl. 10B). Indometacin je značajno povećao i bazalnu vrijednost MAP kod OSA ispitanika ( $p=0,03$ ).



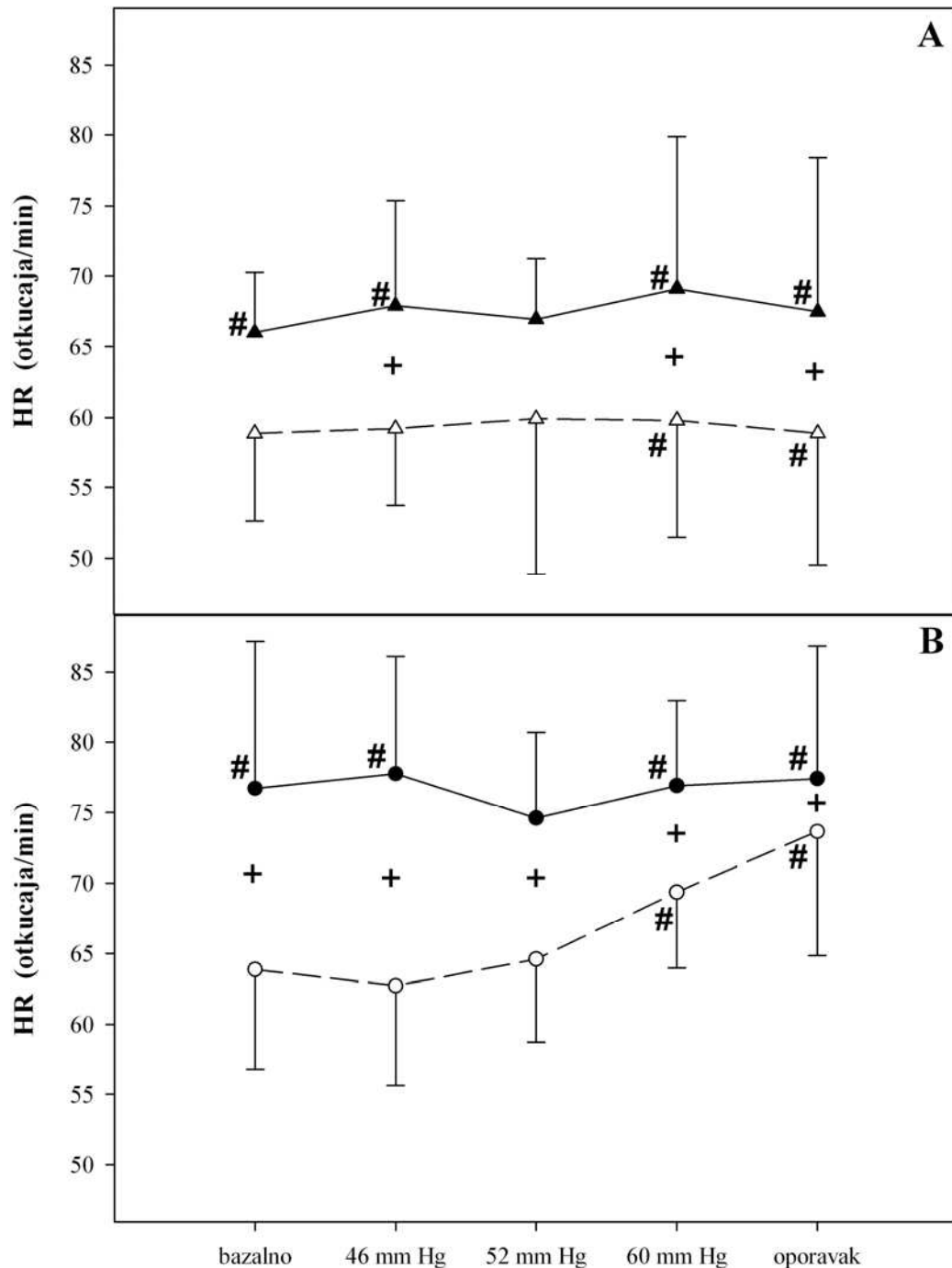
Slika 10. Promjene srednjeg arterijskog tlaka tijekom hiperkapnije i u oporavku. Srednji arterijski tlaci (MAP, mm Hg); roniloci (Panel A; kontrola (▲), INDO (Δ)); OSA (Panel B; kontrola (●), INDO (○)); statistički značajna razlika u hiperkapniji u odnosu na bazalno stanje (\*  $p<0,05$ ); statistički značajna razlika između pokušaja (kontrolni nasuprot INDO; +  $p<0,05$ ).

Ukupni periferni otpor je u kontrolnom pokušaju kod obje skupine ostao nepromijenjen, ali se u obje skupine tijekom oporavka dogodilo značajno smanjenje ( $p=0,02$ ) (sl. 11). Značajno je povećanje TPR tijekom početne faze hiperkapnije u INDO pokušaju u OSA ( $p=0,03$ ) (sl. 11B).



Slika 11. Promjene u ukupnom perifernom otporu tijekom hiperkapnije i u oporavku. Ukupni periferni otpor (TPR, mm Hg /l/min); ronici (Panel A; kontrola (▲), INDO (△)); OSA (Panel B; kontrola (●), INDO (○)); statistički značajna razlika u hiperkapniji i oporavku u odnosu na bazalno stanje (\*  $p<0,05$ ); statistički značajna razlika između pokušaja (kontrolni nasuprot INDO; +  $p<0,05$ ).

Srčana frekvencija kod obje skupine se nije značajno mijenjala tijekom hiperkapnije, premda je u OSA bila značajno veća u odnosu na ronioce zbog veće bazalne vrijednosti (sl. 12). Indometacin je značajno smanjio srčanu frekvenciju u obje skupine u usporedbi s kontrolnim pokušajem.

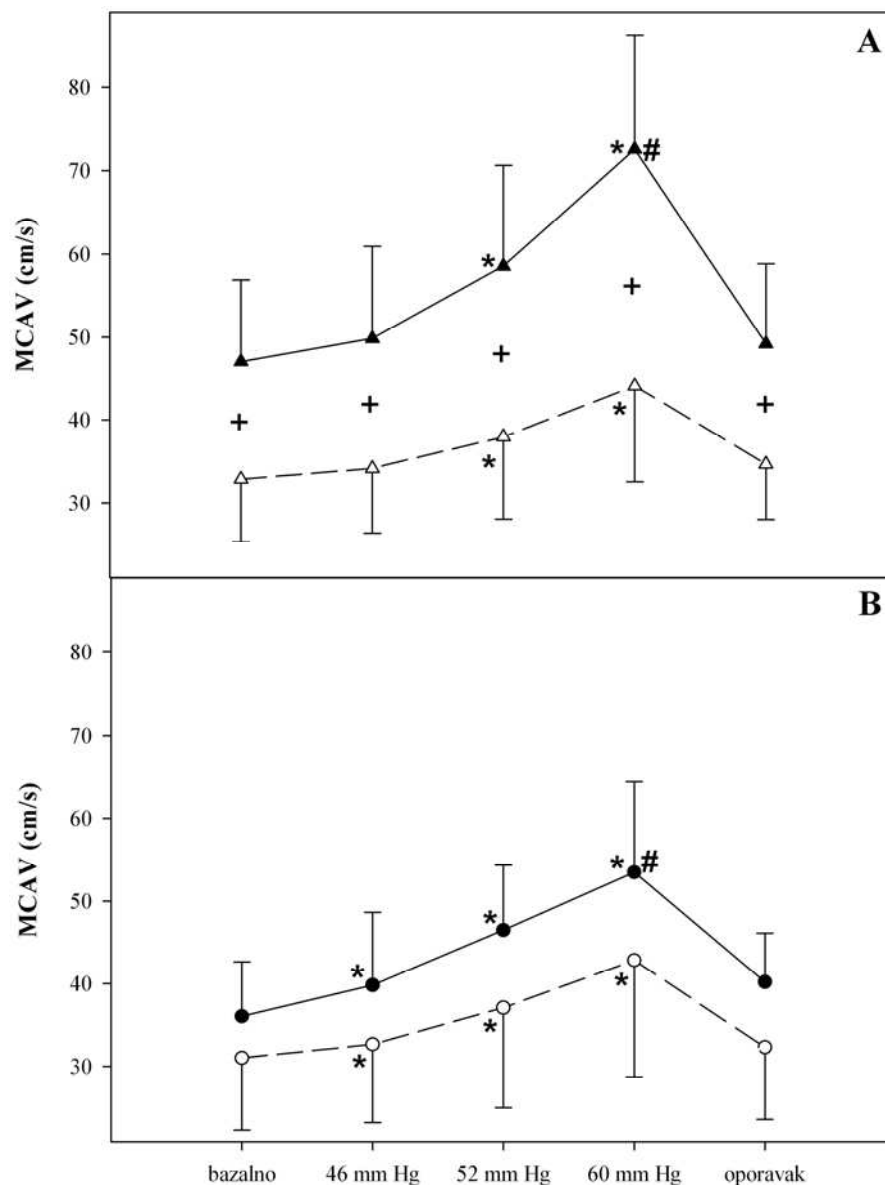


Slika 12. Promjene u srčanoj frekvenciji tijekom hiperkapnije i u oporavku. Srčana frekvencija (HR, otkucaja/min); rionoci (Panel A; kontrola (▲), INDO (△)); OSA (Panel B; kontrola (●), INDO (○)); statistički značajna razlika između pokušaja (kontrolni nasuprot INDO; +  $p < 0,05$ ); statistički značajna razlika između skupina (rionoci nasuprot OSA skupini; #  $p < 0,05$ ).



