

# Učinak inhalacijskih anestetika na renalnu simpatičku i freničku živčanu aktivnost za vrijeme akutne ponavljane hipoksije u štakora

---

Krnić, Josip

Doctoral thesis / Disertacija

2024

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:171:696877>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-25**



Repository / Repozitorij:

[MEFST Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U SPLITU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Josip Krnić**

**UČINAK INHALACIJSKIH ANESTETIKA NA RENALNU SIMPATIČKU I  
FRENIČKU ŽIVČANU AKTIVNOST ZA VRIJEME AKUTNE PONAVALJANE  
HIPOKSIJE U ŠTAKORA**

**DOKTORSKI RAD**

**Split, 2024.**

Doktorska disertacija izrađena je u okviru znanstvenog projekta "Translacijsko istraživanje neuroplastičnosti disanja i učinka intermitentne hipoksije u anesteziji i spavanju - TIHO2\_SLEEP\_BREATH", kojeg je vodio prof. dr. sc. Zoran Đogaš s Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu, a financirala ga je Hrvatska zaklada za znanost putem programa financiranja istraživačkih projekata, pod referentnim brojem IP-11-2013-5935. Istraživanje se odvijalo u Laboratoriju za temeljnu neuroznanost Zavoda za neuroznanost Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu.

**VODITELJ RADA:**

**Prof. dr. sc. Zoran Đogaš, dr. med.**

Zavod za neuroznanost, Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu

## ZAHVALA

*Iskreno zahvaljujem mentoru prof. dr. sc. Zoranu Đogašu na svekolikoj pomoći za vrijeme istraživačkog procesa te na velikodušnom prijenosu znanja prilikom ulaska u svijet novih znanstvenih spoznaja.*

*Zahvaljujem svim djelatnicima Zavoda za neuroznanost Medicinskog fakulteta u Splitu gdje sam se od našeg prvog zajedničkog susreta uvijek osjećao dobrodošlo. Posebno zahvaljujem dr. sc. Katarini Madirazzi na prelijepoj suradnji i nesebičnoj pomoći tijekom cijelog trajanja istraživanja. Hvala doc. dr. sc. Benjaminu Benzoni što se uvijek rado odazivao na pozive i uskočio kada je pomoć bila potrebna. Zahvala ne bi bila potpuna, bez jednog velikog hvala Jeleni Baričević, koja je bila dobar duh, poveznica i oslonac u trenucima istraživanja kada se činilo kako nam predstoji daleki i neizvjesni put do uspješnog završetka.*

*Zahvaljujem djelatnicima Objedinjenog hitnog bolničkog prijama i Klinike za anesteziologiju, reanimatologiju i intenzivno liječenje KBC-a Split koji su znali pronaći lijepu riječ u trenucima kada je ista bila neophodna.*

*Briga, sreća i zanos mojih dragih prijatelja, kao i rotarijanaca, nije izostala ni ovog puta i sretan sam što ste uvijek bili moj vjerni životni oslonac. Hvala i svima Vama koji niste spomenuti izravno imenom i prezimenom, ali vjerujem kako ćete se prepoznati u napisanom odlomku jer je Vaša pružena potpora uvijek bila dragocjena.*

*Neizmjerne hvala mojoj obitelji za izuzetnu pomoć, razumijevanje, sigurnost, odricanje i podršku koja mi je nesebično i s velikom ljubavi pružena tijekom cjelokupnog procesa obrazovanja.*

*Naposljetku, za vječno sjećanje i u znak zahvalnosti na neizbrisivo lijepu uspomenu doktorsku disertaciju posvećujem pok. baki Mandici i pok. djedu Josipu, a sve na radost sinu Roku poradi kojeg životna ostvarenja dobivaju dodatnu dimenziju i obogaćuju životni smisao!*

## SADRŽAJ

|                                                                                         |           |
|-----------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>POPIS OZNAKA I KRATICA.....</b>                                                      | <b>i</b>  |
| <b>1. UVOD.....</b>                                                                     | <b>1</b>  |
| 1.1. Simpatički živčani sustav.....                                                     | 2         |
| 1.1.1. Anatomija i organizacija simpatičkoga živčanog sustava .....                     | 2         |
| 1.1.2. Središnja regulacija simpatičkoga živčanog sustava .....                         | 4         |
| 1.1.3. Refleksna regulacija simpatičke živčane aktivnosti .....                         | 7         |
| 1.1.3.1. Barorefleks i regulacija simpatičke živčane aktivnosti.....                    | 8         |
| 1.1.3.2. Kemorefleks i regulacija simpatičke živčane aktivnosti.....                    | 9         |
| 1.1.3.2.1. Periferni kemoreceptori .....                                                | 9         |
| 1.1.3.2.2. Središnji kemoreceptori .....                                                | 10        |
| 1.1.3.2.3. Međuodnos perifernog i središnjeg kemorefleksa .....                         | 10        |
| 1.1.4. Simpatička regulacija bubrega.....                                               | 11        |
| 1.1.4.1. Uloga i aktivnost renalnoga simpatičkog živca .....                            | 11        |
| 1.2. Respiracijski sustav.....                                                          | 13        |
| 1.2.1 Središnja regulacija respiracijskog sustava.....                                  | 13        |
| 1.2.2. Respiracijska regulacija simpatičkoga živčanog sustava.....                      | 15        |
| 1.2.3. Uloga i aktivnost freničkog živca .....                                          | 15        |
| 1.2.4. Hipoksija i ventilacijski odgovor na hipoksiju .....                             | 16        |
| 1.2.4.1. Izlaganje kratkotrajnoj hipoksiji .....                                        | 16        |
| 1.2.4.2. Izlaganje višekratnim hipoksijskim epizodama i respiracijska plastičnost ..... | 17        |
| 1.2.5. Važnost životinjskih modela u proučavanju hipoksijskih mehanizama .....          | 18        |
| 1.3. Opća anestezija .....                                                              | 19        |
| 1.3.1. Inhalacijski anestetici.....                                                     | 21        |
| 1.3.1.1. Mehanizmi djelovanja inhalacijskih anestetika .....                            | 22        |
| 1.3.1.2. Karakteristike i klinička primjena sevoflurana i izoflurana.....               | 23        |
| 1.3.2. Utjecaj inhalacijskih anestetika na ventilacijski odgovor na hipoksiju .....     | 24        |
| 1.3.3. Utjecaj inhalacijskih anestetika na simpatički živčani sustav.....               | 24        |
| <b>2. CILJEVI I HIPOTEZE.....</b>                                                       | <b>26</b> |
| <b>3. MATERIJALI I METODE.....</b>                                                      | <b>28</b> |
| 3.1. Etička načela .....                                                                | 29        |

|                                                                                                                                                                   |           |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 3.2. Pokusne životinje .....                                                                                                                                      | 29        |
| 3.3. Anesteziološki i kirurški postupci.....                                                                                                                      | 29        |
| 3.4. Dijagram tijeka protokola pokusa .....                                                                                                                       | 31        |
| 3.5. Statistička analiza.....                                                                                                                                     | 33        |
| <b>4. REZULTATI.....</b>                                                                                                                                          | <b>34</b> |
| 4.1. Odgovor renalnoga simpatičkog i freničkog živca na protokol akutne ponavljane hipoksije.....                                                                 | 35        |
| 4.2. Usporedba promjena u odgovoru renalnoga simpatičkog i freničkog živca tijekom prve hipoksijske epizode.....                                                  | 36        |
| 4.3. Usporedba promjena u odgovoru renalnoga simpatičkog i freničkog živca u naknadnim hipoksijskim epizodama i oporavku.....                                     | 37        |
| 4.4. Promjene srednjega arterijskog tlaka i acidobaznog statusa.....                                                                                              | 39        |
| 4.5. Promjene srčane frekvencije prije, tijekom i nakon eksperimentalnog protokola..                                                                              | 40        |
| 4.6. Promjene respiracijskih parametara prije, tijekom i nakon eksperimentalnog protokola .....                                                                   | 41        |
| 4.7. Promjene u učincima hipoksijskih i hiperkapnijskih podražaja na simpatički sustav uz hiperoksijsku pozadinu tijekom izlaganja inhalacijskoj anesteziji ..... | 43        |
| <b>5. RASPRAVA.....</b>                                                                                                                                           | <b>44</b> |
| 5.1. Učinak akutne ponavljane hipoksije na aktivnost renalnoga simpatičkog i freničkog živca tijekom primjene inhalacijske anestezije.....                        | 45        |
| 5.2. Učinak akutne ponavljane hipoksije na održavanje vrijednosti srednjeg arterijskog tlaka i acidobazne ravnoteže tijekom primjene inhalacijske anestezije..... | 49        |
| 5.3. Učinak akutne ponavljane hipoksije na vrijednosti srčane frekvencije tijekom primjene inhalacijske anestezije.....                                           | 50        |
| 5.4. Učinak akutne ponavljanje hipoksije na respiracijske parametre tijekom primjene inhalacijske anestezije.....                                                 | 51        |
| 5.5. Ograničenja istraživanja.....                                                                                                                                | 52        |
| 5.6. Znanstveni doprinos disertacije .....                                                                                                                        | 54        |
| <b>6. ZAKLJUČCI.....</b>                                                                                                                                          | <b>55</b> |
| <b>7. SAŽETAK .....</b>                                                                                                                                           | <b>57</b> |
| <b>8. SAŽETAK NA ENGLISKOM JEZIKU (SUMMARY).....</b>                                                                                                              | <b>60</b> |
| <b>9. POPIS LITERATURE .....</b>                                                                                                                                  | <b>63</b> |
| <b>10. ŽIVOTOPIS .....</b>                                                                                                                                        | <b>85</b> |

## POPIS OZNAKA I KRATICA

- VII<sub>n</sub> – jezgra sedmoga moždanog živca (lat. *nucleus nervi facialis*)
- A1/CPA – A1 noradrenergična jezgra/kaudalno područje za regulaciju arterijskog tlaka (engl. *A1 noradrenergic cell group/caudal pressor area*)
- A5 – A5 skupina noradrenergičkih neurona (engl. *A5 noradrenergic neurons*)
- ABP – arterijski krvni tlak
- ABS – acidobazni status
- ACh – acetilkolin
- AIH – akutna ponavljanja hipoksija (engl. *acute intermittent hypoxia*)
- AR – akutni odgovor (engl. *acute response*)
- AŽS – autonomni živčani sustav
- BötC – Bötzingеров комплекс (engl. *Bötzingер complex*)
- CO<sub>2</sub> – ugljični dioksid
- CIH – kronična ponavljanja hipoksija (engl. *chronic intermittent hypoxia*)
- CR – kemoreceptori bubrega (engl. *renal chemoreceptors*)
- CSNA – aktivnost srčanog simpatičkog živca (engl. *cardiac sympathetic nerve activity*)
- CVLM – kaudalna ventrolateralna produljena moždina (engl. *caudal ventrolateral medulla*)
- cVRG – kaudalna ventralna respiracijska skupina (engl. *caudal ventral respiratory groups*)
- DRG – dorzalna respiracijska skupina (engl. *dorsal respiratory group*)
- ED<sub>50</sub> – medijan efektivne doze
- EEG – elektroencefalografija (engl. *electroencephalogram*)
- fMRI – funkcionalna magnetska rezonancija (engl. *functional magnetic resonance imaging*)
- Fr – frekvencija disanja
- Frekv – frekvencija respiratora
- GABA – gama-aminomaslačna kiselina (engl. *gamma-aminobutyric acid*)
- GABA<sub>A</sub> – vrsta receptora za gama-aminomaslačnu kiselinu
- HVR – ventilacijski odgovor na hipoksiju (engl. *hypoxic ventilatory response*)
- IH – ponavljanja hipoksija (engl. *intermittent hypoxia*)
- IML – intermediolateralni stupić (engl. *intermediolateral cell column*)
- IX – deveti moždani živac (lat. *nervus glossopharyngeus*)
- KF – Kölliker-Fuse jezgra (engl. *Kölliker-Fuse nucleus*)
- L1-L2 – lumbalni segment kralježnične moždine

LC – locus coeruleus

LPBN – lateralna parabrahijalna jezgra (engl. *lateral parabrachial nucleus*)

LRt – lateralna retikularna jezgra (engl. *lateral reticular nucleus*)

LSNA – aktivnost lumbalnog simpatičkog živca (engl. *lumbar sympathetic nerve activity*)

LTF – dugoročna facilitacija (engl. *long-term facilitation*)

MAC – minimalna alveolarna koncentracija (engl. *minimum alveolar concentration*)

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

mmHg – milimetri žive

Mo5 – motorna jezgra trigeminalnog živca (engl. *motor nucleus of trigeminal nerve*)

MR – mehanoreceptori bubrega (engl. *renal mechanoreceptors*)

N<sub>2</sub>O – dušikov oksidul

NA – dvostrana jezgra (lat. *nucleus ambiguus*)

nAChRs – nikotinski acetilkolinski receptori

NMDA – N-metil-D-aspartat

NTS – jezgra solitarnog trakta (engl. *nucleus tractus solitarius*)

O<sub>2</sub> – kisik

OSA – opstruktivska apneja tijekom spavanja (engl. *obstructive sleep apnea*)

PACAP – hipofizni adenilat ciklazno aktivirajući peptid (engl. *pituitary adenylate cyclase - activating polypeptide*)

p<sub>a</sub>CO<sub>2</sub> – parcijalni tlak ugljikova dioksida u arterijskoj krvi

p<sub>a</sub>O<sub>2</sub> – parcijalni tlak kisika u arterijskoj krvi

pH – vodikovi ioni

PiCo – postinspiracijski kompleks (engl. *postinspiratory complex*)

pLTF – dugoročna facilitacija freničkog živca (engl. *phrenic long-term facilitation*)

PNA – aktivnost freničkog živca (engl. *phrenic nerve activity*)

preBötC – pre-Bötzingerov kompleks (engl. *pre-Bötzinger complex*)

PRG – pontina respiracijska skupina (engl. *pontine respiratory group*)

PVN – paraventrikularna jezgra hipotalamusa (engl. *hypothalamic paraventricular nucleus*)

PŽS – periferni živčani sustav

RAS – sustav renin-angiotenzin (engl. *renin-angiotensin system*)

RN – kaudalne rafe jezgre (engl. *caudal raphe nuclei*)

RSA – respiracijska sinus aritmija (engl. *respiratory sinus arrhythmia*)

RSNA – aktivnost renalnoga simpatičkog živca (engl. *renal sympathetic nerve activity*)



RTN – retrotrapezoidna jezgra (engl. *retrotrapezoid nucleus*)

RTN/pFRG – retrotrapezoidna jezgra/parafacijalna respiracijska skupina (engl. *retrotrapezoid nucleus/parafacial respiratory group*)

RVLM – rostralna ventrolateralna produljena moždina (engl. *rostral ventrolateral medulla*)

RVMM – rostralna ventromedijalna produljena moždina (engl. *rostral ventromedial medulla*)

rVRG – rostralna ventralna respiracijska skupina (engl. *rostral ventral respiratory groups*)

SCG – gornji cervikalni ganglij (engl. *superior cervical ganglia*)

SFO – subfornikalni organ (engl. *subfornical organ*)

sLTF – dugoročna facilitacija simpatikusa (engl. *sympathetic long-term facilitation*)

SPNs – simpatički preganglijski neuroni (engl. *sympathetic preganglionic neurons*)

SSNA – aktivnost splanhničkoga simpatičkog živca (engl. *splanhnic sympathetic nerve activity*)

STD – kratkotrajno oslabljenje (engl. *short term depression*)