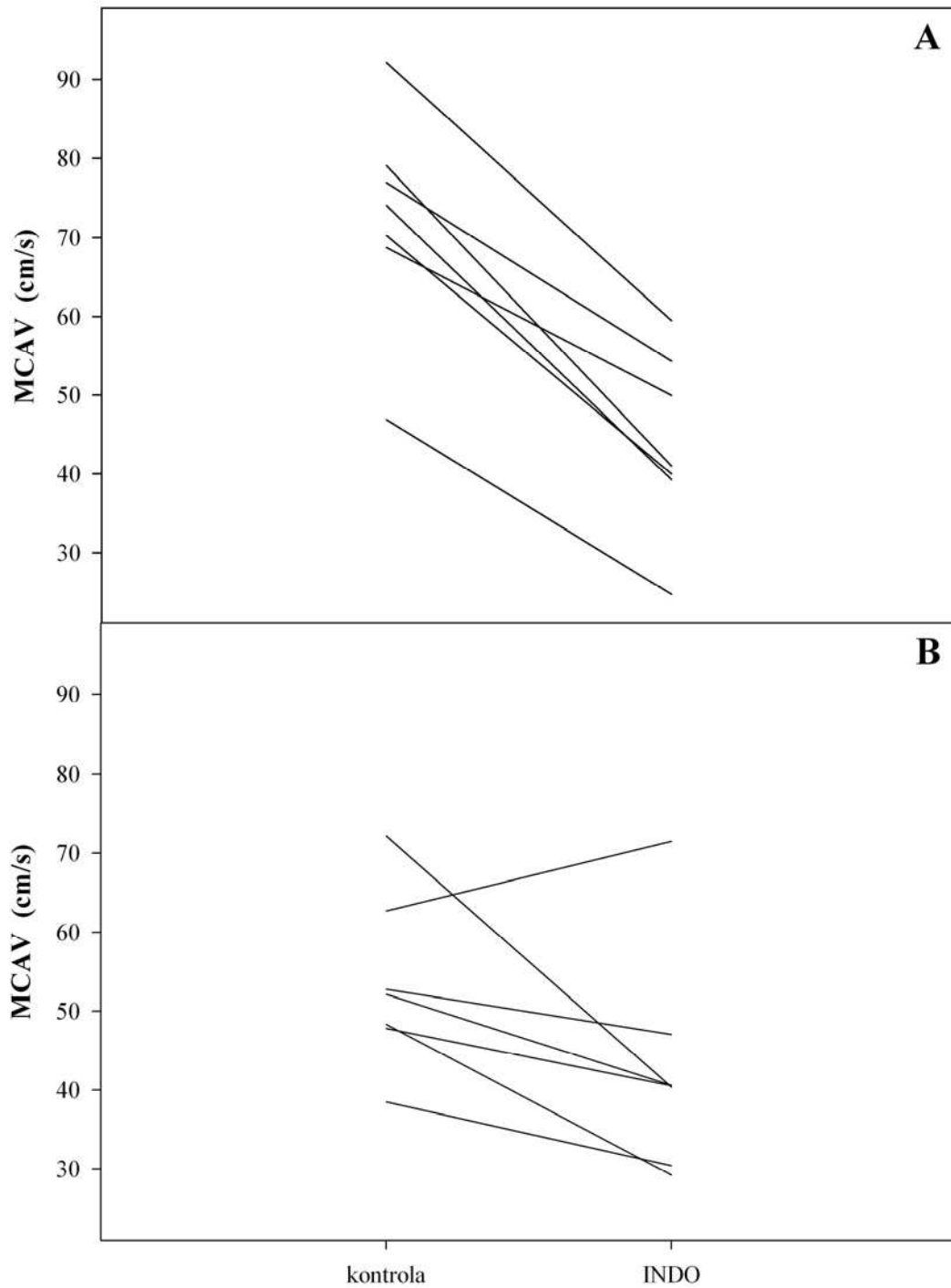
## Cerebrovaskularni parametri :

Tijekom kontrolnog pokušaja MCAV se u ronilaca povećao za 54,4 % ( $p=0,02$ ), a u OSA za 48,4 % ( $p=0,02$ ). Indometacin je u ronilaca značajno smanjio bazalnu vrijednost MCAV za 30,1 % ( $p=0,03$ ), dok u OSA smanjenje od 14,0 % nije bilo značajno (sl. 13). Indometacin je, također, doveo do značajno manjeg odgovora MCAV tijekom hiperkapnije u ronilaca (sl. 13A), ali ne i u OSA (sl. 13B).



Slika 13. Promjene u brzini protoka kroz srednju cerebralnu arteriju tijekom hiperkapnije i u oporavku. Brzina protoka kroz srednju cerebralnu arteriju (MCAV, cm/s); roniloci (Panel A; kontrola (▲), INDO (Δ)); OSA (Panel B; kontrola (●), INDO (○)); statistički značajna razlika u hiperkapniji u odnosu na bazalno stanje (\*  $p<0,05$ ); statistički značajna razlika između pokušaja (kontrolni nasuprot INDO; +  $p<0,05$ ); statistički značajna razlika između skupina (roniloci nasuprot OSA skupini; #  $p<0,05$ ).

Nakon primjene indometacina u obje skupine su zabilježena velika međusobna odstupanja kako u vazokonstriksijskom odgovoru na hipokapniju, tako i u vazodilatacijskom odgovoru na hiperkapniju (sl. 14).



Slika 14. Pojedinačni učinak indometacina na MCAV na vrhuncu hiperkapnije u kontrolnom i INDO pokušaju. Brzina protoka kroz srednju cerebralnu arteriju (MCAV, cm/s); ronoci - Panel A; OSA – Panel B.

## 6. Rasprava

### 6.1. Istraživanje 1

#### Cerebrovaskularni odgovor na hiperkapniju u ronilaca na dah

Najvažnija spoznaja ovog istraživanja je nepromijenjeni cerebrovaskularni odgovor na hiperkapniju u ronilaca na dah usprkos opetovanim izlaganjima hipoksičnoj hiperkapniji tijekom statičkog ili dubinskog zaranjanja.

U prijašnjim našim istraživanjima je pokazano kako se brzina protoka kroz srednju cerebralnu arteriju tijekom maksimalne apneje poveća za oko 100% (59). Mogući održani cerebrovaskularni odgovor na hiperkapniju ronilaca na dah bi ukazivao na sačuvanu homeostazu moždanog krvnog protoka uslijed dovoljne koncentracije cerebralnih moždanih vazodilatatora. Nepromijenjeni cerebrovaskularni odgovor u ronilaca na dah mogao bi biti obrazložen kao zaštitni mehanizam od cerebralne ishemije. Nemogućnost moždane cirkulacije da odgovori na zahtjeve hiperkapnije mogla bi dovesti do hipoperfuzije mozga tijekom ronjenja. Stoga bi se normalni cerebrovaskularni odgovor na hiperkapniju u ronilaca mogao smatrati sastavnim dijelom ronilačkog odgovora.

Tijekom posljednjih deset godina ronionci na dah stalno pomiču granice ljudskih mogućnosti povećavajući dubinu i trajanje zarona izlažući se, zdravom razumu, neprihvatljivim stanjima hipoksije i hiperkapnije. Do sada je pokazano kako je povremena hipoksija učinkovit poticaj respiracijskoj, kardiovaskularnoj i metaboličkoj prilagodbi samo pri stalnom, kroničnom djelovanju (70). Neke od ovih prilagodbi mogu biti korisne za sportaša, premda kronično izlaganje povremenoj hipoksiji može proizvesti negativne učinke poput povećanja otpora krvnih žila, kako u plućima, tako i sistemske cirkulaciji, hipertenzije, poremećaja u moždanoj i koronarnoj cirkulaciji, te neurokognitivnih poremećaja (70).

Kako se roniodci na dah kronično izlažu povremenoj hipoksiji i hiperkapniji, slično OSA pacijentima, korišteni su kao humani model povremene hipoksije i hiperkapnije bez ostalih pratećih poremećaja svojstvenih patofiziološkim modelima združene hipoksije i hiperkapnije.

Mehanizam koji uzrokuje normalan cerebrovaskularni odgovor na hiperkapniju ronilaca je nejasan. Povremena hipoksija i hiperkapnija su označeni kao okidač niza patofizioloških promjena koje završavaju endotelnom disfunkcijom, upalnom reakcijom, te aterosklerozom (71). Prevladava mišljenje kako povremena hipoksija dovodi do pojačanog stvaranja reaktivnih slobodnih radikala kisika što bi moglo umanjiti biorasploživost dušičnog oksida (NO), odnosno njegovo sudjelovanje u vazodilataciji (72). OSA bolesnici imaju snižen NO što se da poboljšati CPAP terapijom (73). Vazodilatacija uzrokovana hiperkapnijom je lokalna pojava izazvana složenim i brojnim mehanizmima (NO sintetaza, ciklooksigenaza, P-450 oksigenaza...) (74, 75). U skladu s navedenim, normalni cerebrovaskularni odgovor na hiperkapniju ronilaca na dah ukazuje na održanu homeostazu moždanog protoka dovoljnom koncentracijom cerebralnih vazodilatatora. Opažanja proistekla iz ovog istraživanja također podupiru tvrdnju kako opetovana hipoksija i hiperkapnija nisu dostatne za promjenu cerebrovaskularne reaktivnosti u odsustvu drugih pratećih metaboličkih i hemodinamskih čimbenika obično povezanih s OSA.

Ventilacijski odgovor na hiperkapniju je oslabljen u mnogim podvodnim sportovima (7-11) s ciljem potiskivanja nagona za disanjem usprkos značajnim centralnim i perifernim kemijskim podražajima. Slična prilagodba dišnog sustava je također primijećena u OSA bolesnika (76). U ovom istraživanju smo utvrdili umanjjen ventilacijski odgovor na prilagođeni Read-ov protokol kod treniranih ronilaca u odnosu na zdrave kontrolne ispitanike bez ronilačke anamneze. Ovaj zaključak je u skladu s dosadašnjim, sličnim istraživanjima (7-11). S obzirom na umanjjeni

cerebrovaskularni odgovor na hiperkapniju tijekom dana u OSA bolesnika (14-17) i oboljelih od kongestivnog zatajenja srca (18) nametnulo se pitanje može li se slična pojava očekivati i kod dugogodišnjih ronilaca na dah.