STP – kratkotrajno pojačanje (engl. *long term potentiation*)

SŽS – središnji živčani sustav

T0 – početni uvjeti prije izlaganja protokolu akutne ponavljane hipoksije; vremenska točka pokusa

T1-L2 – torako-lumbalni segment kralježnične moždine

T1-T12 – torakalni segment kralježnične moždine

T15 – 15 min nakon završetka zadnje hipoksijske epizode; vremenska točka pokusa

T30 – 30 min nakon završetka zadnje hipoksijske epizode; vremenska točka pokusa

T60 – 60 min nakon završetka zadnje hipoksijske epizode; vremenska točka pokusa

T<sub>e</sub> – trajanje izdisaja u sekundama

TH1-5 – hipoksijske epizode 1-5; vremenske točke pokusa

T<sub>i</sub> – trajanje udisaja u sekundama

T<sub>tot</sub> – ukupno trajanje pojedinog respiracijskog ciklusa u sekundama

VII – sedmi moždani živac (lat. *nervus facialis*)

VRG – ventralna respiracijska skupina (engl. *ventral respiratory group*)

X – deseti moždani živac (lat. *nervus vagus*)

α – alfa adrenergični receptori

β – beta adrenergični receptori

## **1. UVOD**

## 1.1. Simpatički živčani sustav

Simpatički živčani sustav (SŽS) predstavlja vitalnu komponentu autonomnoga živčanog sustava (AŽS) i ima središnju ulogu u koordinaciji homeostatskih mehanizama u organizmu, uključujući kardiovaskularne, respiracijske i metaboličke funkcije. Njegova aktivacija omogućuje organizmu da se učinkovito prilagodi na stresne reakcije iz okoliša, pokrećući odgovor poznat kao "bori se ili bježi" (engl. *fight-or-flight response*). Opisani odgovor, koji uključuje povećanje srčane frekvencije i arterijskoga krvnog tlaka, dilataciju bronha, oslobađanje glukoze iz jetre i preraspodjelu krvotoka prema skeletnim mišićima, važan je za preživljavanje u akutnim stresnim događajima (1-5). Razumijevanje složene anatomije, funkcionalne organizacije i neurokemijskih mehanizama simpatičkog sustava ima važnu ulogu u napretku i razvoju novih terapijskih strategija za bolesti u čijoj patofiziologiji je disfunkcija ovog sustava, poput arterijske hipertenzije, metaboličkog sindroma, šećerne bolesti, različitih tipova srčanih aritmija, kao i opstruktivske apneje tijekom spavanja (engl. *obstructive sleep apnea*, OSA) (6).

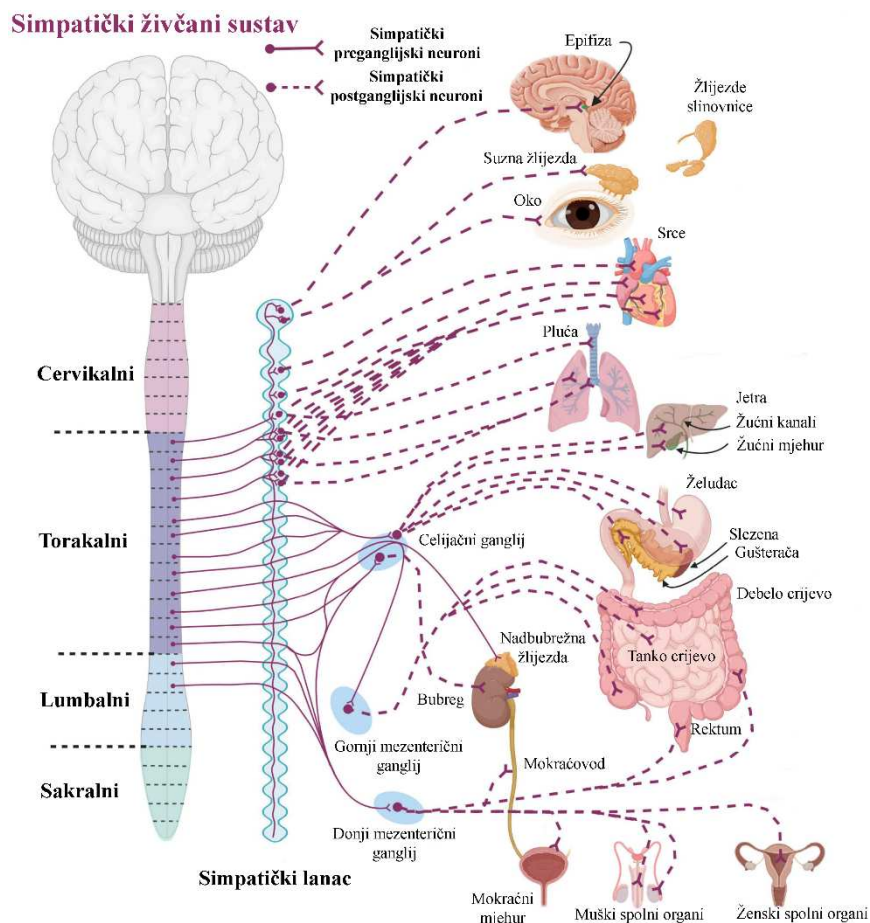
### 1.1.1. Anatomija i organizacija simpatičkoga živčanog sustava

Simpatički živčani sustav sastoji se od složene mreže neurona koji su egzaktno raspoređeni u središnjem živčanom sustavu (SŽS) i perifernom živčanom sustavu (PŽS) (7,8). Točnije, simpatički sustav sačinjen je od preganglijskih i postganglijskih neurona. Simpatički preganglijski neuroni (engl. *sympathetic preganglionic neurons*, SPNs) intermediolateralnog stupića (engl. *intermediolateral cell column*, IML) simpatikusa smješteni su u lateralnim rogovima sive tvari torakalnog (T1-T12) i lumbalnog (L1-L2) segmenta kralježnične moždine - tzv. torako-lumbalnog segmenta (T1-L2) (Slika 1). SPNs šalju svoje aksonske produžetke kroz prednje robove i putem *rami communicantes* projiciraju se prema paravertebralnim i prevertebralnim ganglijima, gdje nastavljaju prijenos signala do sinapsi s postganglijskim neuronima. Glavna značajka preganglijskih neurona je upotreba acetilkolina (ACh) kao neurotransmitera, koji posljedično aktivira nikotinske acetilkolininske receptore (engl. *nicotinic-acetylcholine receptors*, nAChRs) na postganglijskim neuronima (7,8). Simpatički signali zatim se prenose putem postganglijskih neurona, koji projiciraju svoje aksonske završetke do ciljnih organa. Pritom procesu oslobađa se neurotransmiter noradrenalin koji djeluje na adrenergičke receptore, izazivajući odgovarajuće fiziološke promjene poput vazokonstrikcije, povećanja srčane frekvencije i bronhodilatacije (9,10). Adrenergički receptori su važne strukture koje imaju

specijalizirano djelovanje ovisno kojoj od dvije skupine pripadaju. Dije se na alfa ( $\alpha$ ) i beta ( $\beta$ ) receptore. Alfa-receptori ( $\alpha_1$  i  $\alpha_2$ ) pretežno su zaslužni za fiziološke promjene u vidu vazokonstrikcije i povećanja arterijskog tlaka, dok za razliku od njih beta-receptori ( $\beta_1$ ,  $\beta_2$  i  $\beta_3$ ) obavljaju različite uloge, uključujući povećanje srčane frekvencije ( $\beta_1$ ), bronhodilataciju ( $\beta_2$ ) i lipolizu ( $\beta_3$ ) (11).

Anatomsku organizaciju simpatičkoga živčanog sustava sačinjavaju tri glavna dijela: paravertebralni simpatički lanac, prevertebralni gangliji i srž nadbubrežne žlijezde. Paravertebralni lanac je organiziran poput brojnih ganglija koji se nalaze uz središnju crtu kralježnice, omogućujući široki raspon simpatičke inervacije ciljnih tkiva i organa. Prevertebralni gangliji, poput celijačnog, gornjeg i donjeg mezenteričnog, služe kao glavni čvorovi za razdiobu simpatičkih signala prema abdominalnim organima (12). Konačno, srž nadbubrežne žlijezde, koja se zapravo smatra preinačenim simpatičkim ganglijem u organizmu, oslobađa kateholamine, adrenalin i noradrenalin izravno u krvotok čime doprinosi jačini odgovora simpatičkog sustava, osobito pri iznenadnim stresnim događajima (13).

Uz jasno definiranu i dobro opisanu ulogu simpatikusa u stresnim reakcijama u kojima precizno kontrolirana mreža omogućuje zamršenu simpatičku inervaciju unutarnjih organa i tkiva, bitno je za istaknuti i podjednako važnu ulogu u pozadinskoj toničkoj aktivnosti održavanja tonusa arteriola za vrijeme mirovanja organizma (3).



**Slika 1.** Shematski prikaz građe simpatičkoga živčanog sustava s prikazom inervacije perifernih ciljnih organa. Simpatički preganglijski neuroni intermediolateralnog stupića raspoređeni su u lateralnim rogovima sive tvari torakolumbalnog segmenta kralježnične moždine. Aksonskim projekcijama simpatički živčani signali projiciraju se prema paravertebralnim i prevertebralnim ganglijima (celijačni ganglij, gornji i donji mezenterični ganglij), a potom impulsi pristižu do sinapsi s postganglijskim neuronima koji inerviraju različite ciljne organe na periferiji [preuzeto i izmijenjeno iz Wulf i sur. (8) u dijelu prevedenih naziva s engleskog na hrvatski jezik i uklanjanjem prikaza desne polovice slike s ilustracijom parasimpatičkog živčanog sustava prema uvjetima određenim licencom Creative Commons Attribution Licence (CC BY-NC 4.0)].

### 1.1.2. Središnja regulacija simpatičkoga živčanog sustava

Središnja regulacija simpatičkoga živčanog sustava složen je proces koji uključuje međusobnu koordinaciju brojnih važnih centara u SŽS-u. Glavne središnje strukture koje upravljaju simpatičkom aktivnošću uključuju neuronske skupine moždanog debla i hipotalamusa te se smatraju simpatičkim premotoričkim neuronima koji izravno inerviraju i kontroliraju aktivnost simpatičkih preganglijskih neurona IML-a (14-16). Metodama retrogradnog bojanja potvrđena je uloga neurona u rostralnoj ventrolateralnoj produljenoj

moždini (engl. *rostral ventrolateral medulla*, RVLM), rostralnoj ventromedijalnoj produljenoj moždini (engl. *rostral ventromedial medulla*, RVMM), kaudalnim rafe jezgrama, A5 skupini noradrenergičkih neurona (engl. *A5 noradrenergic neurons*, A5) i paraventrikularnoj jezgri hipotalamusa (engl. *hypothalamic paraventricular nucleus*, PVN) (16,17).

Od svih navedenih područja, istraživanja pokazuju kako je RVLM središnji regulator tonusa simpatičke aktivnosti te ključna jezgra za kontrolu arterijskog tlaka i regulaciju srčanog ritma. Štoviše, neuroni RVLM-a imaju sposobnost izravne projekcije neuronskih signala na simpatičke ganglije što rezultira brzim i funkcionalnim simpatičkim odgovorom (18,19). Prema tome, RVLM je neizostavni centralni neuronski put simpatičkog odgovora na stresne okolišne podražaje (20). Također, u RVLM-u se integriraju recipročni ulazni i silazni živčani putevi i dijelom je važne signalizacije pri održavanju spomenutog vazomotoričkog tonusa posredovanog aktivnošću simpatikusa (14,21,22).

Poput RVLM-a, i RVMM ima zapaženu ulogu u integraciji prijenosa simpatičkih informacija, no svoje učinke ostvaruje integrirajući dva velika sustava kroz međudjelovanje simpatičkih i respiracijskih signala (23). RVMM pomaže u regulaciji kardiovaskularnih funkcija poput krvnog tlaka i frekvenciji otkucaja srca preko izravnih simpatičkih projekcija koje šalje na RVLM (24). Također, sve više dolazi do izražaja važnost RVMM-a u održavanju homeostaze između simpatičkog i parasimpatičkoga živčanog sustava što se smatra dodatnom neuronskom mrežom koja doprinosi brzom prilagodbi organizma na okolišne podražaje (25).

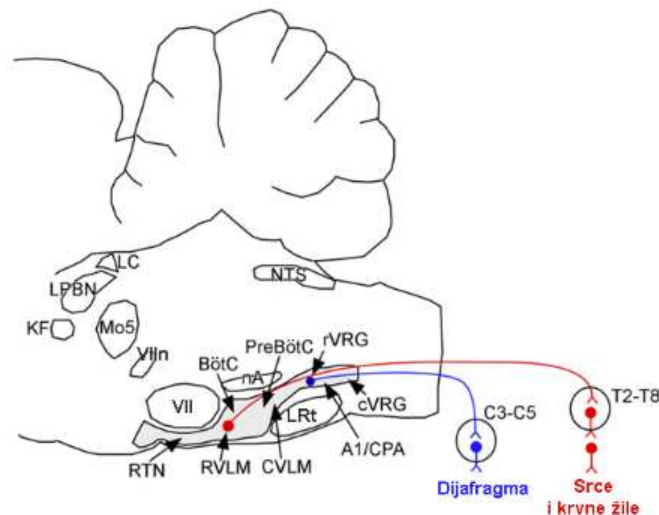
Kaudalne rafe jezgre imaju složene učinke na simpatičke neurone koji se prije svega očituju modulacijom kardiovaskularnih refleksnih puteva (26-28). Te jezgre smatraju se važnim dijelom serotonergičkog sustava i mogu promijeniti simpatičku živčanu aktivnost putem serotoninskog učinka (26). Neurotransmitter serotonin na simpatički sustav može djelovati ekscitacijski, ali također i inhibicijski, ovisno o tipu serotonergičkih receptora prisutnih u pojedinim dijelovima SŽS-a (29). Dodatno, kaudalne rafe jezgre zaslužne su za preciznu funkciju prilagodbe simpatičkog sustava tijekom brojnih fizioloških i patofizioloških stanja (27).

Aktivnost noradrenergičnih neurona A5 skupine važna je za dugotrajnu prilagodbu simpatičkog sustava na kronične stresne uvjete (30). Neuroni A5 skupine smješteni su u

mostu (lat. *pons*) i pridonose regulaciji simpatičke aktivnosti kroz projekcije na RVLM jezgre, ali i putem međudjelovanja sa drugim relevantnim centrima SŽS-a (31). Jednako kao i kaudalne rafe jezgre, mogu mijenjati simpatički odgovor i posljedično povećavati ili smanjivati njegovu aktivnost ovisno o fiziološkim potrebama organizma da zadrži homeostatske uvjete, ali pri tom procesu ne proizvode serotonin kao neurotransmiter, već noradrenalin (32).

PVN integrira različite neuronske signale s periferije organizma, ali i iz drugih dijelova SŽS-a, čime izravno i neizravno utječe na višestruke simpatičke funkcije (33). Poput gore navedenih moždanih struktura, sudjeluje u regulaciji arterijskoga krvnog tlaka, kao i pri održavanju ravnoteže tjelesnih tekućina putem svojih neuronskih projekcija na središnju RVLM, kao i druge opisane jezgre (34). Također, navedeni neuronski putevi mogu prilagoditi simpatičke odgovore koji su u skladu s promjenama u hormonskim i neuronskim signalima čineći simpatičku mrežu precizno reguliranim sustavom pri mogućim stresnim podražajima (35).

Zaključno, svi neuronski centri SŽS-a zajednički sudjeluju i svojim međudjelovanjima pripomažu složenoj regulaciji simpatikusa pri održavanju homeostaze metabolizma i arterijskog tlaka, kao i u brojnim međudjelovanjima s respiracijskim sustavom čije središnje jezgre također izravno ili neizravno ovise o usklađenosti sa simpatičkim sustavom (Slika 2). Dodatno, subfornikalni organ (engl. *subfornical organ*, SFO) i sustav renin-angiotenzin (engl. *renin-angiotensin system*, RAS) ponašaju se poput specifičnih medijatora koji imaju slično djelovanje poput hormona i citokina (14,16). SFO je specijaliziran za detekciju promjena u krvnoj plazmi i volumenu tekućine (36,37) međudjelovanjem sa specifičnim neuronskim skupinama u PVN-u i RVLM-u (38). Na sličan način poput SFO, i RAS mijenja simpatičku aktivnost putem vjerojatnog djelovanja izravno na aktivnost RVLM-a (39). Opisani neuronski putevi također pridonose tezi kako aktivacija RAS-a ima opaženu ulogu u dugotrajnoj prilagodbi simpatičkog sustava na promjene u krvnom tlaku, kao i ravnoteži tjelesnih tekućina (40,41).



**Slika 2.** Shematski prikaz glavnih jezgri i neuronskih puteva u moždanom deblu koji su uključeni u regulaciju simpatičkih i respiracijskih fizioloških procesa. Strukture su označene s pomoću kratica i strelica koje označavaju puteve prijenosa neuronskih signala. Plave strelice prikazuju neuronske puteve koji su zaslužni za inervaciju ošita (dijafragme) putem freničkog živca, koji primaju signale iz segmenata leđne moždine C3-C5, osiguravajući pritom koordinaciju inspiracijskih mišića i kontrolu disanja. Crvene strelice predstavljaju neuralne veze kojima se neuronski signali prenose do torakalnih segmenata leđne moždine T2-T8, gdje dolazi do inervacije srčanog mišića i krvnih žila, a pritom imajući učinak na regulaciju frekvencije srca i tonus krvnih žila. Crne strelice prikazuju koordinirano međudjelovanje između moždanih struktura koje sudjeluju u regulaciji simpatičke aktivnosti, disanja i arterijskog tlaka, naglašavajući važnost složenog međudjelovanja različitih jezgri i neuronskih skupina u regulaciji vitalnih autonomnih funkcija, a koje uključuju locus coeruleus (LC), lateralnu parabrahijalnu jezgru (LPBN), Kölliker-Fuse jezgru (KF), motornu jezgru trigeminalnog živca (Mo5), jezgru facijalnog živca (VIIIn); sedmi moždani živac (VII), jezgru solitarnog trakta (NTS), dvostranu jezgru (NA), Bötzingеров kompleks (BötC), pre-Bötzingеров kompleks (preBötC), retrotrapezoidnu jezgru (RTN), rostralnu ventrolateralnu produljenu moždinu (RVLM), kaudalnu ventrolateralnu produljenu moždinu (CVLM), lateralnu retikularnu jezgru (LRt), kaudalnu ventralnu respiracijsku skupinu (cVRG) i A1 noradrenergičnu jezgru/kaudalno područje za regulaciju arterijskog tlaka (A1/CPA) [preuzeto i izmijenjeno iz Moreira i sur. (15) u dijelu prevedenih naziva s engleskog na hrvatski jezik prema uvjetima određenim licencom Creative Commons Attribution Licence (CC BY-NC 3.0)].

### 1.1.3. Refleksna regulacija simpatičke živčane aktivnosti

Refleksna regulacija simpatičkoga živčanog sustava jedan je od temeljnih mehanizama za održavanje homeostaze arterijskog tlaka (21,42,43). Simpatička aktivnost regulirana je preko refleksnih petlji koje uključuju barorefleks, kemorefleks i kardiopulmonalni refleks



čiji se signalni putevi integriraju na različitim razinama simpatičkog sustava. Navedena složena regulacija uključuje specifične živčane neuronske putove prijenosa impulsa koji se protežu od perifernih receptora do središnjih jezgri u moždanom deblu, hipotalamusu i višim kortikalnim centrima (44).

### **1.1.3.1. Barorefleks i regulacija simpatičke živčane aktivnosti**

Barorefleks predstavlja osnovni mehanizam za kratkoročnu kontrolu krvnog tlaka, a u njegovoj osnovi učinci se očituju kroz djelovanje refleksne petlje. Refleksna petlja sastoji se od baroreceptora, središnjih integrativnih jezgri te uzlaznih i silaznih simpatičkih vlakana. Baroreceptori smješteni u karotidnom sinusu i luku aorte vrlo su osjetljive strukture koje detektiraju promjene u vrijednostima arterijskog tlaka preko izravnih promjena u rastezljivosti krvnih žila (46). Povećane vrijednosti arterijskog tlaka uzrokuju aktivaciju baroreceptora, a signali putuju uzlaznim vlaknima preko devetoga glosofaringealnog (lat. *nervus glossopharyngeus*, IX) i desetoga vagusnog moždanog živca (lat. *nervus vagus*, X) do jezgre solitarnog trakta (engl. *nucleus tractus solitarius*, NTS) u produljenoj moždini (45). U NTS-u odvija se nastavak prijenosa signala na interneurone koji inhibiraju simpatičku aktivnost kroz dva ključna puta: aktivacijom kaudalne ventrolateralne produljene moždine (engl. *caudal ventrolateral medulla*, CVLM) i putem inhibicije simpatičkih preganglijskih neurona (46). Također, uzlazni signali NTS-a projiciraju živčane impulse na dvije jezgre: dvostranu jezgru (lat. *nucleus ambiguus*) i stražnju motoričku jezgru vagusa. U navedenim jezgrama dolazi do aktivacije parasimpatičkog sustava, što dodatno usporava srčanu frekvenciju (47). Na takav način barorefleksni sustav ostvaruje brzu normalizaciju arterijskog tlaka smanjujući simpatičku i povećavajući parasimpatičku aktivnost u slučajevima arterijske hipertenzije, dok se suprotni mehanizam događa tijekom arterijske hipotenzije, gdje smanjena aktivnost baroreceptora rezultira povećanom simpatičkom aktivnošću (48).

Iako je značaj baroreceptora u kratkoročnoj kontroli krvnog tlaka detaljno istražen u znanstvenoj literaturi, potrebno je naglasiti važnost baroreceptorskog sustava u kroničnoj podražljivosti koja se zapaža pri učestalim promjenama arterijskog tlaka za vrijeme ponavljane aktivacije posredovane sustavom RAS ili nekim drugim humoralnim čimbenicima (49-51). Kronična komponenta, prema tome, iskazana je u vidu poremećenog funkcioniranja barorefleksa što rezultira trajno smanjenom osjetljivošću refleksa te posljedično povećanom simpatičkom aktivnošću (21,52,53).

### **1.1.3.2. Kemorefleks i regulacija simpatičke živčane aktivnosti**

Kemorefleks je temeljni refleksni mehanizam u kontroli procesa disanja i regulaciji simpatičke aktivnosti. Posredovan je osjetljivim tjelešcima koji se nazivaju kemoreceptorima, a čija je glavna uloga detektirati promjene u plinovima poput kisika ( $O_2$ ) i ugljikovog dioksida ( $CO_2$ ), jednako kao i promjene u vodikovim ionima (pH) (54). Kemoreceptori se dijele na periferne i središnje te obavljaju specifične funkcije u regulaciji simpatičke aktivnosti.

#### **1.1.3.2.1. Periferni kemoreceptori**

Periferni kemoreceptori, smješteni pretežno u karotidnim i aortnim tjelešcima, prvenstveno reaguju na hipoksiju, detektirajući smanjene razine parcijalnog tlaka kisika ( $p_aO_2$ ) u arterijskoj krvi ispod 60-65 milimetara žive (mmHg) (55,56). Iako periferni kemoreceptori reaguju i na neznatne promjene parcijalnog tlaka kisika u arterijskoj krvi ( $p_aO_2 < 100$  mmHg), snažan odgovor bilježi se tek pri navedenim vrijednostima oko 60-65 mmHg (57,58). Izuzev hipoksijskog podražaja, njihov učinak može se opaziti i pri izloženostima drugim štetnim podražajima poput hiperkapnije, acidoze, hipoglikemije i promjena u tjelesnoj temperaturi (59). Studije ne preciziraju točan mehanizam kemosenzitivnosti stanica karotidnog tjelešca, ali je vjerojatni mehanizam njihovog djelovanja aktivacija uslijed hipoksijskog podražaja koja dovodi do prijenosa neuronskih signala preko glosofaringealnog živca do komisuralnih i medijalnih podjezgri NTS-a pritom tvoreći važan dio dorzalne mreže respiracijskih neurona. Prikazani neuronski put izravno je povezan s održavanjem kardiorespiracijske homeostaze u organizmu. Također, aktivacija perifernih kemoreceptora može facilitirati aktivaciju simpatikusa i simpatoadrenalnog sustava, iako se isti mehanizam može odvijati i procesima neovisnim o respiracijskom ciklusu (60-64). NTS, kao važna jezgra u prijenosu neuronskih impulsa, projicira živčane signale i izravno na središnje jezgre poput RVLM-a (65,66). Poput barorefleksnih učinaka, također i kronična stimulacija perifernih kemoreceptora te promjene u njihovoj osjetljivosti, olakšavaju dugoročnu simpatičku podražljivost koja se smatra podlogom za razvoj patološki reguliranog sustava s posljedičnom disharmonijom na homeostatske mehanizme organizma (67).

### 1.1.3.2.2. Središnji kemoreceptori

Središnji kemoreceptori prije svega su osjetljivi na promjene parcijalnog tlaka ugljikovog dioksida ( $p_a\text{CO}_2$ ) i pH u cerebrospinalnoj tekućini (68-71). Novija istraživanja naglašavaju kako lokalizacija središnjih kemoreceptora nije ograničena samo u području RVLM-a, već kako su retrotrapezoidna jezgra (engl. *retrotrapezoid nucleus*, RTN), kaudalne rafe jezgre, pre-Bötzingerov kompleks (engl. *pre-Bötzinger complex*, preBötC), locus coeruleus (LC) i hipotalamus neuronske mreže u kojima su pronađene kemoreceptorske stanice. Štoviše, dokazano je kako središnji kemoreceptori mogu funkcionirati i u međudjelovanju s potpornim stanicama poput astrocita i stanicama glije, što sugerira još složeniju mrežu kontrole  $p_a\text{CO}_2$  nego što se ranije smatralo (61,72-74). Također, značajno je kako hiperkapnijski podražaj snažno stimulira simpatičku aktivnost, pri čemu signalizacija prolazi izravno preko neurona NTS-a i RVLM-a (75,76). Pokazalo se kako neuronski impulsi i prijenos informacija u RTN-u značajno doprinose svojom aktivacijom središnjoj  $\text{CO}_2$  regulaciji na više razina u SŽS-u (77). Dodatno, studije pokazuju kako u moždanom deblu postoje različite neuronske jezgre centralnih kemoreceptora osjetljivih na promjene razine kisika u krvi, koje posljedično reguliraju respiracijske i simpatičke odgovore putem specifičnih neuronskih projekcija (78).

### 1.1.3.2.3. Međuodnos perifernog i središnjeg kemorefleksa

Iako periferni i središnji kemorefleks imaju različite osjetne podražaje, oni se isprepleću i surađuju u aktivnosti održavajući respiracijske i simpatičku homeostazu. Međudjelovanje perifernih i središnjih kemoreceptora nije u potpunosti razjašnjeno, ali se sa sigurnošću zna da je od nemjerljivog značaja pri održavanju homeostaze u promjenjivim uvjetima vanjskih stresnih podražaja, kao što su hipoksija i hiperkapnija (79). Poznato je kako periferni kemoreceptori brže reagiraju na hipoksiju, dok središnji kemoreceptori imaju glavnu ulogu u odgovoru na hiperkapniju. Sve je više spoznaja o tome kako ta dva sustava ne djeluju odvojeno, već zajedničkim djelovanjem osiguravaju kratkotrajnu i dugoročnu regulaciju kardiovaskularne i respiracijske funkcije u različitim fiziološkim i patološkim uvjetima (80-82). Navedene tvrdnje prisnažuju istraživanja koja naglašavaju važnost međusobnog moduliranja kroz koordinaciju oba sustava na način da izravnim ili neizravnim djelovanjem pojačavaju ili smanjuju učinak onog drugog involviranog sustava (62,83-86).

#### **1.1.4. Simpatička regulacija bubrega**

Regulacija simpatičkog sustava potrebna za djelovanje organa koji su pod izravnom regulacijom simpatičkih živaca je regulirana na način da može posjedovati i zadržati vlastiti simpatički odgovor, što potencira činjenicu kako je simpatikus precizno reguliran na više različitih razina (87,88). Štoviše, istraživanja koja proučavaju pojedine simpatičke živce poput primjerice aktivnosti srčanog simpatičkog živca (engl. *cardiac sympathetic nerve activity*, CSNA), splahnhičkog simpatičkog živca (engl. *splanhnic sympathetic nerve activity*, SSNA), lumbalnog simpatičkog živca (engl. *lumbar sympathetic nerve activity*, LSNA) i renalnog simpatičkog živca (engl. *renal sympathetic nerve activity*, RSNA) nam daju dodatni uvid u mehanizme složene kontrole koji često ukazuju kako upravo inervacije unutarnjih organa pod djelovanjem simpatičkog sustava pokazuju veći ili manji stupanj autonomije u svojoj aktivnosti (87,88).

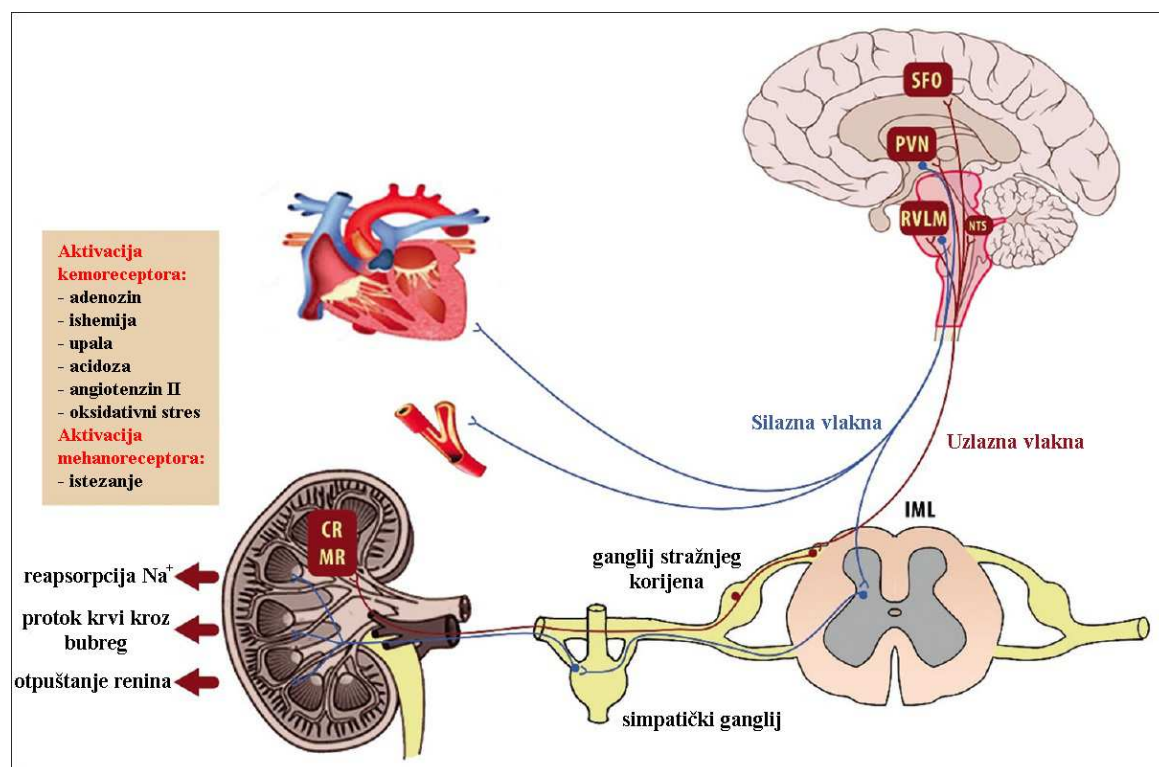
##### **1.1.4.1. Uloga i aktivnost renalnoga simpatičkog živca**

Simpatička regulacija bubrega je važan čimbenik u održavanju homeostaze tjelesnih tekućina, elektrolita i vrijednosti arterijskog tlaka. RSNA utječe na bubrežnu funkciju kroz složene neurofiziološke i neuroanatomske mehanizme (89), tim više što se pokazala kao pouzdan pokazatelj cjelokupne simpatičke aktivnosti u životinja (90,91) i ljudi (92).