Ronilački odgovor je fiziološka prilagodba na hipoksiju i hiperkapniju tijekom ronjenja na dah s ciljem čuvanja rezervi kisika za organe poput mozga i srca. U ljudi je karakteriziran porastom aktivnosti vagusa, što dovodi do bradikardije, smanjenjem minutnog volumena srca, te porastom aktivnosti simpatikusa, što uzrokuje perifernu vazokonstrikciju i porast arterijskog tlaka (77). Učinak ovih promjena dovodi do smanjenja potrošnje kisika u perifernim tkivima i produljenja trajanja samog zarona. Ovaj učinak je osobito izražen u treniranih ronilaca na dah (4, 78, 79). Pokazano je ranije kako se skeletni mišići desaturiraju ranije od arterijske krvi, kako u treniranih ronilaca na dah, tako i u kontrolnih ispitanika bez ronilačke anamneze (80). Na taj se način dodatno podržavaju mehanizmi očuvanja rezervi kisika u ronilačkom odgovoru. Nedavna istraživanja su navela i kontrakcije slezene kao jedan od mehanizama ronilačkog odgovora (81-83). Niz ponavljanih apneja može uzrokovati hemodinamske promjene poput porasta tlačnog opterećenja desne klijetke i smanjivanja minutnog volumena srca povezanih sa zadržavanjem CO<sub>2</sub>, koje se nastavljaju i nakon uspostave normalnog disanja (58). Nalaz normalnog cerebrovaskularnog odgovora u ronilaca na dah ukazuje kako je ovaj mehanizam također prisutan s ciljem osiguravanja odgovarajućeg povećanja moždane cirkulacije tijekom ronjenja na dah.

## 6.2. Istraživanje 2

### Osjetljivost kemosenzitivnog područja dišnog centra i odgovor simpatičkog živčanog sustava na hiperkapniju

Slijedeći ideju o ronjocima na dah kao humanim modelima OSA, mikroneurografijom se pokušao utvrditi kardiovaskularni simpatički odgovor na hiperkapniju. Već je poznata kronično povišena MSNA u OSA bolesnika tijekom dana, što za posljedicu ima arterijsku hipertenziju (25-27). Simpatička aktivnost bi preko utjecaja na tonus krvnih žila i kontraktilnost srčanog mišića mogla mijenjati i sveukupni kardiovaskularni odgovor u hiperkapniji. Mikroneurografija je vrlo korisna i primjenljiva metoda razlučivanja učinka centralnih i perifernih mehanizama živčane kontrole.

Simpatička aktivnost i arterijski tlak u bazalnim uvjetima su slični u ronilaca na dah i kontrolnih ispitanika. Ova spoznaja ukazuje kako se barorefleksna simpatička regulacija u ronilaca na dah kreće unutar istih okvira kao i kod osoba bez ronilačke anamneze.

Za razliku od ronilaca na dah, oboljelima od OSA je dokazana kronično povišena mišićna simpatička živčana aktivnost kao posljedica višestrukih prestanaka disanja tijekom spavanja. Povišena aktivnost je prisutna i tijekom dana, što za posljedicu ima arterijsku hipertenziju. Izostanak očekivanog učinka u ronilaca na dah ukazuje kako opetovane apneje bez ostalih pratećih rizičnih čimbenika nisu dovoljne za dugotrajno povišeni simpatički vazomotorni tonus i arterijsku hipertenziju. Hiperkapnija pobuđuje ventilacijski, kardiovaskularni i autonomni živčani odgovor prvenstveno preko središnjih kemoreceptora, smještenih u produljenoj moždini (84).

Uporabom protokola "ponovnog udisanja"  $PCO_2$  ovisi o  $PCO_2$  prethodno izdahnutog zraka što vodi ka izjednačavanju koncentracija arterijskog, venskog i tkivnog  $CO_2$  (85).

Kao posljedicu imamo povećanje podražaja središnjih kemoreceptora što dovodi do povećanja ventilacijskog odgovora. Krivulja ventilacijskog odgovora na hiperkapniju je slična u ronilaca na dah i kontrolnih ispitanika. U dosadašnjim istraživanjima je pokazan umanjen ili nepromijenjen ventilacijski odgovor na hiperkapniju u ronilaca na dah (7, 8, 11, 12). U OSA bolesnika je pokazan sličan, dvojak, odgovor (27, 86, 87).

Tijekom hiperkapničnog protokola primijećen je sličan porast srednjeg arterijskog tlaka u ronilaca na dah i kontrolnih ispitanika. Tlačni odgovor nije bio izazvan sistemskom vazokonstrikcijom. Povećanje srednjeg arterijskog tlaka i minutnog volumena srca tijekom hiperoksične hiperkapnije je pokazano i u prijašnjim istraživanjima (88). Hemodinamski odgovor po svršetku hiperkapničnog protokola, odnosno tijekom udisanja sobnog zraka razlikovao se među skupinama. Srednji arterijski tlak se vrlo brzo vratio na bazalne vrijednosti u obje skupine, dok se srčana frekvencija povećala. Ronioci na dah su pokazali značajno povećanje minutnog volumena srca i smanjenje žilnog otpora nakon ponovnog vraćanja na udisanje sobnog zraka. Kod kontrolnih ispitanika je to bilo manje izraženo ili je izostalo. Ovakav kardiovaskularni odgovor u periodu oporavka je neočekivan s obzirom na vrlo brzo vraćanje  $P_{ET}CO_2$  na bazalne vrijednosti.

Kardiovaskularni odgovor na hiperkapniju je izravna posljedica utjecaja simpatičke aktivnosti na tonus krvnih žila i kontraktilnost srčanog mišića. Podaci dobiveni mikroneurografijom su korisni za razdvajanje učinaka središnjih i perifernih živčanih mehanizama. Zabilježen je naglašen porast simpatičke živčane aktivnosti tijekom hiperkapničnog protokola, te brzo vraćanje na bazalne vrijednosti tijekom ponovnog udisanja sobnog zraka. Slično je pokazano i u drugim istraživanjima (23, 88). Ukupna simpatička živčana aktivnost se povećala daleko više nego broj okidanja u jedinici vremena. Ovaj podatak ukazuje na sudjelovanje eferentnih simpatičkih neurona tijekom hiperkapnije.

Simpatička živčana aktivnost na završetku hiperkapničnog protokola ( $P_{ET}CO_2 = 60$  mm Hg) je nešto veća u skupini ronilaca na dah.

Porastom simpatičkog vazomotornog tonusa tijekom hiperkapnije, očekivala bi se opća vazokonstrikcija, no ukupni periferni otpor krvnih žila ostaje nepromijenjen. Vjerojatno postoji međudjelovanje između hiperkapnije, simpatičke živčane aktivnosti i vazokonstrikcije. Podatak iz ovog istraživanja, kako se ukupni vaskularni otpor smanjio u periodu oporavka govori u korist ove pretpostavke. Utjecaj hiperkapnije na žilni tonus se razotkriva upravo tijekom perioda oporavka. Dosadašnja istraživanja su proučavala periferni hemodinamski odgovor na hiperkapniju u bolesnika s težim poremećajima autonomnog živčanog sustava (89), ili u zdravih ispitanika tijekom potpune ganglijske blokade (90). Utjecaj hiperkapnije na otpuštanje adrenalina i noradrenalina mogao bi biti ostvaren na presinaptičkoj razini. Acidoza je navedena kao mogući razlog umanjelog otpuštanja noradrenalina (91).

U dosadašnjim istraživanjima na ljudima stanja hipoksije s ili bez pridružene hiperkapnije dovela su do pobuđivanja simpatičke aktivnosti koja bi se održavala i više od jednog sata nakon pokusa (33, 36, 92). U ovom istraživanju ronionci se nisu podvrgavali svom ustaljenom protokolu ronjenja neposredno prije pokusa, tako da nemamo podatke o održanoj povećanoj simpatičkoj aktivnosti i povećanom arterijskom tlaku po završetku ronjenja. Uporabom CPAP uređaja u OSA bolesnika povećana simpatička aktivnost se smanjuje unutar 2 tjedna (93). Hipobarična hipoksija kod zdravih ispitanika dovodi do simpatičke aktivacije koja ostaje povećana i u naredna 3 dana (94). Naši ispitanici, ronionci na dah, svoje su prethodne zarone imali 3-5 dana prije pokusa. Hipobarični hipoksični podražaj u smislu boravka na velikoj nadmorskoj visini dovodi do hiperventilacijom izazvane hipokapnije, za razliku od hipoksične hiperkapnije izazvane ronjenjem na dah, odnosno apnejom.



### **6.3. Istraživanje 3**

#### **Učinak indometacina u odgovoru cerebrovaskularnog, kardiovaskularnog i respiracijskog sustava na hipo- i hiperkapniju**

Uvođenjem skupine OSA bolesnika, nastojalo se, konačno, usporediti njihov cerebrovaskularni, kardiovaskularni i respiracijski odgovor na hiperkapniju i hipokapniju u odnosu na skupinu ronilaca na dah. U nastavku se pokušao rasvijetliti mehanizam cerebrovaskularnog odgovora na hiperkapniju i hipokapniju inhibicijom sinteze prostaglandina, bitnih medijatora u regulaciji protoka kroz krvne žile mozga.

U ovom pokusu indometacin se koristio kao vrlo učinkovito sredstvo za smanjivanje cerebrovaskularnog protoka te smanjivanje cerebrovaskularne osjetljivosti na CO<sub>2</sub> (5, 45, 46, 95). Iako je indometacin moćan inhibitor ciklooksigenaze, upitan je mehanizam njegova djelovanja na cerebrovaskularni protok s obzirom da neki drugi inhibitori ciklooksigenaze (diklofenak, acetilsalicilna kiselina, naproksen) nemaju istovjetan učinak na protok kroz moždane krvne žile (45, 46, 96, 97). Kao mogući mehanizam učinka indometacina na cerebrovaskularni protok navodi se njegovo međudjelovanje s izvanstaničnom acidozom (95), blokada kalcijevih kanala (98), inhibicija otpuštanja histamina (99), ili inhibicija stvaranja superoksidnih aniona (100).