Simpatička inervacija bubrega započinje sa preganglijskim vlakna iz lumbalnih segmenata kralježnične moždine te se putem aortikorenalnih ganglija, koji su smješteni neposredno uz bubrežne arterije, prenose neuronskim signalima na postganglijske neurone (93). Na živčanim završecima postganglijskih neurona oslobađa se noradrenalin koji djeluje na  $\alpha$ -adrenergičke receptore u bubrežnim krvnim žilama, što rezultira promijenjenim tonusom renalnih arterija, vazokonstrikcijom i posljedično smanjenim renalnim protokom krvi (94-96). Dodatno, RSNA može značajno utjecati na protok krvi kroz bubrege, filtraciju, kao i povećane vrijednosti krvnog tlaka (97,98). Predložena ganglijska integracija omogućuje precizno podešavanje simpatičke aktivnosti regulirajući istovremeno funkciju bubrežnih arterija i glomerula (99).

Na središnjoj razini, SŽS i simpatički refleksni putevi su uključeni u regulaciju bubrežne aktivnosti na više različitih razina (100). Hipotalamus i produljena moždina primaju

informacije o stanju tekućina i krvnog tlaka te neuronskim putevima šalju impulse do bubrega (101,102) (Slika 3).



**Slika 3.** Pojednostavljeni prikaz središnje regulacije bubrega s uzlaznim osjetilnim putevima i silaznom simpatičkom regulacijom bubrega, kao i zajedničkim utjecajem na funkciju perifernih organa koji sudjeluju u mehanizmima regulacije arterijskog tlaka. Refleksni mehanizmi, koji uključuju kemoreceptore (CR) i mehanoreceptore bubrega (MR), prenose uzlaznim putevima (crvenom bojom) signale prema stražnjem korijenskom gangliju, pritom modulirajući aktivnost jezgre solitarnog trakta (NTS) i premotornih neurona u rostralnoj ventrolateralnoj produženoj moždini (RVLM) i paraventrikularnoj jezgri hipotalamusa (PVN). Silazni simpatički impulsi (plavom bojom) usmjeravaju se prema intermediolateralnom stupiću (IML) kraljeznične moždine, odakle neuronskim projekcijama djeluju na bubrege i druge ciljane organe povezane sa protokom krvi kroz bubrege, reapsorpcijom natrija, otpuštanjem renina i regulacijom krvnog tlaka. U integraciji signala te koordinaciji odgovora uzlaznih i silaznih signala važnu ulogu ima subfornikalni organ (SFO) [preuzeto i izmijenjeno iz Kharazmi i sur. (102) u dijelu prevedenih naziva s engleskog na hrvatski jezik prema uvjetima određenim licencom Creative Commons Attribution Licence (CC BY-NC 4.0)].

Očekivano je kako refleksna regulacija baroreceptorskim i kemoreceptorskim informacijama može mijenjati aktivnost simpatičkog sustava što potom zajednički utječe na bubrežni protok i filtraciju krvi (103). Detaljnije, smanjenje krvnog tlaka potencira

simpatičku aktivnost i povećava protok krvi kroz bubrege (104). Značajno je spomenuti i adaptacijsku ulogu RSNA jer je poznato kako dugotrajna simpatička aktivacija može biti uzrokom ireverzibilnih promjena koje se očituju kroz hipertrofiju i promjenu funkcije bubrežnih tubula (105-107). Kroz složeno receptorsko međudjelovanje, RSNA ima utjecaj i na regulaciju funkcije bubrežnih glomerula i tubula. Detaljnije,  $\alpha$ 1-adrenergički receptori koji su prisutni u glomerulima mogu smanjiti glomerularnu filtraciju, dok  $\beta$ -adrenergički receptori rasprostranjeni u tubulima utječu na reapsorpciju natrija (108-111). Također, ekscitacija RSNA može stimulirati lučenje hormona poput renina, što aktivira RAS i dovodi do povećanja arterijskog tlaka (112,113).

## 1.2. Respiracijski sustav

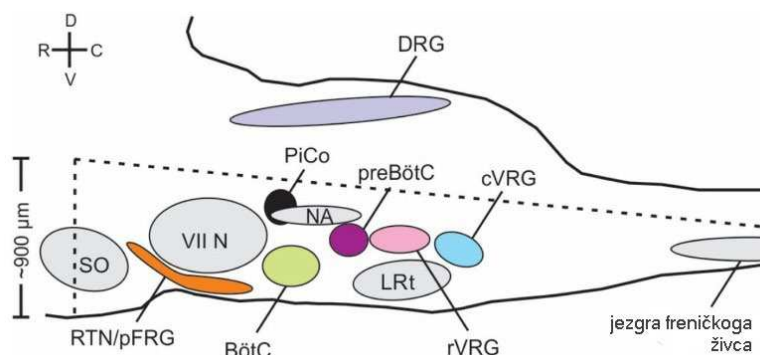
Respiracijski sustav predstavlja temeljni mehanizam koji služi kako bi se omogućila zadovoljavajuća oksigenacija tkiva i eliminacija CO<sub>2</sub>, a njegova regulacija uključuje isprepletene procese unutar SŽS-a i PŽS-a, kao i brojna složena međudjelovanja s AŽS-om (114). Proces disanja je od vitalne važnosti i reguliraju ga tri komponente: osjetna, središnja ili kontrolna i motorna komponenta. Osjetna komponenta se sastoji od dva dijela: perifernih i središnjih kemoreceptora te od receptora u dišnim putevima i respiracijskoj muskulaturi koji reagiraju na promjene u istezanju stijenke (115-118). Središnja komponenta respiracijskog sustava prikuplja i integrira informacije s periferije te generira temeljni obrazac disanja. Impulsi se preko respiracijskih motoneurona prenose sve do ošita i respiracijskih mišića uključenih u motornu komponentu respiracijskog ciklusa. U navedenom procesu bitno je naglasiti ulogu spinalnih živaca koji sa freničkim živcem doprinose pravilnoj usklađenosti i funkcionalnosti rada respiracijskog sustava (115-118).

### 1.2.1. Središnja regulacija respiracijskog sustava

Središnja regulacija disanja odvija se unutar moždanog debla, posebno u produljenoj moždini i ponsu, gdje su smješteni najvažniji respiracijski centri (119). Respiracijska neuronska mreža se sastoji od tri specifične respiracijske skupine neurona: dorzalne respiracijske skupine (engl. *dorsal respiratory group*, DRG), ventralne respiracijske skupine (engl. *ventral respiratory group*, VRG) i pontine respiracijske skupine (engl. *pontine respiratory group*, PRG) (120). DRG se primarno sastoji od neurona koji kontroliraju inspiraciju i automatski generiraju ritam disanja putem integracije signala iz perifernih kemoreceptora i mehanoreceptora (121), dok VRG sadrži neurone koji

kontroliraju forsirano disanje te su aktivni tijekom inspiracije i ekspiracije (122). Unutar VRG-a pronađene su neuronske jezgre koje funkcioniraju poput centralnih *pacemakera* disanja, generirajući ritmičke impulse udisaja i izdisaja (123) (Slika 4). VRG je također povezana i s respiracijskim mišićima poput dijafragme koji su uključeni u motornu komponentu disanja (123,124). Neuronska mreža Bötzingerovog kompleksa (engl. *Bötzinger complex*, BötC) i preBötC-a, za koje se smatra kako je povezana s kreiranjem središnjeg obrasca disanja, osjetljiva je na različite podražaje, uključujući CO<sub>2</sub> i pH, što osigurava trenutnu regulaciju disanja usklađenu prema najmanjim promjenama u homeostatskim procesima (15,124,125).

Periferna i središnja kemorecepcija imaju veliki značaj u regulaciji respiracijskog sustava putem jezgre RTN-a i parabrahijalnog kompleksa unutar ponsa (15,126). RTN je osjetljiva na povećane razine CO<sub>2</sub> i vodikovih iona te projicira signale prema BötC-u i preBötC-u kako bi se prisnažio respiracijski odgovor (127). Dodatno, parabrahijalni kompleks unutar *ponsa* koordinira prijelaz između inspiracijskih i ekspiracijskih faza disanja, čime dodatno modulira finu regulaciju respiracijskih ciklusa (128).



**Slika 4.** Prikaz pontomedularne neuronske respiracijske mreže koja predstavlja neuroanatomski temelj za generiranje obrasca i ritma disanja. Iako su identificirana specifična elektrofiziološka svojstva, kao genetski i molekularni markeri za pojedine jezgre, granice između prikazanih jezgri nisu jasno definirane. Neuronsko područje se proteže od rostralno prema kaudalno i obuhvaća: retrotrapezoidnu jezgru/parafacijalnu respiracijsku skupinu (RTN/pFRG), jezgru sedmog moždanog živca (VII), postinspiracijski kompleks (PiCo), dvostranu jezgru (NA), Bötzingerov kompleks (BötC), pre-Bötzingerov kompleks (pre-BötC), rostralnu ventralnu respiracijsku skupinu (rVRG), kaudalnu ventralnu respiracijsku skupinu (cVRG) i lateralnu retikularnu jezgru (LRT) [preuzeto i izmijenjeno iz Ghali (123) u dijelu prevedenih naziva s engleskog na hrvatski jezik prema uvjetima određenim licencom Creative Commons Attribution Licence (CC BY-NC 4.0)].

### 1.2.2. Respiracijska regulacija simpatičkoga živčanog sustava

Međuovisnost djelovanja simpatičkog i respiracijskog sustava je često istraživana neuroznanstvena tematika, a njihova pravilna usklađenost se smatra važnim mehanizmom postizanja optimalne tkivne perfuzije i oksigenacije (129,130). Izloženost štetnim okolišnim podražajima, poput hipoksije i hiperkapnije, može aktivirati respiracijske i simpatičke neurone u SŽS-u te utjecati na koordinaciju respiracijske i autonomne aktivnosti (68,131,132). Isprepletana međudjelovanja respiracijskog i simpatičkog sustava su od vitalne važnosti pri analizi fizioloških procesa tijekom izloženosti ekstremnim okolišnim uvjetima (68,131-134). Spomenute veze potpomažu međusobnu sinkronizaciju procesa disanja i respiracijske muskulature s vaskularnim tonusom i srčanom frekvencijom (135). Tijekom udisaja, dolazi do smanjenja parasimpatičkog tonusa, dok se simpatički tonus pojačava, što posljedično povećava otpor krvnih žila i arterijski tlak (136). Opisani fenomen je poznat kao respiracijska sinusna aritmija (engl. *respiratory sinus arrhythmia*, RSA), a njegova regulacija ima ulogu u održavanju arterijskog tlaka (137). Predloženi neuronski putevi uključuju bulbospinalne neurone iz RVLM-a koji ostvaruju svoje učinke na simpatičku silaznu aktivnost djelujući na ciljne periferne organe (138). Neuroni RVLM-a prihvaćaju uzlazne signale iz respiracijskih centara i kemoreceptora te olakšavaju proces integracije između respiracijskog ritma i simpatičke aktivnosti (60). Također, aktivacija središnjih kemoreceptora može dovesti do popratne simpatičke ekscitacije, povećavajući arterijski krvni tlak u odgovoru na izloženost štetnom podražaju poput hiperkapnije (67).

### 1.2.3. Uloga i aktivnost freničkog živca

Aktivnost freničkog živca (engl. *phrenic nerve activity*, PNA) predstavlja važnu odrednicu pri proučavanju mehanizama respiracijske neuroplastičnosti u životinjskim modelima s obzirom da izravno inervira dijafragmu - glavni respiracijski mišić (139). Štoviše, istraživanja upućuju kako se PNA smatra neizravnim pokazateljem središnjeg obrasca generiranja respiracijskog ritma, kao i obrasca disanja (117,118,140,141). U prilog navedenom idu saznanja kako frenički motorni neuroni lokalizirani u cervikalnim segmentima kralježnične moždine (C3-C5) primaju ulazne signale iz središnjih respiracijskih centara, a posebno iz preBötC jezgre (142). Nadalje, eksperimentalna lezija freničkog živca ili manipulacija s njegovim motornim neuronima u vidu stimulacije koristi se kako bi se načinio dodatan uvid u patofiziološke mehanizme respiracijskog sustava (143,144). Živac je posebno često proučavan u eksperimentima koji analiziraju kontrolu



disanja i reakcije na različite stresne uvjete, uključujući okolišne podražaje poput hipoksije i hiperkapnije (145).

#### **1.2.4. Hipoksija i ventilacijski odgovor na hipoksiju**

Disanje je osnovni fiziološki mehanizam koji je potreban za funkcioniranje organizma, a brojni respiracijski poremećaji mogu pridonositi razvoju slabije opskrbe tkiva kisikom, tj. hipoksije. Hipoksija je snažan podražaj za aktivaciju respiracijskog i autonomnog sustava koji se uključuju kao kompenzacijski mehanizmi za sprječavanje negativnih učinaka hipoksije na staničnoj i tkivnoj razini (58,68,131,132). Dvadesetih godina prošlog stoljeća otkrićem karotidnih tjelešaca i njihove uloge napravljen je veliki korak naprijed prema razumijevanju hipoksijskih učinaka (58). Ventilacijski odgovor na hipoksiju (engl. *hypoxic ventilatory response*, HVR) je neophodan mehanizam kojim se organizam prilagođava smanjenju razine kisika u okolišu ili tkivima (146). HVR omogućava adekvatnu prilagodbu organizma putem snažne aktivacije perifernih kemoreceptora i posljedičnim odgovorom u vidu povećanja ventilacijske aktivnosti. Spomenute promjene u aktivnosti respiracijskog sustava primarno se odnose na povećani dišni volumen i povećanu frekvenciju disanja (62,147,148). Također, HVR je fluidan i složen proces koji varira ovisno o dobi, stanju i vrsti organizma, genetskoj predispoziciji, obrascu i intenzitetu trajanja hipoksije, parametrima ventilacije, kao i trajanju izloženosti hipoksiji koja se može ogledati kroz kratkoročne ili višekratne učinke hipoksijskih epizoda na respiracijske parametre (148-150).

##### **1.2.4.1. Izlaganje kratkotrajnoj hipoksiji**

Kratkotrajni hipoksijski podražaji u vidu jednokratnog izlaganja hipoksijskoj epizodi aktiviraju odgovore HVR-a kroz sljedeće mehanizme djelovanja: akutni odgovor, kratkotrajno pojačanje (potenciranje) i kratkotrajno oslabljenje (depresija) (148,151).

Akutni odgovor (engl. *acute response*, AR), koji je posredovan aktivacijom perifernih kemoreceptora, nastupa i prestaje trenutno nakon izlaganja hipoksijskom podražaju (ukupno trajanje 2-6 sekundi). Pri kratkotrajnom pojačanju (engl. *long term potentiation*, STP) dolazi do promjene regulacije u kemoreceptorskom odgovoru, a karakterizira ga nastavak povećane respiracijske aktivnosti po završetku akutnog odgovora (ukupno trajanje 60-120 sekundi). Kratkotrajno oslabljenje (engl. *short term depression*, STD) sačinjavaju

dvije faze karakterističnog odgovora. Prvo nastupa trenutno i kratkotrajno povećanje respiracijske frekvencije da bi potom nastupilo prolazno smanjenje frekvencije po završetku hipoksijske epizode (148, 151). Periferni kemoreceptori imaju ključnu ulogu u opisanim reakcijama na hipoksijske podražaje. Više je različitih mehanizama koji se smatraju odgovornim za aktivaciju karotidnih kemoreceptora pri hipoksijskim uvjetima, a u podlozi su tzv. primarni senzori za kisik, točnije O<sub>2</sub>-senzitivna područja u membranskim i mitohondrijskim kanalima hema i kalijevih kanala (58,152,153). Također, postoji međudjelovanje između periferne i centralne mreže kemoreceptivne kisika u dijelovima SŽS-a poput talamusa, hipotalamusa i moždanog debla koje potom mogu izravnim i neizravnim neuronskim putevima aktivirati kompenzacijske odgovore respiracijskog i simpatičkog sustava na hipoksijski podražaj (78,154).

#### **1.2.4.2. Izlaganje višekratnim hipoksijskim epizodama i respiracijska plastičnost**

Višekratne hipoksijske epizode sastoje se od ponavljanih epizoda hipoksijskog podražaja međusobno odvojenih razdobljima reoksigenacije u kojima postoje uvjeti hiperoksije ili normoksije (131,132,155-160). Opisani hipoksijski podražaj se naziva intermitentnom hipoksijom (engl. *intermittent hypoxia*, IH) i ima sposobnost induciranja fenomena dugoročnog pojačavanja disanja, procesom poznatim kao dugoročna facilitacija (engl. *long-term facilitation*, LTF) (131,132,155-160). Za istaknuti je kako se kontinuitet izloženosti hipoksiji smatra bitnom značajkom respiracijskog odgovora, kao i neuroplastičnosti respiracijskog sustava. (131,132,155-160). Štoviše, jedino izloženost IH može inducirati LTF za razliku od izloženosti trajnoj hipoksiji jednakog ukupnog djelovanja (149,151,156). Primjerice, studije na životinjskim modelima pokazale su kako epizode IH mogu facilitirati trajne promjene u aktivaciji respiracijskih neurona u moždanom stablu, što posljedično dovodi do povećane respiracijske aktivnosti, čak i u odsutnosti hipoksije (161,162). Podjela IH razlikuje dvije osnovne skupine: akutnu ponavljaju hipoksiju (engl. *acute intermittent hypoxia*, AIH) i kroničnu ponavljaju hipoksiju (engl. *chronic intermittent hypoxia*, CIH). Poznato je kako CIH, karakteristična za OSA-u, rezultira kontinuiranom aktivacijom simpatičkog tonusa i pridonosi razvoju arterijske hipertenzije (156-160,163,164). Protokol AIH predstavlja često korišteni eksperimentalni postupak za induciranje LTF-a respiracijskog, ali i simpatičkog sustava, također uzimajući u obzir genetsku predispoziciju, vrstu životinje, primijenjenu vrstu anestezije i promatrani periferni živac (132,159). Jedan od najčešće proučavanih perifernih

živaca pri ispitivanju LTF-a je upravo frenički živac koji pokazuje sposobnost razvitka dugoročne facilitacije freničkog živca (engl. *phrenic long-term facilitation*, pLTF) za vrijeme korištenja protokola AIH (161). Uz respiracijski LTF, simpatički LTF (engl. *sympathetic long-term facilitation*, sLTF) je fenomen koji opisuje dugotrajno povećanje simpatičke živčane aktivnosti nakon izlaganja IH (132). Taj fenomen posebno je važan za razumijevanje mehanizama patofiziologije OSA-e budući da simpatoekscitacija može dovesti do arterijske hipertenzije i metaboličkog sindroma (131,132). Poput respiracijskog LTF-a, istraživanja na životinjskim modelima pokazuju kako se sLTF može zabilježiti nekoliko sati nakon završetka epizoda hipoksije, čime doprinosi dugoročnim promjenama neuroplastičnosti mozga (165).

### **1.2.5. Važnost životinjskih modela u proučavanju hipoksijskih mehanizama**

Važnost korištenja životinjskih modela se ogledava u mogućnosti proučavanja specifičnih patofizioloških mehanizama bez utjecaja brojnih komorbiditeta koji su često prisutni kod ljudi, a isto otežava tumačenje učinaka istraživanja temeljenih na hipoksijskim protokolima (166, 167). Za razliku od toga, upravo životinjski modeli otvaraju mogućnost istraživanja izravnih i neizravnih učinaka različitih modela primijenjene hipoksije na simpatički i respiracijski sustav, kao i precizniju kontrolu nad promatranim varijablama, detaljnije proučavanje mehanizama regulacije kardiovaskularnog sustava te rasvjetljavanje temeljnih patofizioloških mehanizama (131,132,163,168-171).

Prvi pokušaji razvijanja životinjskih modela pri istraživanju hipoksije datiraju još iz 1970-ih godina, kada su korišteni mehanički uređaji za induciranje opstrukcije dišnih puteva u životinjskom modelu pasa (169). Jedan od pionirskih radova u proučavanju životinjskih modela bio je Flechtera i suradnika iz 1992. godine koji su razvili prvi validirani model za istraživanje hipoksijskih mehanizama epizoda apneje. Model se temeljio na periodičnoj okluziji traheje u anesteziranih pasa, što je inducivalo kratkotrajna razdoblja apneje koja su usporediva s prestankom disanja koji se primjećuje u pacijenata s OSA-om (131,132,163,168-171).

S vremenom su se modeli razvijali kako bi se omogućilo bolje razumijevanje patofizioloških posljedica ponavljajućih epizoda hipoksije i hiperkapnije (131,132,163,168-171). Primjerice, kod štakora se često koristila kombinacija kirurških zahvata i strogo kontroliranih hipoksijskih protokola kako bi se simulirala IH, dok su se

noviji modeli među ostalim usredotočili na sve češću primjenu farmakoloških agenasa pri proučavanju kontrole simpatičkog i respiracijskog sustava (131,132,163,168-171). Od Flechterovog rada, razvijeni su brojni drugi modeli koji su koristili različite vrste životinja, uključujući štakore, miševe, zečeve i ovce, a svi su za cilj imali detaljno praćenje respiracijske funkcije, srčane i simpatičke aktivnosti tijekom i nakon simuliranih epizoda apneje (131,132,163,168-171). Ipak, modeli štakora i miševa su postali široko korišteni zbog jednostavnosti manipulacije, brzine reprodukcije i genetske sličnosti s ljudima. U spomenutim modelima, epizode apneje su se inducirale putem periodičnog sužavanja gornjih dišnih putova, najčešće pomoću posebnih eksperimentalnih sustava koja su omogućila novi pogled na hipoksijske mehanizme (131,132,163,168-171). Modeli većih životinja, poput zečeva i ovaca, su se pokazali korisnima za istraživanje dugoročnih učinaka hipoksije i hiperkapnije na kardiovaskularni sustav, ali i razvoja novih farmakoloških mogućnosti (131,132,163,168-171). Nadalje, razvoj transgeničnih miševa potaknuo je istraživanja specifičnih genetskih i molekularnih mehanizama uključenih u patogenezu prije svega kroničnih hipoksijskih promjena. Korištenjem transgeničnih miševa s mutacijama u genima povezanim s kontrolom disanja, započelo se s proučavanjem uloga specifičnih proteina u patofiziologiji respiracijskih učinaka (172,173).

### **1.3. Opća anestezija**

Prve zabilježene uporabe anestetika datiraju iz drevnih civilizacija, poput Egipta, Kine i Indije, gdje su se koristile biljke s analgetičkim svojstvima, poput opijuma i mandragore (174). Krajem 18. stoljeća sintetiziran je CO<sub>2</sub> i izoliran O<sub>2</sub> (175). Međutim, moderna era opće anestezije započela je u 19. stoljeću s otkrićem etera i kloroforma koji su omogućili brzo i kontrolirano postizanje stanja odsutnosti svijesti uz reverzibilne učinke na SŽS (175). Godine 1846. William T.G. Morton prvi je put javno demonstrirao uporabu dietil etera za anesteziju tijekom kirurškog zahvata, što se još uvijek smatra jednim od najvažnijih trenutaka u povijesti medicine (176). Ubrzo nakon toga, James Young Simpson proširio je upotrebu kloroforma, što je dodatno ubrzalo popularizaciju opće anestezije diljem svijeta (176). Za napomenuti je činjenica kako su oba anestetika poslije napuštena zbog svoje toksičnosti, poput mogućnosti razvoja hepatotoksičnosti i eksplozivnosti (177). Nadalje, sredinom 20. stoljeća, razvoj novih inhalacijskih anestetika poput halotana, desflurana, izoflurana i sevoflurana značajno je unaprijedio sigurnost i učinkovitost opće anestezije te su isti postali zlatnim standardom u anesteziološkim postupcima (177). Dodatno, uvođenje

intravenskih anestetika, poput tiopentala i propofola, omogućilo je bržu indukciju i bolju kontrolu nad vođenjem anestezije uz smanjenje rizika od anestezioloških komplikacija (178).

Opća anestezija je reverzibilno stanje promjena u neurološkim funkcijama inducirano primjenom lijekova, koje se karakterizira privremenim gubitkom svijesti, amnezijom, analgezijom, relaksacijom skeletnih mišića, inhibicijom nociceptorskih podražaja, odsustvom refleksa i smanjenjem odgovora AŽS-a (179). Cilj opće anestezije je osigurati bezbolno iskustvo tijekom kirurških zahvata ili invazivnih dijagnostičkih postupaka, omogućujući istovremeno potpunu kontrolu nad osnovnim fiziološkim funkcijama kao što su disanje i cirkulacijska stabilnost (178).

Opći anestetici primarno ostvaruju svoje učinke putem različitih receptorskih sustava u SŽS-u. Istražena su brojna mjesta u SŽS-u na koja djeluje opća anestezija i suvremene studije nedvosmisleno ukazuju kako nalazi funkcionalnih magnetskih rezonancija (engl. *functional magnetic resonance imaging*, fMRI) i elektroencefalografija (engl. *electroencephalogram*, EEG) jasno pokazuju globalno smanjenje moždane aktivnosti za vrijeme anestezije, osobito u središnjim područjima mozga kao što su talamus, korteks i hipokampus (174-179). Iako mehanizmi djelovanja intravenskih i inhalacijskih anestetika nisu u potpunosti razjašnjeni, vjeruje se kako isti prvenstveno uključuju moduliranje ionskih kanala i neurotransmiterskih sustava, a posebno gama-aminomaslačne kiseline (engl. *gamma-aminobutyric acid*, GABA), glutamata i nAChRs (180). Mnogi anestetici, poput propofola, etomidata i benzodiazepina, kao i inhalacijskih agensa poput sevoflurana i izoflurana, pojačavaju aktivnost A receptora za gama-aminomaslačnu kiselinu (engl. *gamma-aminobutyric acid receptor*, GABA<sub>A</sub>) (181). GABA<sub>A</sub> receptori inhibiraju neuronsku aktivnost, uzrokujući smanjeni prijenos signala u SŽS-u i pritom inducirajući sedaciju i gubitak svijesti (182). Aktivacijom GABA<sub>A</sub> receptora dolazi do hiperpolarizacije neurona što onemogućava njihovu ekscitaciju, izaziva depresiju kortikalnih i subkortikalnih struktura te posljedično smanjuje percepciju boli i svijest (183). Anestetici utječu i na glutamatergične receptore, a izvrstan primjer je ketamin koji se ponaša kao antagonist NMDA (N-metil-D-aspartat) receptora, inhibirajući prijenos ekscitacijskih signala u SŽS-u. Učinci ketamina dovode do razvoja disocijativne anestezije, u kojoj je opisan fenomen funkcijske disocijacije između talamokortikalnog i limbičkog sustava, ali pritom s očuvanim refleksima (184). Za razliku od ketamina, inhalacijski anestetici poput izoflurana

i sevoflurana inhibiraju nAChRs, posljedično smanjujući prijenos signala unutar SŽS-a. Opisano svojstvo znatno doprinosi mišićnoj relaksaciji, kao i gubitku svijesti (185). Pojedini inhalacijski anestetici, poput izoflurana, također djeluju kao antagonisti N-metil-D-aspartat (NMDA) receptora i sudjeluju u prijenosu ekscitacijskih signala putem neurotransmitera glutamata (186). Nadalje, određeni anestetici mijenjaju aktivnost ionskih kanala, poput kalijevih i natrijevih kanala, čime se regulira ekscitabilnost neurona na način da se povećava njihova vodljivost i smanjuje prijenos impulsa u SŽS-u (182,187).

Klasifikacija općih anestetika razlikuje dvije vrste: inhalacijske i intravenske. Opća anestezija se najčešće postiže kombinacijom inhalacijskih i intravenskih anestetika koji zajedno djeluju na različite dijelove živčanog sustava. Inhalacijski anestetici često se koriste za uvođenje u anesteziju pacijenta dječje dobi, kao i za održavanje anestezije odraslih osoba, dok se intravenski anestetici, poput propofola ili tiopentala, koriste za brzu indukciju opće anestezije (188). Osim navedenih, opiodi, mišićni relaksanti i sedativi mogu biti pridodani, u ovisnosti o kirurškoj proceduri koja je planirana, kako bi se omogućila kvalitetna analgezija i mišićna relaksacija (189).

### **1.3.1. Inhalacijski anestetici**

Inhalacijski anestetici su specifični anesteziološki lijekovi koji se unose u organizam udisanjem i predstavljaju jedan od najčešćih načina indukcije i održavanja opće anestezije u suvremenoj kliničkoj praksi. Zbog jedinstvenog načina primjene, omogućuju brzu titraciju i kontrolu dubine anestezije, čineći ih iznimno korisnima za različite kirurške zahvate (190). Njihov učinak temelji se primarno na višestrukome međudjelovanju sa SŽS-om, pri čemu dovode do gubitka svijesti, amnezije, analgezije i relaksacije skeletnih mišića (190,191).

Inhalacijski anestetici se dijele na hlapljive (halotan, enfluran, izofluran, desfluran i sevofluran) i plinovite (dušikov oksidul, ksenon) anestetike. Hlapljivi anestetici su tekućine na sobnoj temperaturi koje se pretvaraju u paru pomoću specijaliziranih uređaja zvanih vaporizatorima, a isti su sastavnim dijelom anesteziološkog aparata (192). Vaporizatori su kalibrirani ponaosob za svaki hlapljivi anestetik uzimajući u obzir kako različiti anestetici imaju drugačiju razinu hlapljivosti i fizikalno-kemijska svojstva (193).