Rezultati ovog istraživanja pokazali su kako indometacin značajno smanjuje bazalni cerebrovaskularni protok kao i hipokapnični vazokonstriksijski odgovor u obje skupine. Vazodilacijski odgovor na hiperkapniju se značajno smanjuje uslijed djelovanja indometacina samo u ronilaca, dok je u OSA manje izražen. Ovakav nalaz ukazuje kako su u OSA vazodilacijski mehanizmi u hiperkapniji manje izraženi bez obzira jesu li ovisni o prostaglandinima ili ne. U prvom pokusu s mlađim roniocima na vrhuncu hiperkapnije

MCAV se povećava za oko 74% slično kao i u kontrolnoj skupini (67%). Ovaj podatak ukazuje kako cerebrovaskularna homeostaza kod ove populacije biva očuvana da bi se spriječila moždana ishemija tijekom opetovanih višeminutnih stanja hipoksije i hiperkapnije. Normalan cerebrovaskularni odgovor ronilaca na dah koji je u suprotnosti s dosadašnjim nalazima u OSA, ukazuje kako opetovane apneje same po sebi nisu uzrok smanjenog cerebrovaskularnog odgovora na hiperkapniju u OSA populacije. U trećem pokusu roniodci na dah su približno 20 godina stariji od onih u prvom pokusu. MCAV se kod starijih ronilaca, na vrhuncu hiperkapnije, povećava za 55 % (nije značajna razlika u odnosu na mlađe ronioce). Iako brojna istraživanja navode kako OSA ispitanici imaju smanjen cerebrovaskularni odgovor na hiperkapniju (14, 16, 17), te kako se može povećati nakon CPAP terapije (14, 73), u ovome istraživanju njihov odgovor je iznosio oko 49 %. Kako su naši OSA ispitanici bili normotenzivni, normoksični u mirovanju tijekom dana, te nisu bili pretili, smanjeni cerebrovaskularni odgovor na hiperkapniju ukazuje na manjkavost dilatacijskih, prostaglandinskih i/ili ne-prostaglandinskih, mehanizama u ranijem, odnosno blažem stupnju OSA. Drugo objašnjenje bi moglo biti kako su prateći čimbenici same bolesti, poput hipertenzije ili dijabetesa, neophodni za potpunu sliku narušenih cerebrovaskularnih funkcija. Nadalje, podatak da je cerebrovaskularni odgovor na *hipokapniju* približno jednak u obje skupine ukazuje kako nema razlike u moždanim vazokonstriksijskim prostaglandinskim i ne-prostaglandinskim mehanizmima.

Vodeći se za učinkom indometacina na cerebrovaskularni protok, nametnula se ideja o njegovu djelovanju i na ventilaciju s obzirom na istraživanja koja su isticala ulogu prostaglandina u ventilaciji tijekom najranijeg života, ali i u odrasloj dobi (101). Razmotrivši rezultate istraživanja može se reći kako indometacin ima neznatan utjecaj na krivulju ventilacijskog odgovora na CO<sub>2</sub> u ronilaca na dah i osoba s OSA. Povećan ventilacijski odgovor na hiperkapniju u ronilaca i OSA bio je u skladu s dosadašnjim saznanjima. Učinak

dobi na ventilacijski odgovor na hiperkapniju je u literaturi dvojbena. Neki autori su navodili smanjen odgovor na hiperkapniju kod starije populacije (102-104), dok je kod drugih bio nepromijenjen (105). Temeljem ovih navoda očekivan je smanjen ili nepromijenjen ventilacijski odgovor na hiperkapniju starijih ronilaca iz trećeg pokusa u odnosu na mlađe iz prvog. Suprotno ovome, stariji ronionici su pokazali značajno veći ventilacijski odgovor (sa 9,7 na 51,5 l/min; mlađi sa 12,9 na 37,8 l/min;  $p=0,01$ ). Ovaj podatak ne podupire tvrdnju o smanjenom cerebrovaskularnom odgovoru na hiperkapniju, a objašnjenje zahtijeva daljnja istraživanja.

Tijekom hiperkapničnog pokusa primijećeno je slično povećanje srednjeg arterijskog tlaka u obje skupine. Povećanje MAP nije bilo povezano sa povećanjem sistemske vazokonstrikcije što je vidljivo iz nepromijenjenog ukupnog perifernog otpora. U 2. istraživanju je pokazano kako je TPR u hiperkapniji ostao nepromijenjen usprkos povećanju MSNA. Ovaj podatak nam govori kako se hiperkapnija upliće između simpatičke aktivnosti i žilne kontraktilnosti. Općenito, kardiovaskularni parametri iz trećeg pokusa su vrlo slični onima iz prvog, ukazujući kako ronilački staž i dob (stariji ronionici) te OSA ispitanici bez pratećih kardiovaskularnih i metaboličkih poremećaja nisu povezani sa značajnim odstupanjima u srčanožilnom odgovoru na hiperkapniju. Jedina značajna razlika između ove dvije skupine je nešto veća srčana frekvencija (10 otkucaja/min) u OSA u mirovanju i tijekom hiperkapnije. Ronionici na dah mogli bi imati nešto naglašeniji utjecaj vagusa na srce, jer se bradikardija navodi kao bitan dio ronilačkog odgovora, a i dnevna fizička aktivnost ronilaca je nešto veća nego u osoba s OSA.

Pod utjecajem indometacina zapažen je nešto različit kardiovaskularni odgovor na hiperkapniju između ove dvije skupine ispitanika. U ronilaca nije bilo razlike u odgovoru, a u OSA ispitanika zabilježeno je povećanje MAP pod utjecajem indometacina. Imajući u vidu

ovaj podatak, nejasno je djeluje li indometacin isključivo na cerebrovaskularni tonus ili dovodi do znatnije sistemske vazokonstrukcije (106, 107).

### **Ograničavajući čimbenici provedenih istraživanja**

U prvom i trećem istraživanju roniaci nisu provodili zarone neposredno prije pokusa, za razliku od OSA ispitanika koji su vjerojatno tijekom prethodne noći imali periode apneje ili otežanog disanja. U drugom istraživanju roniaci se, također, nisu podvrgavali svome ustaljenom protokolu ronjenja neposredno prije pokusa, tako da nemamo podatke o održanoj povećanoj simpatičkoj aktivnosti i povećanom arterijskom tlaku po završetku ronjenja. Pojedini roniaci su svoje posljednje zarone imali unutar dva tjedna od istraživanja. Uobičajeni ronilački dan se sastoji od 20 – 50 zaranjanja u pojedinačnom trajanju od 2 – 5 min kroz period od 4 – 5 h, pri čemu je ukupno trajanje apneje oko 1.5 h. Imajući u vidu i ove podatke, ipak, postoje izvjesne razlike u hipoksično/hiperkapničkom podražaju kojem se svakodnevno ili manje često izlažu ove dvije skupine ispitanika, a odnose se na trajanje, učestalost i trenutak prestanka disanja. OSA ispitanici imaju učestalije, ali kraće periode prestanka disanja ( $\approx 20$  s) koji nastupaju na kraju izdisaja, za razliku od ronilaca na dah kojima je prestanak disanja na kraju udisaja, te apneja traje više minuta. Roniaci zadržavaju dah svjesno i svojevoljno, dok OSA bolesnici to čine mimo svoje volje u snu.

U ovim istraživanjima proučavao se, izolirano, učinak hiperkapnije i/ili hipokapnije bez pratećeg učinka hipoksije, koja je prisutna tijekom apneja pri ronjenju (roniaci na dah) ili u snu (OSA).

Cerebrovaskularni protok je prikazan kao brzina protoka kroz srednju cerebralnu arteriju, a ne volumen protoka. Ova metoda je korištena temeljem pretpostavke da relativne

promjene brzine protoka kroz srednju cerebralnu arteriju izravno pokazuju relativne promjene protoka krvi (63). Mnoga istraživanja ukazuju kako je brzina protoka kroz srednju cerebralnu arteriju pouzdan pokazatelj moždanog protoka te da je promjer srednje cerebralne arterije nepromijenjen tijekom umjerene hiperkapnije (64, 65).

## 7. Zaključak

Hiperoksično/hiperkapnični protokol je primijenjen kako bi se dobio specifični odgovor na izoliranu, akutnu hiperkapniju, bez učinka hipoksije kao sastavnog dijela apneje. Istovremeno, istraživale su se posljedice dugotrajnog izlaganja apneji u različitim populacijama ispitanika.

Slijedom rezultata iz prvog istraživanja naglašava se spoznaja kako opetovano izlaganje povremenoj hipoksiji i hiperkapniji u odsustvu drugih rizičnih čimbenika i poremećaja poput hipertenzije, intolerancije glukoze, hiperlipidemije i drugih štetnih utjecaja na mikrocirkulaciju nema značajno negativnog utjecaja na cerebrovaskularni odgovor. Nepromijenjeni cerebrovaskularni odgovor nameće zaključak da se radi o sastavnom dijelu ronilačkog odgovora.

Učestala apneja u ronilaca na dah ne vodi u povišenu simpatičku aktivnost i arterijsku hipertenziju. Može se reći kako je središnja kemorefleksna kontrola respiracije i simpatičke aktivnosti još uvijek održana u ovoj populaciji. Očuvana središnja kemorefleksna kontrola simpatičke aktivnosti mogla bi služiti kao zaštitni mehanizam stabilizacije arterijskog tlaka tijekom hiperkapnije. Simpatički odgovor je različit u populacijama ronilaca na dah i OSA bolesnika. Rezultati ovog istraživanja ukazuju da opetovane apneje, u odsustvu drugih čimbenika rizika, nisu dovoljan podražaj za povećavanje bazalne simpatičke živčane aktivnosti.

Indometacin značajno smanjuje cerebrovaskularni odgovor na hiperkapniju u ronilaca na dah, ali ne i u OSA ispitanika bez pridruženih kardiovaskularnih, metaboličkih i cerebrovaskularnih poremećaja. Iz navedenoga bi se mogao izvesti zaključak kako OSA ispitanici imaju znakove endotelne disfunkcije moždane cirkulacije, no kronično izlaganje opetovanim

apnejama nije samo po sebi dovoljno za cerebrovaskularna funkcionalna odstupanja u toj populaciji. S druge strane, fizička aktivnost ronilaca na dah bi mogla blagotvorno djelovati na cerebrovaskularni endotelni odgovor slično onome u drugim dijelovima kardiovaskularnog sustava (108). Rezultati ovog istraživanja ukazuju na nužnu nazočnost kardiovaskularnih, metaboličkih i drugih poremećaja u OSA kako bi se razvila endotelna disfunkcija i smanjio moždani vazodilatacijski odgovor na hiperkapniju.