Najčešće korišteni hlapljivi anestetici uključuju sevofluran, izofluran i desfluran, dok je najpoznatiji plinoviti anestetik dušikov oksidul ( $N_2O$ ) (194). Inhalacijski anestetici naširoko se koriste u općim anestezijama zbog svojih svojstava koja omogućuju lako upravljanje dubinom anestezije, brz početak djelovanja i oporavak pacijenata nakon prestanka njihove primjene (195). Inhalacijski agensi ulaze u pluća, prolaze kroz alveolarno-kapilarnu membranu i potom prispijevaju u krvotok. Po ulasku u krvotok, inhalacijski anestetici brzo prodiru kroz krvno-moždanu barijeru zbog karakteristične visoke lipofilnosti te se potom vežu za ciljne strukture u SŽS-u (196). Pored toga, imaju izrazito povoljan farmakokinetički profil jer se praktički isključivo izlučuju putem pluća te pritom smanjuju opterećenje na jetru i bubrege (197). Također, povećanim minutnim volumenom disanja se može postići ubrzana eliminacija anestetika iz organizma u svakodnevnoj kliničkoj praksi (198).

#### **1.3.1.1. Mehanizmi djelovanja inhalacijskih anestetika**

Jedinstvenost inhalacijskih anestetika leži u njihovom širokom i nespecifičnom vezivanju na različite proteine i lipide u neuronskoj membrani SŽS-a. Inhalacijski anestetici djeluju na brojne ciljne strukture, uključujući  $GABA_A$  receptore, NMDA receptore i kalijeve kanale, te pritom izravnim i neizravnim učincima moduliraju neuronsku podražljivost (199). Problem koji se pritom očituje je nespecifičnost djelovanja koji posljedično otežava pronalazak i razvoj specifičnog antidota koji bi mogao poništiti njihove učinke i na takav način spriječiti potencijalne komplikacije. Iako su mehanizmi djelovanja inhalacijskih anestetika jako dobro proučavani, precizan molekularni mehanizam djelovanja još uvijek nije u potpunosti razjašnjen (200). Inhalacijski anestetici djeluju na supraspinalne i spinalne dijelove živčanog sustava, uzrokujući sedaciju, analgeziju i imobilizaciju. Na supraspinalnoj razini, anestetici uzrokuju gubitak svijesti i amneziju djelovanjem na talamus i korteks, dok na spinalnoj razini inhibiraju prijenos bolnih impulsa putem inhibicije neurona stražnjih rogova leđne moždine (201). Navedenim učincima postiže se potpuna blokada percepcije boli i motoričke funkcije tijekom kirurških zahvata (180). Inhalacijski anestetici djeluju na ionske kanale u neuronskoj membrani, s posebnim naglaskom na  $GABA_A$  receptore, pojačavajući inhibicijske struje kloridnih iona koji zatim uzrokuju hiperpolarizaciju neurona te smanjuju mogućnost prijenosa akcijskog potencijala (202).

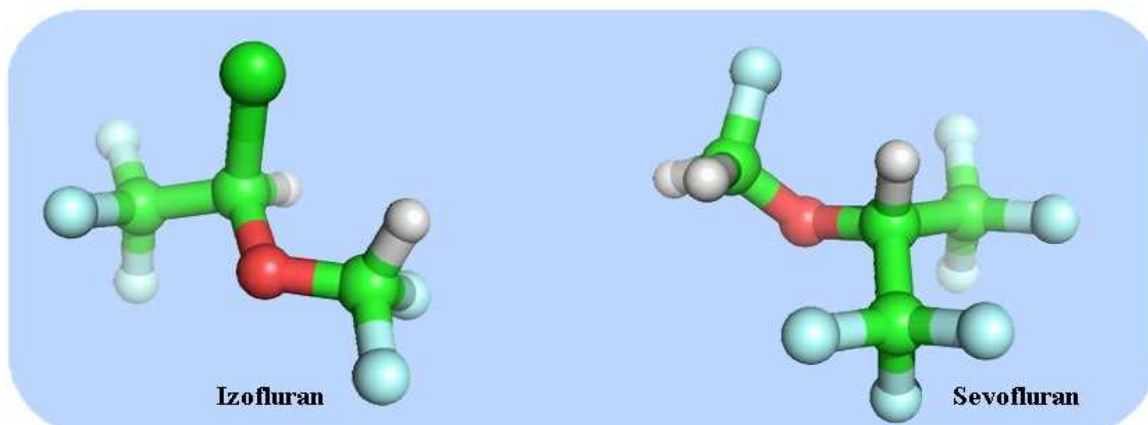
Minimalna alveolarna koncentracija (engl. *minimum alveolar concentration*, MAC) je standardizirana mjera potentnosti, tj. indeksa snage inhalacijskih anestetika. Definira se kao parcijalni tlak plina u alveolama, prikazan kao postotak od jedne atmosfere, koji je potreban da se spriječi pomicanje 50% pacijenata na standardni bolni kirurški podražaj (203). Analogan je medijanu efektivne doze ( $ED_{50}$ ) intravenskih anestetika (204). MAC se koristi kao mjera usporedbe različitih inhalacijskih anestetika, s nižom MAC vrijednosti koja označava veću potentnost jednog anestetika u odnosu na drugi (205). Također, bitno je napomenuti kako je vrijednost 1 MAC-a različita za svaki inhalacijski anestetik, kao i da se vrijednosti MAC-a korištenog anestetika mogu razlikovati za pojedine životinjske modele i ljude (205).

### **1.3.1.2. Karakteristike i klinička primjena sevoflurana i izoflurana**

Sevofluran i izofluran već dugi niz godina siguran su izbor u svakodnevnoj kliničkoj primjeni (206-208). Sevofluran je halogenirani eter, točnije fluorirani metil-izopropil-eter ( $C_4H_3F_7O$ ) (Slika 5). Jedan od najčešće korištenih hlapljivih anestetika za indukciju i održavanje opće anestezije. Fluorinirani atomi u njegovom sastavu pružaju mu visoku stabilnost i nisku topljivost u krvi, omogućujući pritom brzu indukciju i oporavak (209-211). Sevofluran je ujedno i snažan bronhodilatator, ne nadražuje dišne putove te ga karakterizira ugodni slatkasti miris. Uočene karakteristike čine ga idealnim izborom za indukciju anestezije, a posebno je pogodan za uvod u anesteziju pedijatrijskih pacijenata (212). Ističe se brzim početkom djelovanja i kratkim vremenom oporavka, što smanjuje postoperativne komplikacije i ubrzava vrijeme buđenja pacijenata (213).

Izofluran je halogenirani metil-etil-eter ( $C_3H_2ClF_5O$ ) što mu daje specifična farmakološka svojstva (206) (Slika 5). Iako sporije djeluje u usporedbi sa sevofluranom zbog veće topljivosti u krvi, izofluran pruža stabilnu hemodinamiku i ima dugotrajan učinak, što ga čini korisnim izborom za održavanje opće anestezije. Kad se uzme u obzir činjenica kako ima produljenu farmakokinetiku u odnosu na sevofluran i da nadražuje dišne putove, ne koristi se kao inhalacijski anestetik za uvod u opću anesteziju (209,214-216).





**Slika 5.** Kemijske strukture izoflurana ( $C_3H_2ClF_5O$ ) i sevoflurana ( $C_4H_3F_7O$ ) [preuzeto i izmijenjeno iz Craddock i sur. (206) na način da se izdvoji prikaz kemijskih struktura izoflurana i sevoflurana čiji su nazivi pritom prevedeni s engleskog na hrvatski jezik prema uvjetima određenim licencom Creative Commons Attribution Licence (CC BY-NC 4.0)].

### 1.3.2. Utjecaj inhalacijskih anestetika na ventilacijski odgovor na hipoksiju

HVR je bitna odrednica u proučavanju kvantitativnih i kvalitativnih učinaka inhalacijskih anestetika na respiracijske mehanizme kontrole disanja. Rezultati provedenih studija ukazali su kako je učinak inhalacijskih anestetika na HVR nepredvidljiv ovisno o primijenjenom anestetiku i zadanom MAC-u (217,218). Ipak, posebno je istraženo kako inhalacijski anestetici suprimiraju akutni HVR, i taj učinak je neposredno ovisan o primijenjenoj dozi anestetika. Halotan ima najsnažniji inhibicijski učinak, zatim izofluran, a najmanje od navedenih anestetika sevofluran deprimira HVR (219-221). Nadalje, istraživanja su pokazala kako primjena inhalacijskih anestetika mijenja obrazac disanja za vrijeme akutnog HVR-a, čak i u subanestetskim koncentracijama koje se ne mogu smatrati da su dovoljne za zadovoljavajuću dubinu anestezije (219,220,222-224). Dodatno, već i pri koncentracijama inhalacijskih anestetika od otprilike 0,1 MAC-a koji nemaju kliničku primjenu, iste mogu prigušiti odgovor kemoreceptora na hipoksiju i hiperkapniju (225-228).

### 1.3.3. Utjecaj inhalacijskih anestetika na simpatički živčani sustav

Djelovanje inhalacijskih anestetika na simpatički sustav je već dugo vremena predmetom opsežnih istraživanja. Poznato je kako se izloženost inhalacijskoj anesteziji smatra podražajem koji dovodi do različitih promjena aktivnosti u simpatičkom sustavu te ima utjecaj na brojne funkcije u održavanju homeostaze organizma (161,229-231). Preciznije,

inhalacijski anestetici mogu imati utjecaj na vrijednosti arterijskog tlaka u ovisnosti o primijenjenoj koncentraciji, a poznato je kako učinke ostvaruju ili izravnim učinkom na krvne žile ili neizravnim učinkom na autonomne regulacijske centre (161,229-231). Nadalje, iako je generalni učinak inhalacijskih anestetika smanjivanje aktivnosti autonomnog sustava, istraživanja su pokazala kako u životinjskim modelima inhalacijska anestezija može dovesti do različitih učinaka, pritom uključujući očekivanu depresiju, ali i ekscitaciju simpatičkog sustava (232-239). Objašnjenje takvih kontradiktornih rezultata vjerojatno ovisi o brojnim čimbenicima, uključujući vrstu anestezije, životinjski model, eksperimentalni protokol, primijenjenu koncentraciju anestetika, ali i mnoge druge potencijalne učinke koji interferiraju sa simpatičkim neuronima na putu prema njihovim ciljnim organima (238). Poput utjecaja na simpatički sustav, inhalacijski anestetici također djeluju složenim mehanizmima, i na respiracijski sustav. Međudjelovanje respiracijskog i simpatičkog sustava tijekom izlaganja inhalacijskoj anesteziji ostaje nejasno, posebno u dijelu jesu li i u kolikoj mjeri spomenuti sustavi neovisno regulirani tijekom izlaganja štetnom podražaju. Samim time, bitno je naglasiti kako su prethodna istraživanja na ovu problematiku bila temeljena na promatranju učinaka akutne ponavljane hipoksije na dugoročne promjene u simpatičkom i respiracijskom sustavu. Međutim, iste studije nisu analizirale kratkoročne učinke na simpatičku i respiracijsku aktivnost tijekom ponavljanih hipoksijskih epizoda za vrijeme primjene inhalacijske anestezije sevofluranom ili izofluranom. Ova doktorska disertacija proučavala je utjecaj kratkih cikličkih epizoda naglašene hipoksije na renalnu simpatičku i freničku živčanu aktivnost tijekom i nakon izlaganja protokolu akutne ponavljane hipoksije. Aktivnost oba živca je istovremeno bilježena dok su životinje bile izložene monoanesteziji sevofluranom ili izofluranom, a kontrolna skupina je bila izložena uretanu radi minimalnih učinaka na kardiocirkulacijski status.

## **2. CILJEVI I HIPOTEZE**

Glavni ciljevi doktorske disertacije su:

- 1) istovremenim izravnim mjerenjem aktivnosti renalnoga simpatičkog i freničkog živca ispitati kratkoročne učinke protokola akutne ponavljane hipoksije tijekom izlaganja monoanesteziji inhalacijskim anestheticima;
- 2) ispitati otpornost odgovora simpatičkog i respiracijskog sustava na ponavljane kratke epizode hipoksije tijekom izlaganja monoanesteziji inhalacijskim anestheticima.

Sporedni ciljevi istraživanja su sljedeći:

- analizirati dugoročne učinke protokola akutne intermitentne hipoksije na renalnu simpatičku i freničku živčanu aktivnost u vremenskim točkama od 30 i 60 minuta nakon završetka protokola akutne ponavljane hipoksije tijekom monoanestezije inhalacijskim anestheticima;
- ispitati trajanje respiracijskog ciklusa (trajanje udisaja -  $T_i$ , trajanje izdisaja -  $T_e$  i ukupnog trajanje pojedinog respiracijskog ciklusa -  $T_{tot}$ , kao i frekvenciju disanja -  $Fr$ ) za vrijeme i nakon izlaganja protokolu akutne ponavljane hipoksije tijekom monoanestezije inhalacijskim anestheticima;
- istražiti kratkoročne i dugoročne promjene srednjeg arterijskog tlaka za vrijeme i nakon izlaganja protokolu akutne ponavljane hipoksije tijekom monoanestezije inhalacijskim anestheticima;
- istražiti kratkoročne i dugoročne promjene srčane frekvencije za vrijeme i nakon izlaganja protokolu akutne ponavljane hipoksije tijekom monoanestezije inhalacijskim anestheticima;
- ispitati učinak hiperoksije tijekom izlaganja protokolu akutne ponavljane hipoksije na aktivnost renalnog simpatičkog živca te usporediti s odgovorom na akutnu ponavljaju hiperkapniju s hiperoksijom u razdobljima oporavka.

Hipoteze doktorske disertacije su:

- 1) aktivnost renalnog simpatičkog i freničkog živca bit će smanjena pod utjecajem inhalacijskih anestetika u odnosu na kontrolnu uretansku skupinu tijekom izlaganja akutnoj ponavljanoj hipoksiji;
- 2) izloženost akutnoj ponavljanoj hipoksiji izazvat će slabiji odgovor simpatičkog sustava u odnosu na respiracijski sustav.

### **3. MATERIJALI I METODE**

### 3.1. Etička načela

Istraživanje je odobreno od strane Etičkog povjerenstva Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu te Etičkog povjerenstva za zaštitu životinja koje se koriste u znanstvene svrhe, Uprave za veterinarstvo i sigurnost hrane Ministarstva poljoprivrede. Nakon završenog eksperimenta, sve pokusne životinje su eutanazirane primjenom dodatne doze korištenog anestetika i zasićene otopine kalijevog klorida, a sve prema važećim preporukama Odbora američkog veterinarskog udruženja za eutanaziju.

### 3.2. Pokusne životinje

Istraživanje je provedeno na odraslim mužjacima štakora soja Sprague-Dawley, starosti 2-3 mjeseca i tjelesne mase 280-360 g koji su uzgojeni u Nastambi za pokusne životinje Sveučilišta u Splitu. Životinje nisu bile srodne, a porijeklo soja je bila kolonija Envigo (Udine, Italija). Sve životinje su bile izložene režimu 12h:12h svjetlo/tama, kao i slobodnom pristupu hrani (4RF21GLP, Mucedola, Settimo Milanese, Italija) i vodi. U ovoj disertaciji prikupljeni rezultati su analizirani na temelju 24 uključene životinje (n=24). Štakori su nasumično odabrani te zatim nasumično podijeljeni u tri skupine: jednu kontrolnu (n=12) i dvije pokusne, sevofluransku (n=6) i izofluransku (n=6).

### 3.3. Anesteziološki i kirurški postupci

Životinje su u kontrolnoj skupini bile anestetizirane intraperitonealnom injekcijom uretana (20% otopina u 0,9% fiziološkoj otopini; 1,2 g/kg; Sigma-Aldrich, St. Louis, SAD). Pri pozitivnom odgovoru na bolni podražaj u vidu kornealnog refleksa i/ili pozitivnog refleksa povlačenja stražnjih šapica, administrirana je dodatna doza uretana (0,2 g/kg i.p. ili i.v.).

U obje eksperimentalne skupine životinje su stavljene u prozirnu staklenu anesteziološku komoru (engl. *transparent glass anesthesia box*) volumena 4L i izložene sevofluranu ili izofluranu (Sevorane, Isoflurane, Abbott, Chicago, Illinois, SAD). Raspon koncentracija plinova je bio između 1,4-3 MAC-a (za sevofluran 3,4-7,2 %, za izofluran 2,1-4,4 %). Svježi plin je pušten u komoru iz cilindra s fiksnom smjesom (50% kisika + 50% dušika) spojenog na kalibrirani vaporizator (Isoflurane vaporizer 19.3.; Sevoflurane vaporizer 19.3.; Dräger, Lubeck, Njemačka). Anestezija je započimala korištenjem 3 MAC-a tijekom

početne 3 minute (sevofluran 7,2 %, izofluran 4,4 %), a potom se postupno smanjivala na 2 MAC-a (sevofluran 4,8 %, izofluran 2,9 %) kroz 15-20 minuta. Po proteku 20 minuta, životinja je izvađena iz komore i prebačena pažljivo na operacijski stolić za male životinje. Cijelo vrijeme eksperimenta promatrala se prisutnost spontanog disanja uz ventilaciju improviziranom maskom za njušku štakora uz protok svježih plinova od 1L/min.

U položaju na leđima uz podležecu grijaću podlogu (FST, Heidelberg, Njemačka) životinje su vagotomizirane i traheotomirane. Preko trahealne metalne kanile su bile mehanički ventilirane respiratorom za male životinje (SAR 830-P; CWE Inc., Ardmore, PA, SAD) koristeći smjesu 50% kisika i 50% dušika. Početne postavke respiratora su bile namještene na frekvenciju 50 udisaja/min, vrijeme udisaja 0,6 sekundi uz pozitivni tlak na kraju izdisaja od 2-3 cm H<sub>2</sub>O, dok je prilagođavanje parametara ovisilo o daljnjim analizama arterijske krvi tijekom eksperimenata (RapidPoint500, Siemens Healthcare Limited, Surrey, UK). Kanulirane su obje femoralne vene i arterije radi nadoknade cirkulirajućeg volumena fiziološkom otopinom (1,5-2 ml/kg/h), uzimanja uzoraka krvi i praćenja arterijskog tlaka.

Koristeći pronacijski položaj u stereotaksijskom okviru (Lab Standard, Stoelting Co, Wood Dale, IL, SAD) stražnjim pristupom je prikazan i potom prepariran desni frenički živac na visini izlazišta korijena živca C5. Potom se pristupilo na lijevi renalni simpatički živac koji je izoliran retroperitonealnim pristupom u visini lijevog bubrega. Nakon kirurške izolacije živci su postavljeni na fleksibilnu bipolarnu srebrnu elektrodu i prekriveni silikonskim gelom (Elastosil RT 601 A+B, Wacker Silicones, Riemerling, Njemačka). Za vrijeme kirurških procedura inspiratorna koncentracija vaporizatora je održavana na razini od 2 MAC-a (sevofluran 4,8%, izofluran 2,9%), a po završetku smanjena na 1,4 MAC-a (sevofluran 3,4%, izofluran 2,1%).

Živčani signali su bili pročišćeni, pojačani i filtrirani (pojasni filter 300 Hz-10 kHz) te integrirani (MA-1000 Moving Averager module for System 1000 with a time constant of 50ms; CWE Inc., Ardmore, PA, SAD). Signali RSNA, PNA i srednjeg arterijskog tlaka (engl. *mean arterial pressure*, MAP) snimljeni su programom Chart for Windows verzije 5.4.2 (ADInstruments, Bella Vista, Australija) u visokoj rezoluciji (20 kHz u sekundi).

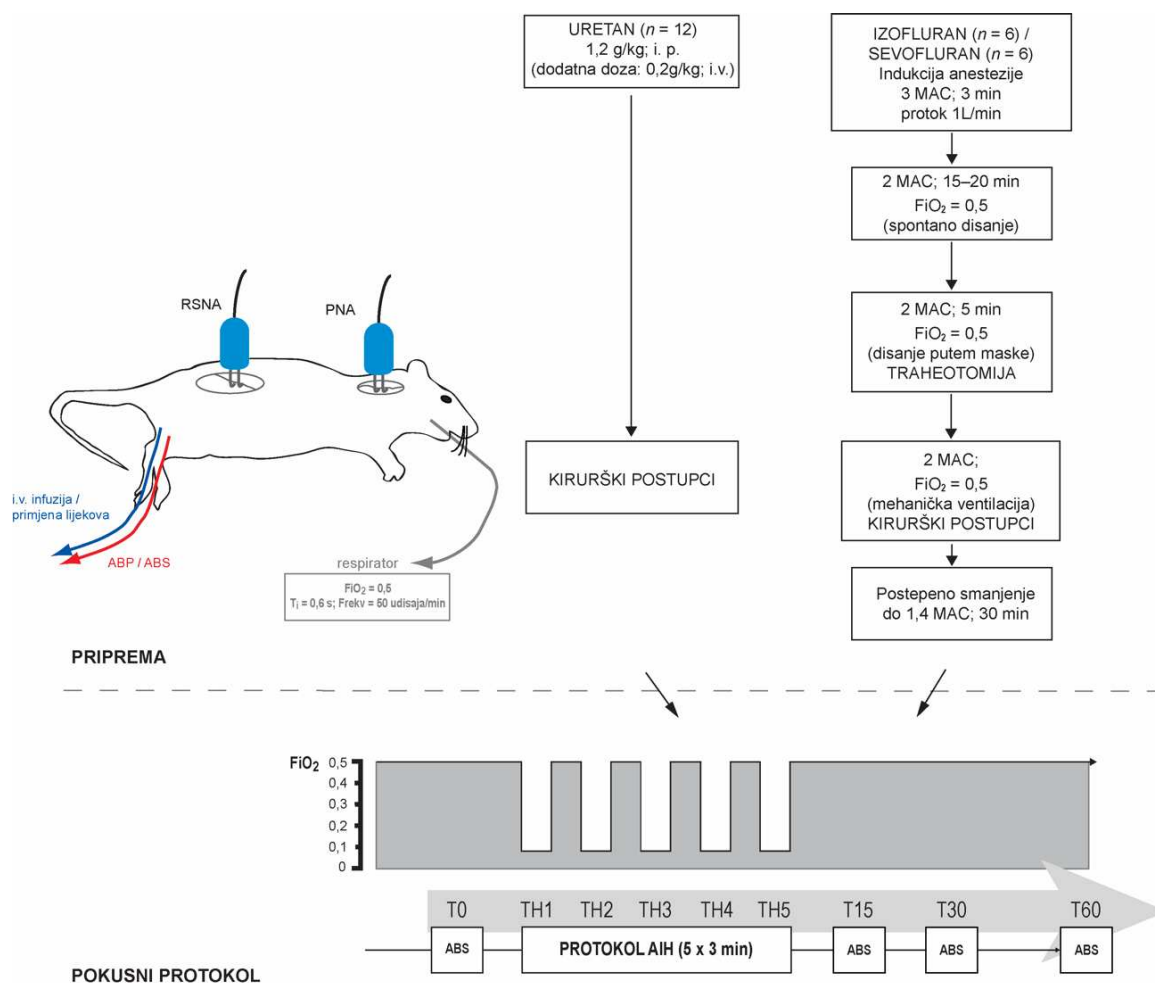
RSNA i PNA su se kontinuirano pratili i analizirali, kao i vrijednosti MAP-a, u 20 sekundnim intervalima u 9 promatranih vremenskih točaka: u početnim uvjetima neposredno prije početka AIH protokola (T0), tijekom pet hipoksijskih epizoda (TH1-TH5), te po proteku 15 minuta (T15), 30 minuta (T30) i 60 minuta (T60) od završetka protokola. RSNA je zatim bila kvantificirana iz integriranog signala mjerenjem površine

ispod krivulje (engl. *integral from minimum*), a PNA kao prosječna vrijednost amplitude PNA korištenjem Chart for Windows verzija 5.4.2 (ADInstruments, Bella Vista, Australija). Aktivnosti živaca su prikazane kao omjer promjene u odnosu na početne vrijednosti (engl. *fold change relative to the baseline*). MAP je iskazan u milimetrima žive (mmHg). Zbog dugotrajnosti eksperimenta i opsežnih kirurških procedura, uzorci arterijske krvi su se uzimali u četiri vremenske točke, tj neposredno prije (T0) i periodički tijekom 15, 30 i 60 minuta nakon izlaganja protokolu AIH (T15, T30 i T60).

### **3.4. Dijagram tijeka protokola pokusa**

Po stabilizaciji signala živaca, određena je točka koja je smatrana početnim uvjetima (T0) te je ista korištena za usporedbu promjena tijekom i nakon protokola uz istovremeno mjerenje startnih plinskih analiza arterijske krvi. Protokol AIH je bio identičan u svim pokusnim skupinama i sastojao se od izlaganja životinja 5 hipoksijskih epizoda ( $FiO_2 = 0,09$ ) kroz 3 min (5 x 3 min) između kojih je slijedilo 3 minute oporavka u hiperoksijskim uvjetima ( $FiO_2 = 0,5$ ) (Slika 6).





**Slika 6.** Pregled eksperimentalne pripreme i protokola istraživanja s prikazom 3 pokusne skupine: uretan ( $n = 12$ ), izofluran ( $n = 6$ ) i sevofluran ( $n = 6$ ). Protokol akutne ponavljane hipoksije (AIH) sastoji se od 5 epizoda hipoksije u trajanju od 3 minute ( $FiO_2 = 0,09$ ), odvojenih intervalima oporavka od 3 minute ( $FiO_2 = 0,5$ ) u promatranih 9 eksperimentalnih točaka. T0: početni uvjeti, TH1-TH5: pet hipoksijskih epizoda, T15: 15 minuta nakon posljednje hipoksijske epizode, T30: 30 minuta nakon posljednje hipoksijske epizode, T60: 60 minuta nakon posljednje hipoksijske epizode,  $FiO_2$ : udio kisika u udahnuтой smjesi, ABP: arterijski krvni tlak, ABS: acidobazni status, Frekv: frekvencija respiratora, MAC: minimalna alveolarna koncentracija, PNA: aktivnost freničkog živca, RSNA: aktivnost renalnoga simpatičkog živca,  $T_i$  - trajanje udisaja u sekundama.

### 3.5. Statistička analiza

Za statističku analizu i određivanje veličine uzorka upotrebljavao se GraphPad Prism inačica 10.0.0. (GraphPad Prism Software Boston, SAD) i MedCalc inačica 11.5.1.0 (MedCalc Software, Mariakerke, Belgija). Uz  $\alpha$  pogrešku od 0,05 i statističku snagu od 90%, potrebno je bilo najmanje 10 životinja u kontrolnoj te po 5 životinja u svakoj eksperimentalnoj skupini.

RSNA i PNA uspoređivani su s početnom točkom (T0) koristeći Wilcoxonov test ranga na osnovu jednog uzorka (engl. *single-sample Wilcoxon test*) za svaki anestetik tijekom zabilježenog odgovora u prvoj hipoksiji. Odgovor RSNA i PNA tijekom druge do pete hipoksijske epizode (TH2-TH5) modeliran je linearnom regresijom (engl. *linear regression*). Vrijednosti RSNA i PNA u svim pojedinim vremenskim točkama pokusa izražene su kao omjer promjene u odnosu na početne vrijednosti (engl. *fold change relative to the baseline*).

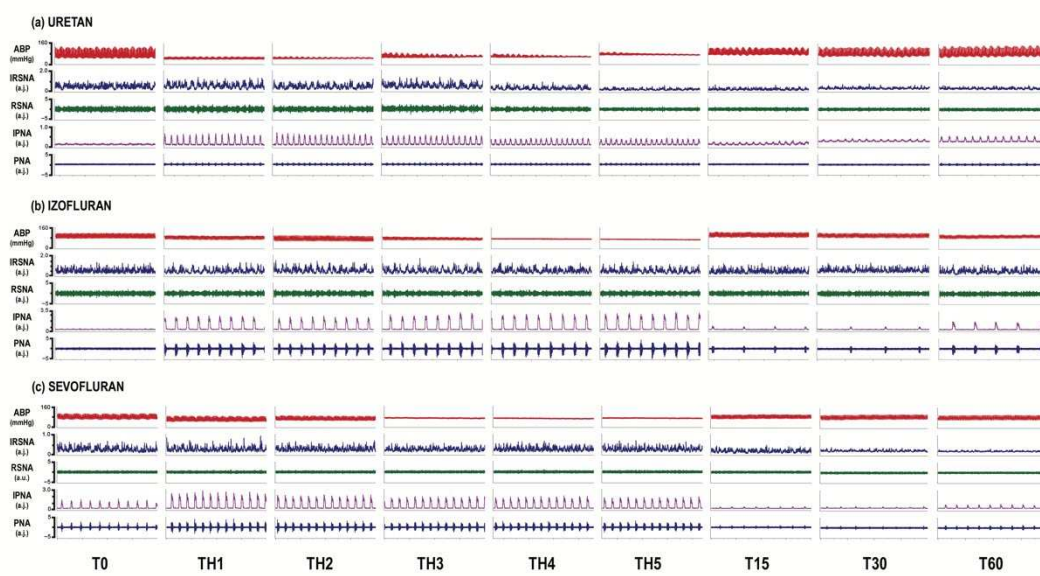
Za usporedbu unutar skupina MAP-a, pH,  $P_aO_2$ ,  $P_aCO_2$ , srčane frekvencije i respiracijskih parametara korištena je analiza varijance za ponavljana mjerenja (engl. *repeated measures ANOVA*) s post-hoc Bonferroni korekcijom, a jednosmjerna analiza varijance (engl. *one-way ANOVA*) s Tukey post-hoc testom za usporedbu MAP-a, pH,  $P_aO_2$ ,  $P_aCO_2$ , srčane frekvencije i respiracijskih parametara u početnim uvjetima između skupina.

Statistička značajnost bila je postavljena pri p-vrijednosti manjoj od 0,05.