## 8. Sažetak

Opetovane apneje se spominju kao mogući uzrok smanjenog cerebrovaskularnog odgovora kod oboljelih od OSA. Kako bismo ispitali tvrdnju o utjecaju učestalo ponavljanih apneja na cerebrovaskularni odgovor u hiperkapniji, određivali smo taj odgovor mjereći promjene brzine protoka kroz srednju cerebralnu arteriju (MCAV, cm/s) u odnosu na promjenu vršne koncentracije CO<sub>2</sub> na kraju izdisaja (P<sub>ET</sub>CO<sub>2</sub>). Mjerenja su provedena tijekom dva hiperoksično hiperkapnična pokušaja disanja u zatvorenom sustavu (prilagođeni Read protokol) u skupini vrhunskih ronilaca na dah (N=7) i kontrolnoj skupini bez ronilačke anamneze (N=7). Uz cerebrovaskularne, mjereni su ventilacijski i kardiovaskularni parametri. Ventilacijski odgovor na hiperkapniju je u ronilaca bio smanjen u odnosu na kontrolnu skupinu prvenstveno uslijed niže frekvencije disanja. Cerebrovaskularni odgovor na hiperkapniju se nije razlikovao između skupina ( $3,7 \pm 1,4$  prema  $3,4 \pm 1,3$  % / mm Hg), a slično je nađeno i kod cerebrovaskularnog otpora i MCAV. Kardiovaskularni parametri se nisu značajno mijenjali tijekom hiperkapnije, osim manjeg porasta srednjeg arterijskog tlaka u obje skupine. Rezultati ovoga istraživanja pokazuju da je cerebrovaskularni odgovor na hiperkapniju u ronilaca na dah nepromijenjen u cilju zaštite organizma od kroničnih, povremenih cerebralnih hipoksija i hiperkapnija tijekom ronjenja. Ovi rezultati, također, govore da uz opetovane apneje moraju postojati i drugi poremećaji kako bi se OSA bolesnicima smanjio cerebrovaskularni podražaj na hiperkapniju.

Opetovani periodi hipoksije i hiperkapnije u OSA povećavaju simpatičku aktivnost što dovodi do arterijske hipertenzije. Vrhunski, dugogodišnji ronoci na dah izlažu se sličnim, apnejom uzrokovanim hipoksičnim i hiperkapničnim poremećajima homeostaze. Pretpostavili smo kako vrhunski ronoci na dah imaju povišenu simpatičku živčanu aktivnost u mirovanju, kao i naznake hipertenzije, što se objašnjava pretjeranim odgovorom simpatičkog živčanog sustava u hiperkapniji. U istraživanju je sudjelovalo 11 dugogodišnjih ronilaca na dah i 9



kontrolnih ispitanika. Promatrani su arterijski tlak, srčana frekvencija, brzina protoka kroz femoralnu arteriju, ventilacijski parametri, vršna koncentracija CO<sub>2</sub> na kraju izdisaja (P<sub>ET</sub>CO<sub>2</sub>) i mišićna simpatička živčana aktivnost (MSNA). Nakon mjerenja bazalnih vrijednosti ispitanici su disali hiperoksično/hiperkapničnu smjesu u zatvorenom sustavu (95 % O<sub>2</sub> i 5 % CO<sub>2</sub>) sve do dosezanja P<sub>ET</sub>CO<sub>2</sub> od 60 mm Hg. Bazalna vrijednost MSNA (izražena kroz broj izbijanja u jedinici vremena) je iznosila 31±11 izbijanja/min u ronilaca, te 33±13 izbijanja/min u kontrolnih ispitanika. Ukupna MSNA aktivnost je iznosila 1,8 ± 1,5 aj/min u skupini ronilaca, te 1,8 ± 1,3 aj/min u kontrolnoj skupini. Zasićenost arterijske krvi kisikom se nije mijenjala tijekom pokusa, dok je P<sub>ET</sub>CO<sub>2</sub> rasla tijekom disanja u zatvorenom sustavu. Krivulja hiperkapničnog ventilacijskog i MSNA odgovora je bila slična u obje skupine. Temeljem ovih rezultata zaključili smo da opetovane hipoksije i hiperkapnije tijekom zaranjanja nisu same dovoljne za porast simpatičke aktivnosti ili pojavu arterijske hipertenzije u dugogodišnjih ronilaca na dah.

Ranije je pokazano kako je cerebrovaskularni vazodilatacijski odgovor na hiperkapniju u ronilaca na dah jednak onome kontrolnih ispitanika, tako da opetovane apneje nisu same odgovorne za smanjeni cerebrovaskularni odgovor na hiperkapniju u OSA. Temeljem ove tvrdnje pretpostavili smo da roniosi na dah i OSA ispitanici bez pridruženih poremećaja svojstvenih OSA imaju sličan MCAV odgovor na hiperkapniju i hipokapniju. Uz to, nastojalo se istražiti je li uloga prostaglandinskih i/ili ne-prostaglandinskih mehanizama u vazokonstrikcijском i vazodilatacijskom odgovoru jednaka ili nije. Proučavale su se promjene u MCAV odgovoru na hipokapniju i hiperoksičnu hiperkapniju u placebo pokušaju i 90 min nakon primjene 100 mg indometacina. Jednu skupinu su činili zdravi, dugogodišnji roniosi na dah (N=7), a drugu ispitanici s dijagnosticiranim OSA poremećajem (N=7). Tijekom kontrolne hiperkapnije MCAV je porastao za 54,4 % u ronilaca, te za 48,4 % u OSA ispitanika (p=0,02). Indometacin je značajno smanjio cerebrovaskularni odgovor na

hiperkapniju u ronilaca ( $p=0,02$ ), ali ne i u OSA ispitanika. Kardiovaskularni parametri se nisu značajno mijenjali tijekom hiperkapničnog pokusa, izuzevši manji porast srednjeg arterijskog tlaka. Indometacin je smanjio odgovor MAP u ronilaca, ali ne i u OSA ispitanika. Kardiovaskularni i cerebrovaskularni odgovor na *hipokapniju* je bio jednak u obje skupine. Izostanak smanjenja MCAV odgovora na *hiperkapniju* pod utjecajem indometacina u OSA ispitanika ukazuje na dvije činjenice: 1) izostanak normalnog doprinosa lokalnih vazodilatacijskih mehanizama (prostaglandinskih i/ili ne-prostaglandinskih) u cerebrovaskularnom odgovoru na hiperkapniju u OSA ispitanika; 2) dugotrajno izlaganje opetovanim apnejama nije samo po sebi dovoljno za narušavanje normalnog doprinosa vazodilatacijskih mehanizama u cerebrovaskularnom odgovoru na hiperkapniju u OSA ispitanika.

## 9. Summary

### **Characteristics of cerebrovascular, cardiorespiratory and autonomic responses to CO<sub>2</sub> in breath-hold divers**

Hypercapnic cerebrovascular reactivity is decreased in obstructive sleep apnea perhaps as a result of repeated apneas. To test the hypothesis that repeated apneas blunt cerebrovascular reactivity to hypercapnia, we studied breath hold divers and determined cerebrovascular reactivity by measuring changes in middle cerebral artery velocity (MCAV, cm/s) per mmHg change in end-tidal partial CO<sub>2</sub> pressure (P<sub>ET</sub>CO<sub>2</sub>) in response to two hyperoxic hypercapnia rebreathing maneuvers (modified Read protocol) in elite breath-hold divers (BHD, N=7) and non-divers (ND, N=7). In addition, ventilation and central hemodynamics (beat-to-beat stroke volume measurement with Modelflow technique) were determined. Ventilatory responses to hypercapnia were blunted in BHD vs ND largely due to lower breathing frequency. Cerebrovascular reactivity did not differ between groups (3.7±1.4 vs 3.4±1.3 %/mmHg P<sub>ET</sub>CO<sub>2</sub> in BHD and ND, respectively; p=0.90) and the same was found for cerebral vascular resistance and MCAV recovery to baseline after termination of the CO<sub>2</sub> challenge. Cardiovascular parameters were not changed significantly during rebreathing in either group, except for small increase in mean arterial pressure for both groups. Our findings indicate that regulation of cerebral circulation in response to hypercapnia is intact in elite breath-hold divers, potentially as a protective mechanism against chronic intermittent cerebral hypoxia and/or hypercapnia that occurs during breath-hold diving. These data also suggest that factors other than repeated apneas contribute to the blunting of cerebrovascular reactivity in conditions like sleep apnea.

Repeated hypoxemia in obstructive sleep apnea (OSA) patients increases sympathetic activity thereby promoting arterial hypertension. Elite breath-holding divers are exposed to similar apneic episodes and hypoxemia. We hypothesized that trained divers would have increased resting sympathetic activity and blood pressure, as well as an excessive sympathetic nervous system response to hypercapnia. We recruited eleven experienced divers and nine control subjects. During the diving season preceding the study, divers participated in  $7.3 \pm 1.2$  diving fish-catching competitions and  $76.4 \pm 14.6$  apnea training sessions with the last apnea 3-5 days before testing. We monitored beat-by-beat blood pressure, heart rate, femoral artery blood flow, respiration, end tidal  $\text{CO}_2$ , and muscle sympathetic nerve activity (MSNA). After a baseline period, subjects began to rebreathe a hyperoxic gas mixture to raise end-tidal  $\text{CO}_2$  to 60 mm Hg. Baseline MSNA frequency was  $31 \pm 11$  bursts/min in divers and  $33 \pm 13$  bursts/min in control subjects. Total MSNA activity was  $1.8 \pm 1.5$  arbitrary units/min in divers and  $1.8 \pm 1.3$  au/min in control subjects. Arterial oxygen saturation did not change during rebreathing while end-tidal  $\text{CO}_2$  increased continuously. The slope of the hypercapnic ventilatory and MSNA response was similar in both groups. We conclude that repeated bouts of hypoxemia in elite, healthy breath-holding divers do not lead to sustained sympathetic activation or arterial hypertension. Repeated episodes of hypoxemia may not be sufficient to drive an increase in resting sympathetic activity in the absence of additional comorbidities.

Previously we have shown that the cerebrovascular vasodilator response to hypercapnia is normal in breath hold divers (BHD) when compared to healthy men, suggesting that repeated sole apneas are not the cause of blunted cerebrovascular responses to hypercapnia in OSA. Thus we tested whether BHD and OSA subjects had similar middle cerebral artery velocity (MCAV) responses to hypercapnia and hypocapnia and we also tested whether the contribution of prostaglandin (PG)-dependent and PG-independent mechanisms to the vasodilator responses were the same or different. We have analysed changes in MCAV

(cm/s) in response to hypocapnia and hyperoxic hypercapnia during placebo or after 90 min of oral indomethacin (100 mg) in BHD (N=7) and OSA (N=7). During control hypercapnia MCAV increased by 54.4 % in BHD and 48.4 % in OSA. Indomethacin blunted the MCAV increase in response to hypercapnia in BHD ( $p=0.02$ ), but not in OSA. Cardiovascular parameters were not changed significantly during exposure to hypercapnia, except for a small increase in mean arterial pressure (MAP). Indomethacin attenuated the MAP response in BHD, but not in OSA. Cardiovascular and cerebrovascular responses to hypocapnia were the same in both groups. The blunted MCAV responses to hypercapnia with indomethacin in BHD, but not in OSA patients suggest that a) the normal contribution of local vasodilating PG-dependent and PG-independent mechanisms to cerebrovascular responses to hypercapnia is absent in OSA patients and b) exposure to chronic/repeated apneas is not causal per se in limiting the contribution of vasodilating, PG-dependent and PG-independent, mechanisms of cerebrovascular responses to hypercapnia in OSA.

## 10. Popis literature

1. Haji A, Takeda R, Okazaki M. Neuropharmacology of control of respiratory rhythm and pattern in mature mammals. *Pharmacol Ther* 2000;86:277-304.
2. McCrimmon DR, Monnier A, Hayashi F, Zuperku EJ. Pattern formation and rhythm generation in the ventral respiratory group. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2000;27:126-31.
3. Guyton AC, Hall JE. Regulation of respiration. *Textbook of medical physiology*. Elsevier, Philadelphia, USA; 2006;474-7.
4. Ferretti G. Extreme human breath-hold diving. *Eur J Appl Physiol* 2001;84:254-71.
5. Xie A, Skatrud JB, Morgan B, Chenuel B, Khayat R, Reichmuth K i sur. Influence of cerebrovascular function on the hypercapnic ventilatory response in healthy humans. *J Physiol* 2006;577:319-29.
6. Liner MH, Ferrigno M, Lundgren CE. Alveolar gas exchange during simulated breath-hold diving to 20 m. *Undersea Hyperb Med* 1993;20:27-38.
7. Davis FM, Graves MP, Guy HJ, Prisk GK, Tanner TE. Carbon dioxide response and breath-hold times in underwater hockey players. *Undersea Biomed Res* 1987;14:527-34.
8. Delapille P, Verin E, Tourny-Chollet C, Pasquis P. Ventilatory responses to hypercapnia in divers and non-divers: effects of posture and immersion. *Eur J Appl Physiol* 2001;86:97-103.
9. Florio JT, Morrison JB, Butt WS. Breathing pattern and ventilatory response to carbon dioxide in divers. *J Appl Physiol* 1979;46:1076-80.
10. Grassi B, Ferretti G, Costa M, Ferrigno M, Panzacchi A, Lundgren CE i sur. Ventilatory responses to hypercapnia and hypoxia in elite breath-hold divers. *Respir Physiol* 1994;97:323-32.
11. Masuda Y, Yoshida A, Hayashi F, Sasaki K, Honda Y. Attenuated ventilatory responses to hypercapnia and hypoxia in assisted breath-hold drivers (Funado). *Jpn J Physiol* 1982;32:327-36.
12. Bjurstrom RL, Schoene RB. Control of ventilation in elite synchronized swimmers. *J Appl Physiol* 1987;63:1019-24.
13. Masuda Y, Yoshida A, Hayashi F, Sasaki K, Honda Y. The ventilatory responses to hypoxia and hypercapnia in the Ama. *Jpn J Physiol* 1981;31:187-97.
14. Diomedi M, Placidi F, Cupini LM, Bernardi G, Silvestrini M. Cerebral hemodynamic changes in sleep apnea syndrome and effect of continuous positive airway pressure treatment. *Neurology* 1998;51:1051-6.

15. Loeppky JA, Miranda FG, Eldridge MW. Abnormal cerebrovascular responses to CO<sub>2</sub> in sleep apnea patients. *Sleep* 1984;7:97-109.
16. Placidi F, Diomedi M, Cupini LM, Bernardi G, Silvestrini M. Impairment of daytime cerebrovascular reactivity in patients with obstructive sleep apnoea syndrome. *J Sleep Res* 1998;7:288-92.
17. Qureshi AI, Christopher WW, Bliwise DL. Sleep fragmentation and morning cerebrovasomotor reactivity to hypercapnia. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;160:1244-7.
18. Georgiadis D, Sievert M, Cencetti S, Uhlmann F, Krivokuca M, Zierz S, Werdan K. Cerebrovascular reactivity is impaired in patients with cardiac failure. *Eur Heart J* 2000;21:407-13.
19. Meadows GE, Dunroy HM, Morrell MJ, Corfield DR. Hypercapnic cerebral vascular reactivity is decreased, in humans, during sleep compared with wakefulness. *J Appl Physiol* 2003;94:2197-202.
20. Ameriso SF, Mohler JG, Suarez M, Fisher M. Morning reduction of cerebral vasomotor reactivity. *Neurology* 1994;44:1907-9.
21. Meadows GE, Kotajima F, Vazir A, Kostikas K, Simonds AK, Morrell MJ, Corfield DR. Overnight changes in the cerebral vascular response to isocapnic hypoxia and hypercapnia in healthy humans: protection against stroke. *Stroke* 2005;36:2367-72.
22. Spicuzza L, Bernardi L, Calciati A, Di Maria GU. Autonomic modulation of heart rate during obstructive versus central apneas in patients with sleep-disordered breathing. *Am J Respir Crit Care Med* 2003;167:902-10.
23. Somers VK, Mark AL, Zavala DC, Abboud FM. Contrasting effects of hypoxia and hypercapnia on ventilation and sympathetic activity in humans. *J Appl Physiol* 1989;67:2101-6.
24. Wolk R, Somers VK. Cardiovascular consequences of obstructive sleep apnea. *Clin Chest Med* 2003;24:195-205.
25. Grassi G, Facchini A, Trevano FQ, Dell'Oro R, Arenare F, Tana F i sur. Obstructive sleep apnea-dependent and -independent adrenergic activation in obesity. *Hypertension* 2005;46:321-5.
26. Narkiewicz K, Pesek CA, Kato M, Phillips BG, Davison DE, Somers VK. Baroreflex control of sympathetic nerve activity and heart rate in obstructive sleep apnea. *Hypertension* 1998;32:1039-43.
27. Narkiewicz K, van de Borne PJ, Pesek CA, Dyken ME, Montano N, Somers VK. Selective potentiation of peripheral chemoreflex sensitivity in obstructive sleep apnea. *Circulation* 1999;99:1183-9.

28. Peker Y, Hedner J, Kraiczi H, Loth S. Respiratory disturbance index: an independent predictor of mortality in coronary artery disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;162:81-6.
29. Peker Y, Hedner J, Norum J, Kraiczi H, Carlson J. Increased incidence of cardiovascular disease in middle-aged men with obstructive sleep apnea: a 7-year follow-up. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;166:159-65.
30. Kato M, Roberts-Thomson P, Phillips BG, Haynes WG, Winnicki M, Accurso V, Somers VK. Impairment of endothelium-dependent vasodilation of resistance vessels in patients with obstructive sleep apnea. *Circulation* 2000;102:2607-10.
31. Leuenberger U, Jacob E, Sweer L, Waravdekar N, Zwillich C, Sinoway L. Surges of muscle sympathetic nerve activity during obstructive apnea are linked to hypoxemia. *J Appl Physiol* 1995;79:581-8.
32. Somers VK, Dyken ME, Clary MP, Abboud FM. Sympathetic neural mechanisms in obstructive sleep apnea. *J Clin Invest* 1995;96:1897-904.
33. Cutler MJ, Swift NM, Keller DM, Wasmund WL, Smith ML. Hypoxia-mediated prolonged elevation of sympathetic nerve activity after periods of intermittent hypoxic apnea. *J Appl Physiol* 2004;96:754-61.
34. Leuenberger UA, Brubaker D, Quraishi S, Hogeman CS, Imadojemu VA, Gray KS. Effects of intermittent hypoxia on sympathetic activity and blood pressure in humans. *Auton Neurosci* 2005;121:87-93.
35. Monahan KD, Leuenberger UA, Ray CA. Effect of repetitive hypoxic apnoeas on baroreflex function in humans. *J Physiol* 2006;574:605-13.
36. Morgan BJ, Crabtree DC, Palta M, Skatrud JB. Combined hypoxia and hypercapnia evokes long-lasting sympathetic activation in humans. *J Appl Physiol* 1995;79:205-13.
37. Greenberg HE, Sica A, Batson D, Scharf SM. Chronic intermittent hypoxia increases sympathetic responsiveness to hypoxia and hypercapnia. *J Appl Physiol* 1999;86:298-305.
38. Cooper VL, Pearson SB, Bowker CM, Elliott MW, Hainsworth R. Interaction of chemoreceptor and baroreceptor reflexes by hypoxia and hypercapnia - a mechanism for promoting hypertension in obstructive sleep apnoea. *J Physiol* 2005;568:677-87.
39. Boullin DJ, Bunting S, Blaso WP, Hunt TM, Moncada S. Responses of human and baboon arteries to prostaglandin endoperoxides and biologically generated and synthetic prostacyclin: their relevance to cerebral arterial spasm in man. *Br J Clin Pharmacol* 1979;7:139-47.
40. Pickard J, Tamura A, Stewart M, McGeorge A, Fitch W. Prostacyclin, indomethacin and the cerebral circulation. *Brain Res* 1980;197:425-31.
41. Pickard JD, Mackenzie ET. Inhibition of prostaglandin synthesis and the response of baboon cerebral circulation to carbon dioxide. *Nat New Biol* 1973;245:187-8.



42. Jensen K, Freundlich M, Bunemann L, Therkelsen K, Hansen H, Cold GE. The effect of indomethacin upon cerebral blood flow in healthy volunteers. The influence of moderate hypoxia and hypercapnia. *Acta Neurochir (Wien)*. 1993;124:114-9.
43. Pickles H, Brown MM, Thomas M, Hewazy AH, Redmond S, Zilkha E, Marshall J. Effect of indomethacin on cerebral blood flow, carbon dioxide reactivity and the response to epoprostenol (prostacyclin) infusion in man. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1984;47:51-5.
44. Bruhn H, Fransson P, Frahm J. Modulation of cerebral blood oxygenation by indomethacin: MRI at rest and functional brain activation. *J Magn Reson Imaging* 2001;13:325-34.
45. Eriksson S, Hagenfeldt L, Law D, Patrono C, Pinca E, Wennmalm A. Effect of prostaglandin synthesis inhibitors on basal and CO<sub>2</sub>-stimulated cerebral blood flow in man. *Gen Pharmacol* 1983;14:179-80.
46. Markus HS, Vallance P, Brown MM. Differential effect of three cyclooxygenase inhibitors on human cerebral blood flow velocity and carbon dioxide reactivity. *Stroke* 1994;25:1760-4.
47. St LK, Ye FQ, Lewis BK, Weinberger DR, Frank JA, McLaughlin AC. Effects of indomethacin on cerebral blood flow at rest and during hypercapnia: an arterial spin tagging study in humans. *J Magn Reson Imaging* 2002;15:628-35.
48. Hohimer AR, Richardson BS, Bissonnette JM, Machida CM. The effect of indomethacin on breathing movements and cerebral blood flow and metabolism in the fetal sheep. *J Dev Physiol* 1985;7:217-28.
49. Kraaier V, Van Huffelen AC, Wieneke GH, Van der Worp HB, Bar PR. Quantitative EEG changes due to cerebral vasoconstriction. Indomethacin versus hyperventilation-induced reduction in cerebral blood flow in normal subjects. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1992;82:208-12.
50. Green RS, Leffler CW, Busija DW, Fletcher AM, Beasley DG. Indomethacin does not alter the circulating catecholamine response to asphyxia in the neonatal piglet. *Pediatr Res* 1987;21:534-7.
51. Staessen J, Cattaert A, Fagard R, Lijnen P, Moerman E, De SA, Amery A. Hemodynamic and humoral effects of prostaglandin inhibition in exercising humans. *J Appl Physiol* 1984;56:39-45.
52. Wennmalm A, Carlsson I, Edlund A, Eriksson S, Kaijser L, Nowak J. Central and peripheral haemodynamic effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs in man. *Arch Toxicol Suppl* 1984;7:350-9.
53. Rodman JR, Curran AK, Henderson KS, Dempsey JA, Smith CA. Carotid body denervation in dogs: eupnea and the ventilatory response to hyperoxic hypercapnia. *J Appl Physiol* 2001;91:328-35.

54. Pandit JJ, Mohan RM, Paterson ND, Poulin MJ. Cerebral blood flow sensitivity to CO<sub>2</sub> measured with steady-state and Read's rebreathing methods. *Respir Physiol Neurobiol* 2003;137:1-10.
55. Read DJ. A clinical method for assessing the ventilatory response to carbon dioxide. *Australas Ann Med* 1967;16:20-32.
56. Ivancev V, Palada I, Valic Z, Obad A, Bakovic D, Dietz NM i sur. Cerebrovascular reactivity to hypercapnia is unimpaired in breath-hold divers. *J Physiol* 2007;582:723-30.
57. Dujic Z, Ivancev V, Heusser K, Dzamonja G, Palada I, Valic Z i sur. Central chemoreflex sensitivity and sympathetic neural outflow in elite breath-hold divers. *J Appl Physiol* 2008;104:205-11.
58. Bakovic D, Eterovic D, Valic Z, Saratlija-Novakovic Z, Palada I, Obad A, Dujic Z. Increased pulmonary vascular resistance and reduced stroke volume in association with CO<sub>2</sub> retention and inferior vena cava dilatation. *J Appl Physiol* 2006;101:866-72.
59. Palada I, Obad A, Bakovic D, Valic Z, Ivancev V, Dujic Z. Cerebral and peripheral hemodynamics and oxygenation during maximal dry breath-holds. *Respir Physiol Neurobiol* 2007;157:374-81.
60. Jackson AS, Pollock ML. Generalized equations for predicting body density of men. *Br J Nutr* 1978;40:497-504.
61. Standardization of Spirometry, 1994 Update. American Thoracic Society. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;152:1107-36.
62. Klingelhofer J, Hajak G, Sander D, Schulz-Varaszegi M, Ruther E, Conrad B. Assessment of intracranial hemodynamics in sleep apnea syndrome. *Stroke* 1992;23:1427-33.
63. Dahl A, Russell D, Nyberg-Hansen R, Rootwelt K, Mowinckel P. Simultaneous assessment of vasoreactivity using transcranial Doppler ultrasound and cerebral blood flow in healthy subjects. *J Cereb Blood Flow Metab* 1994;14:974-81.
64. Poulin MJ, Robbins PA. Indexes of flow and cross-sectional area of the middle cerebral artery using doppler ultrasound during hypoxia and hypercapnia in humans. *Stroke* 1996;27:2244-50.
65. Serrador JM, Picot PA, Rutt BK, Shoemaker JK, Bondar RL. MRI measures of middle cerebral artery diameter in conscious humans during simulated orthostasis. *Stroke* 2000;31:1672-8.
66. Jellema WT, Imholz BP, Oosting H, Wesseling KH, van Lieshout JJ. Estimation of beat-to-beat changes in stroke volume from arterial pressure: a comparison of two pressure wave analysis techniques during head-up tilt testing in young, healthy men. *Clin Auton Res* 1999;9:185-92.

67. Heusser K, Tank J, Diedrich A, Engeli S, Klaua S, Kruger N i sur. Influence of sibutramine treatment on sympathetic vasomotor tone in obese subjects. *Clin Pharmacol Ther* 2006;79:500-8.
68. Vallbo AB, Hagbarth KE, Torebjork HE, Wallin BG. Somatosensory, proprioceptive, and sympathetic activity in human peripheral nerves. *Physiol Rev* 1979;59:919-57.
69. Tank J, Diedrich A, Schroeder C, Stoffels M, Franke G, Sharma AM i sur. Limited Effect of Systemic beta-Blockade on Sympathetic Outflow. *Hypertension* 2001;38:1377-81.
70. Neubauer JA. Physiological and pathophysiological responses to intermittent hypoxia. *J Appl Physiol* 2001;90:1593-9.
71. Foster GE, Poulin MJ, Hanly PJ. Intermittent hypoxia and vascular function: implications for obstructive sleep apnoea. *Exp Physiol* 2007;92:51-65.
72. Lavie L. Obstructive sleep apnoea syndrome--an oxidative stress disorder. *Sleep Med Rev* 2003;7:35-51.
73. Ip MS, Lam B, Chan LY, Zheng L, Tsang KW, Fung PC, Lam WK. Circulating nitric oxide is suppressed in obstructive sleep apnea and is reversed by nasal continuous positive airway pressure. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;162:2166-71.
74. Iadecola C, Zhang F. Nitric oxide-dependent and -independent components of cerebrovasodilation elicited by hypercapnia. *Am J Physiol* 1994;266:R546-52.
75. Niwa K, Haensel C, Ross ME, Iadecola C. Cyclooxygenase-1 participates in selected vasodilator responses of the cerebral circulation. *Circ Res* 2001;88:600-8.
76. Garcia-Rio F, Pino JM, Ramirez T, Alvaro D, Alonso A, Villasante C, Villamor J. Inspiratory neural drive response to hypoxia adequately estimates peripheral chemosensitivity in OSAHS patients. *Eur Respir J* 2002;20:724-32.
77. Lin YC, Shida KK, Hong SK. Effects of hypercapnia, hypoxia, and rebreathing on circulatory response to apnea. *J Appl Physiol* 1983;54:172-7.
78. Ferretti G, Costa M, Ferrigno M, Grassi B, Marconi C, Lundgren CE, Cerretelli P. Alveolar gas composition and exchange during deep breath-hold diving and dry breath holds in elite divers. *J Appl Physiol* 1991;70:794-802.
79. Ferrigno M, Ferretti G, Ellis A, Warkander D, Costa M, Cerretelli P, Lundgren CE. Cardiovascular changes during deep breath-hold dives in a pressure chamber. *J Appl Physiol* 1997;83:1282-90.
80. Valic Z, Palada I, Bakovic D, Valic M, Mardesic-Brakus S, Dujic Z. Muscle oxygen supply during cold face immersion in breath-hold divers and controls. *Aviat Space Environ Med* 2006;77:1224-9.

81. Bakovic D, Valic Z, Eterovic D, Vukovic I, Obad A, Marinovic-Terzic I, Dujic Z. Spleen volume and blood flow response to repeated breath-hold apneas. *J Appl Physiol* 2003;95:1460-6.
82. Hurford WE, Hong SK, Park YS, Ahn DW, Shiraki K, Mohri M, Zapol WM. Splenic contraction during breath-hold diving in the Korean ama. *J Appl Physiol* 1990;69:932-6.
83. Schagatay E, Haughey H, Reimers J. Speed of spleen volume changes evoked by serial apneas. *Eur J Appl Physiol* 2005;93:447-52.
84. Gelfand R, Lambertsen CJ. Dynamic respiratory response to abrupt change of inspired CO<sub>2</sub> at normal and high PO<sub>2</sub>. *J Appl Physiol* 1973;35:903-13.
85. Mohan RM, Amara CE, Cunningham DA, Duffin J. Measuring central-chemoreflex sensitivity in man: rebreathing and steady-state methods compared. *Respir Physiol* 1999;115:23-33.
86. Sin DD, Jones RL, Man GC. Hypercapnic ventilatory response in patients with and without obstructive sleep apnea: do age, gender, obesity, and daytime PaCO<sub>2</sub> matter? *Chest* 2000;117:454-9.
87. Verbraecken J, De BW, Willemen M, De CW, Wittesaele W, Van dH. Chronic CO<sub>2</sub> drive in patients with obstructive sleep apnea and effect of CPAP. *Respir Physiol* 1995;101:279-87.
88. Shoemaker JK, Vovk A, Cunningham DA. Peripheral chemoreceptor contributions to sympathetic and cardiovascular responses during hypercapnia. *Can J Physiol Pharmacol* 2002;80:1136-44.
89. Onrot J, Bernard GR, Biaggioni I, Hollister AS, Robertson D. Direct vasodilator effect of hyperventilation-induced hypocarbia in autonomic failure patients. *Am J Med Sci* 1991;301:305-9.
90. Jordan J, Shannon JR, Diedrich A, Black BK, Costa F, Robertson D, Biaggioni I. Interaction of carbon dioxide and sympathetic nervous system activity in the regulation of cerebral perfusion in humans. *Hypertension* 2000;36:383-8.
91. Haunstetter A, Schulze IB, Backs J, Kruger C, Haass M. Differential effects of acidosis, high potassium concentrations, and metabolic inhibition on noradrenaline release and its presynaptic muscarinic regulation. *Pharmacol Res* 2002;45:221-8.
92. Xie A, Skatrud JB, Crabtree DC, Puleo DS, Goodman BM, Morgan BJ. Neurocirculatory consequences of intermittent asphyxia in humans. *J Appl Physiol* 2000;89:1333-9.
93. Imadojemu VA, Gleeson K, Quraishi SA, Kunselman AR, Sinoway LI, Leuenberger UA. Impaired vasodilator responses in obstructive sleep apnea are improved with continuous positive airway pressure therapy. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;165:950-3.

94. Hansen J, Sander M. Sympathetic neural overactivity in healthy humans after prolonged exposure to hypobaric hypoxia. *J Physiol* 2003;546:921-9.
95. Wang Q, Paulson OB, Lassen NA. Indomethacin abolishes cerebral blood flow increase in response to acetazolamide-induced extracellular acidosis: a mechanism for its effect on hypercapnia? *J Cereb Blood Flow Metab* 1993;13:724-7.
96. Pellicer A, Aparicio M, Cabanas F, Valverde E, Quero J, Stiris TA. Effect of the cyclo-oxygenase blocker ibuprofen on cerebral blood volume and cerebral blood flow during normocarbica and hypercarbia in newborn piglets. *Acta Paediatr* 1999;88:82-8.
97. Wagerle LC, Degiulio PA. Indomethacin-sensitive CO<sub>2</sub> reactivity of cerebral arterioles is restored by vasodilator prostaglandin. *Am J Physiol* 1994;266:H1332-8.
98. Northover BJ. Indomethacin--a calcium antagonist. *Gen Pharmacol* 1977;8:293-6.
99. Konig W, Brom J, Schonfeld W, Knoller J, Stuning M. Effect of tenoxicam and indomethacin on the release of histamine, prostaglandin E2 and leukotrienes from various cells. *Arzneimittelforschung* 1987;37:296-9.
100. Pourcyrous M, Leffler CW, Bada HS, Korones SB, Busija DW. Cerebral blood flow responses to indomethacin in awake newborn pigs. *Pediatr Res* 1994;35:565-70.
101. Carlson LA, Ekelund LG, Oro L. Circulatory and respiratory effects of different doses of prostaglandin E1 in man. *Acta Physiol Scand* 1969;75:161-9.
102. Janssens JP, Pache JC, Nicod LP. Physiological changes in respiratory function associated with ageing. *Eur Respir J* 1999;13:197-205.
103. Peterson DD, Pack AI, Silage DA, Fishman AP. Effects of aging on ventilatory and occlusion pressure responses to hypoxia and hypercapnia. *Am Rev Respir Dis* 1981;124:387-91.
104. Sharma G, Goodwin J. Effect of aging on respiratory system physiology and immunology. *Clin Interv Aging* 2006;1:253-60.
105. Poulin MJ, Cunningham DA, Paterson DH. Dynamics of the ventilatory response to step changes in end-tidal PCO<sub>2</sub> in older humans. *Can J Appl Physiol* 1997;22:368-83.
106. Leffler CW, Busija DW, Beasley DG, Fletcher AM, Green RS. Effects of indomethacin on cardiac output distribution in normal and asphyxiated piglets. *Prostaglandins* 1986;31:183-90.
107. Stiris T, Suguihara C, Hehre D, Goldberg RN, Flynn J, Bancalari E. Effect of cyclooxygenase inhibition on retinal and choroidal blood flow during hypercarbia in newborn piglets. *Pediatr Res* 1992;31:127-30.
108. Linke A, Erbs S, Hambrecht R. Effects of exercise training upon endothelial function in patients with cardiovascular disease. *Front Biosci* 2008;13:424-32.

## 11. Životopis

Rođen sam 13. veljače 1972. godine u Bijeljini, Bosna i Hercegovina, gdje sam završio osnovnu školu i matematičku gimnaziju. Po svršetku srednje škole 1990. godine upisujem se na Medicinski fakultet Sveučilišta u Sarajevu. Tijekom 1992. godine nastavljam studij na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu, gdje sam u lipnju 1998. godine i diplomirao.

Po svršetku pripravničkog staža, u vrijeme služenja vojnog roka, radim kao liječnik u vojnoj ambulanti u Dubrovniku. Po povratku se upisujem na Poslijediplomski znanstveni studij iz područja Sportske medicine na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Splitu. U međuvremenu polažem i državni ispit.

Tijekom 2000. godine uključujem se u rad Laboratorija sportske fiziologije, pri Katedri iz Fiziologije na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Splitu, gdje bivam u kolovozu 2001. primljen u stalni radni odnos u svojstvu znanstvenog novaka. Od tada do danas sudjelujem u nastavi, organizaciji i provođenju znanstvenih istraživanja.

U listopadu 2002. godine odobrava mi se specijalističko usavršavanje iz medicine rada i sporta, te u ožujku 2006. godine polažem specijalistički ispit i dobivam zvanje specijaliste medicine rada i sporta.

U studenom 2002. godine boravio sam na *University of Bristol* u Velikoj Britaniji, gdje sam s kolegama iz *Department of Health and Exercise* radio na projektu organiziranja i kvantificiranja intenziteta fizičke aktivnosti starije dobne populacije u okviru multicentrične europske *Better ageing* studije.

Posljednjih osam godina u svojstvu liječnika radim u Košarkaškom klubu Split i košarkaškim reprezentativnim selekcijama, te sam član Udruge zdravstvenih djelatnika u košarci pri Košarkaškom savezu Hrvatske. Kao vanjski suradnik sudjelujem u radu HNK "Hajduk", Hrvatske veslačke reprezentacije, triatlon kluba "Marjan"...

U srpnju 2005. godine obranio sam magistarsku radnju s temom "Hipotenzija u nogometaša izazvana maksimalnim fizičkim opterećenjem u terenskim uvjetima".

U sportskoj medicini i sportskoj fiziologiji, kao njenom sastavnom i vrlo bitnom dijelu, vidim široko područje djelovanja i istraživanja, a osobito u velikoj populaciji sportaša rekreativaca, amatera, kao i rehabilitacijskim programima postinfarktних bolesnika, dijabetičara, pacijenata s hiperkolesterolemijom i sl.

Oženjen sam i otac dvoje djece.

Dosadašnji objavljeni radovi:

Palada I, Bakovic D, Valic Z, Obad A, Ivancev V, Eterovic D i sur. Restoration of hemodynamics in apnea struggle phase in association with involuntary breathing movements. *Respir Physiol Neurobiol* 2008;161:174-81

Dujic Z, Ivancev V, Heusser K, Dzamonja G, Palada I, Valic Z i sur. Central chemoreflex sensitivity and sympathetic neural outflow in elite breath hold divers. *J Appl Physiol* 2008;104:205-11.

Palada I, Eterovic D, Obad A, Bakovic D, Valic Z, Ivancev V i sur. Spleen and cardiovascular function during short apneas in divers. *J Appl Physiol* 2007;103:1958-63.

Obad A, Palada I, Ivancev V, Valic Z, Fabijanic D, Brubakk AO, Dujic Z. Sonographic detection of intrapulmonary shunting of venous gas bubbles during exercise after diving in a professional diver. *J Clin Ultrasound* 2007;35:473-6

Ivancev V, Palada I, Valic Z, Obad A, Bakovic D, Dietz NM i sur. Cerebrovascular reactivity to hypercapnia is unimpaired in breath-hold divers. *J Physiol* 2007;582:723-30

Palada I, Obad A, Bakovic D, Valic Z, Ivancev V, Dujic Z. Cerebral and peripheral hemodynamics and oxygenation during maximal dry breath-holds. *Respir Physiol Neurobiol* 2007;157:374-81.

Obad A, Palada I, Valic Z, Ivancev V, Baković D, Wisløff U i sur. The effects of acute oral antioxidants on diving-induced alterations in human cardiovascular function. *J Physiol* 2007;578:859-70.

Dujić Z, Obad A, Palada I, Ivancev V, Valic Z. Venous bubble count declines during strenuous exercise after an open sea dive to 30 m. *Aviat Space Environ Med* 2006;77:592-6.

Dujić Z, Ivancev V, Valic Z, Bakovic D, Marinović-Terzić I, Eterović D, Wisløff U. Postexercise hypotension in moderately trained athletes after maximal exercise. *Med Sci Sports Exerc* 2006;38:318-22.

Dujic Z, Duplancic D, Marinovic-Terzic I, Bakovic D, Ivancev V, Valic Z i sur. Aerobic exercise before diving reduces venous gas bubble formation in humans. *J Physiol* 2004;555:637-42.

Valic Z, Duplancić D, Baković D, Ivancev V, Eterović D, Wisløff U i sur. Diving-induced venous gas emboli do not increase pulmonary artery pressure. *Int J Sports Med* 2005;26:626-31.