## **4. REZULTATI**

## 4.1. Odgovor renalnoga simpatičkog i freničkog živca na protokol akutne ponavljane hipoksije

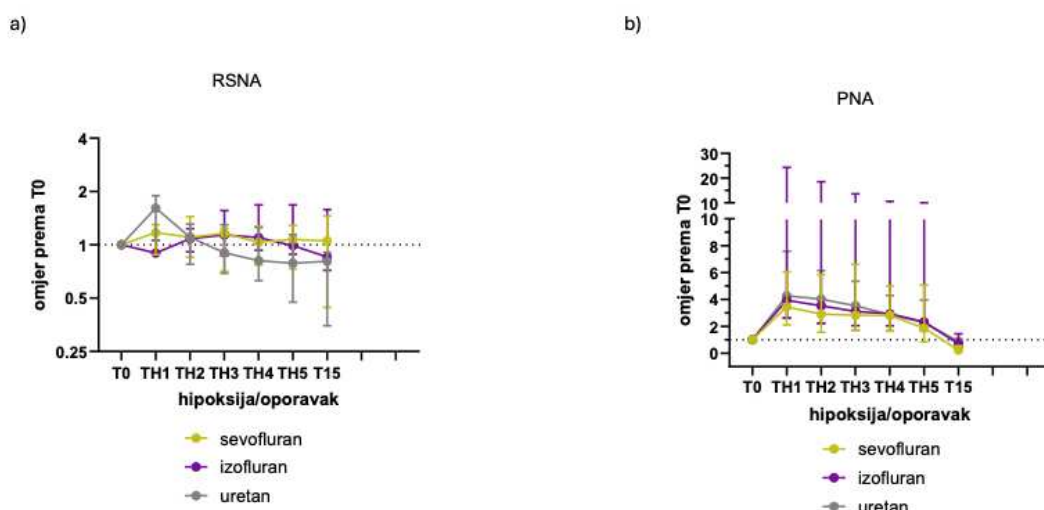
Signali RSNA i PNA zabilježeni su u 9 vremenskih točaka, tj. u početnoj točki, tijekom 5 epizoda ponavljane hipoksije te 15 minuta, 30 minuta i 60 minuta po završetku protokola AIH (Slika 7).



**Slika 7.** Komprimirani neurogram aktivnosti renalnoga simpatičkog živca (RSNA) i aktivnosti freničkog živca (PNA) u početnim uvjetima (T0), tijekom pet hipoksijskih epizoda (TH1-TH5) i tijekom 15, 30 i 60 minuta nakon izlaganja protokolu akutne ponavljane hipoksije (T15, T30 i T60) u tri promatrane skupine: **(a)** uretanskoj; **(b)** izofluranskoj; **(c)** sevofluranskoj. Odozgo prema dolje za svaku skupinu prikazani su zapisi: arterijskoga krvnog tlaka (ABP; izraženi u mmHg), integrirani signali aktivnosti renalnoga simpatičkog živca (IRSNA; izražena u arbitrarnim jedinicama, a.j.), neobrađeni signali aktivnosti renalnoga simpatičkog renalnog živca (RSNA; izražena u arbitrarnim jedinicama, a.j.), integrirani signali aktivnosti freničkog živca (IPNA; izražena u arbitrarnim jedinicama, a.j.) i neobrađeni signali aktivnosti freničkog živca (PNA; izražena u arbitrarnim jedinicama, a.j.). Crta dolje desno predstavlja vremensko razdoblje od 20 sekundi.

Zabilježeno je povećanje PNA tijekom prve hipoksijske epizode koje je praćeno platoon aktivnosti u sljedećim hipoksijskim epizodama (Slika 8b). Za razliku od toga, RSNA se

povećala jedino u kontrolnoj uretanskoj skupini. Nadalje, od druge do pete hipoksijske epizode RSNA je bila karakterizirana platoom aktivnosti u skupinama inhalacijskih anestetika, dok je u uretanskoj skupini zabilježeno smanjenje aktivnosti prema zadnjoj hipoksijskoj epizodi (Slika 8a).



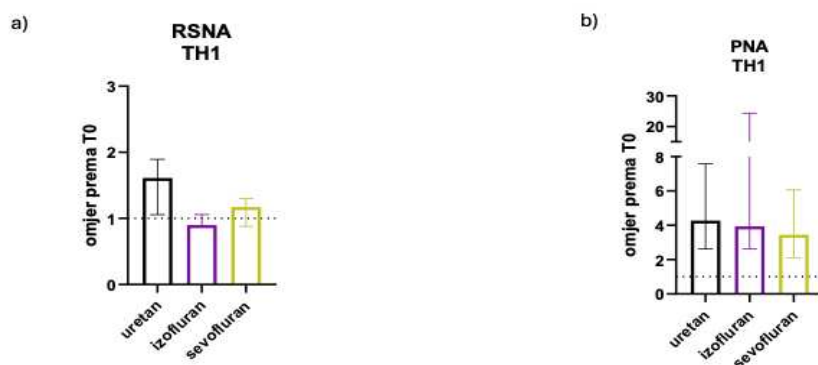
**Slika 8.** Omjer promjene aktivnosti početne vrijednosti (T0) **(a)** renalnoga simpatičkog živca (RSNA) i **(b)** aktivnosti freničnog živca (PNA), koje su prikazane kao medijan i interkvartilni raspon, u odnosu na aktivnost tijekom 5 epizoda hipoksije (TH1-TH5) i tijekom 15, 30 i 60 minuta nakon protokola akutne intermitentne hipoksije (T15, T30 i T60) za promatranu uretansku, izofluransku i sevofluransku skupinu.

#### 4.2. Usporedba promjena u odgovoru renalnoga simpatičkog i freničkog živca tijekom prve hipoksijske epizode

U prvoj hipoksijskoj epizodi, RSNA je zabilježila medijan povećanja od 1,61 puta (95% CI 1,08 do 1,89;  $p = 0,009$ ) u usporedbi s početnim uvjetima u uretanskoj skupini (Slika 9a). Nasuprot tome, u životinja anesteziranih sevofluranom ili izofluranom medijan povećanja RSNA bio je 1,17 puta (95% CI 0,87 do 1,17;  $p = 0,115$ ) i 0,89 puta (95% CI 0,87 do 1,16;  $p = 0,345$ ) u usporedbi sa zabilježenim početnim vrijednostima (Slika 9a).

U usporedbi s početnim uvjetima, medijalna promjena vrijednosti PNA bila je povećana za 4,27 puta (95% CI 2,78 do 7,38;  $p < 0,001$ ) u uretanskoj skupini. Nadalje, slijedila je izofluranska skupina (medijan promjene = 3,9; 95% CI 2,58 do 25,3;  $p = 0,027$ ), a potom i

sevofluranska skupina (medijan promjene = 3,45; 95% CI 1,93 do 7,55;  $p = 0,027$ ) (Slika 9b).

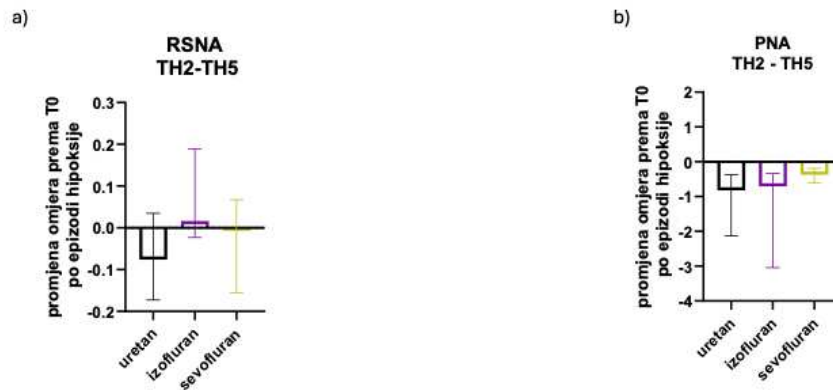


**Slika 9.** Promjene omjera aktivnosti **(a)** renalnoga simpatičkog živca (RSNA) i **(b)** freničkog živca (PNA), prikazane kao medijan i interkvartilni raspon, tijekom prve epizode hipoksije (TH1) u odnosu na početne vrijednosti (T0) u skupinama koje su bile izložene uretanu, izofluranu i sevofluranu. Isprekidana crta predstavlja početnu aktivnost.

### 4.3. Usporedba promjena u odgovoru renalnoga simpatičkog i freničkog živca u naknadnim hipoksijskim epizodama i oporavku

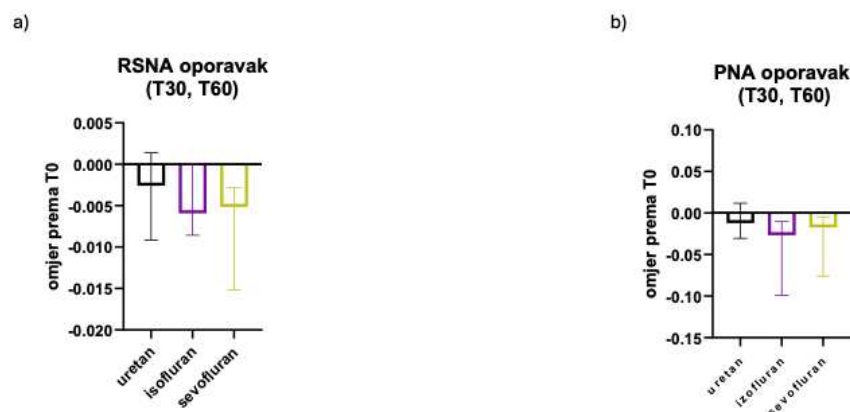
Odgovori od druge do pete hipoksijske epizode modelirani su linearnom regresijom za svaku pokusnu životinju, a nagibi modela korišteni su za daljnje usporedbe. Kad se analizira dinamika odgovora RSNA od druge do pete epizode hipoksije ne nalazi se značajan trend, tj. nagibi svih skupina su centrirani oko 0 (Slika 10a).

Iako je u uretanskoj skupini zabilježena dinamika smanjenja odgovora RSNA prema posljednjoj hipoksijskoj epizodi protokola AIH (Slika 10a), zabilježene promjene nisu bile statistički značajne, vjerojatno zbog velike raspršenosti analiziranih podataka. S druge strane, PNA se smanjivala u sve tri promatrane skupine, s najbržim smanjenjem odgovora u uretanskoj skupini (-0,82 puta promjena po epizodi hipoksije; 95% CI -1,79 do -0,37;  $p = 0,002$ ), koju slijedi izofluranska (-0,7 puta promjena po epizodi hipoksije; 95% CI -4,8 do -0,3;  $p = 0,027$ ) i potom sevofluranska skupina (-0,37 puta promjena po epizodi hipoksije; 95% CI -0,84 do -0,17;  $p = 0,043$ ) (Slika 10b). Pri usporedbi RSNA i PNA između zadnje epizode hipoksije i T15, nisu primijećene značajne razlike, kao ni u dinamici između točaka oporavka.



**Slika 10.** Omjer promjene u odnosu na početne vrijednosti (T0) u **(a)** aktivnosti renalnoga simpatičkog živca (RSNA) i **(b)** aktivnosti freničkog živca (PNA) tijekom druge do pete epizode hipoksije (TH2-TH5) u skupinama koje su bile izložene uretanu, izofluranu i sevofluranu. Podaci su izraženi kao omjer promjene u aktivnosti živca za promatrane vremenske točke.

Aktivnost RSNA i PNA u točkama T30 i T60, izmodelirana je kao što je opisano na početku podnaslova, i njihova aktivnost se smanjivala u većine životinja u svim skupinama. RSNA se smanjila u sve tri skupine za svega nekoliko tisućinki i nije bilo značajne razlike između pojedinih anestetika ( $p = 0,602$ ; Slika 11). Nadalje, u PNA razlike između pojedinih anestetika bile su reda veličine nekoliko stotinki ( $p = 0,529$ ; Slika 11).



**Slika 11.** Omjer promjene u odnosu na početne vrijednosti (T0) u **(a)** aktivnosti renalnoga simpatičkog živca (RSNA) i **(b)** aktivnosti freničkog živca (PNA) 30 minuta (T30) i 60 minuta (T60) nakon izlaganja protokolu akutne ponavljane hipoksije u skupinama koje su bile izložene uretanu, izofluranu i sevofluranu. Podaci su izraženi kao omjer promjene u aktivnosti živca za promatrane vremenske točke te su prikazani su kao medijan i interkvartilni raspon.

#### 4.4. Promjene srednjega arterijskog tlaka i acidobaznog statusa

U početnim uvjetima, MAP je bio značajno nižih vrijednosti u izofluranskoj skupini u usporedbi s uretanskom skupinom ( $82,1 \pm 5,0$  mmHg naspram  $98,5 \pm 3,7$  mmHg,  $p = 0,033$ ; Tablica 1). U sevofluranskoj skupini nisu zabilježene značajne promjene u MAP-u tijekom izlaganja protokolu AIH. Međutim, u izofluranskoj skupini izlaganje AIH-u rezultiralo je značajnim sniženjem vrijednosti MAP-a tijekom TH3 i TH4 (TH3:  $61,5 \pm 6,1$  mmHg,  $p = 0,020$ ; TH4:  $60,5 \pm 6,4$  mmHg,  $p = 0,038$ ) u usporedbi s početnim uvjetima (T0:  $82,1 \pm 5,0$  mmHg; Tablica 1). U uretanskoj skupini, značajno sniženje vrijednosti MAP-a primijećeno je tijekom TH3-TH5 (TH3:  $77,2 \pm 5,2$  mmHg,  $p = 0,046$ ; TH4:  $72,9 \pm 5,1$  mmHg,  $p = 0,013$ ; TH5:  $72,9 \pm 5,6$  mmHg,  $p = 0,021$ ) u usporedbi s početnim vrijednostima (T0:  $98,5 \pm 3,7$  mmHg; Tablica 1). U promatranoj točki T15, nisu primijećene značajne razlike u MAP-u u usporedbi s početnim vrijednostima za sve ispitivane skupine, kao ni u ostalim vremenskim točkama oporavka.

**Tablica 1.** Vrijednosti srednjeg arterijskog tlaka (mmHg) tri skupine u početnim uvjetima (T0), tijekom pet hipoksijskih epizoda (TH1-TH5) te 15 minuta (T15), 30 minuta (T30) i 60 minuta (T60) nakon izlaganja protokolu akutne ponavljane hipoksije.

|            | T0               | T15             | T30             | T60             |
|------------|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Uretan     | $98,5 \pm 3,7$   | $106,2 \pm 4,7$ | $102,6 \pm 4,4$ | $100,9 \pm 5,5$ |
| Sevofluran | $90,5 \pm 2,6$   | $89,1 \pm 4,1$  | $85,7 \pm 5,9$  | $74,4 \pm 7,7$  |
| Izofluran  | $82,1 \pm 5,0^a$ | $87,4 \pm 6,4$  | $83,2 \pm 7,4$  | $87,8 \pm 6,4$  |

|            | TH1                    | TH2                    | TH3                        | TH4                        | TH5                        |
|------------|------------------------|------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| Uretan     | $81,8 \pm 6,8^\dagger$ | $76,2 \pm 6,4^\dagger$ | $77,2 \pm 5,2^{*,\dagger}$ | $72,9 \pm 5,1^{*,\dagger}$ | $72,9 \pm 5,6^{*,\dagger}$ |
| Sevofluran | $73,6 \pm 8,9$         | $76,5 \pm 8,8$         | $64,7 \pm 10,0$            | $69,1 \pm 7,6$             | $72,9 \pm 9,2$             |
| Izofluran  | $62,3 \pm 8,5$         | $62,1 \pm 7,7$         | $61,5 \pm 6,1^{*,\dagger}$ | $60,5 \pm 6,4^{*,\dagger}$ | $61,7 \pm 5,9$             |

Vrijednosti su prikazane kao srednja vrijednost  $\pm$  SEM,

\* značajno različito u odnosu na vrijednosti zabilježene u početnim uvjetima ( $p < 0,05$ ; analiza varijance za ponavljana mjerenja unutar skupine)

† značajno različito u odnosu na vrijednosti zabilježene u točki T15 ( $p < 0,05$ ; analiza varijance za ponavljana mjerenja unutar skupine)

<sup>a</sup> značajno različito u odnosu na vrijednosti u uretanskoj skupini ( $p < 0,05$ ; jednosmjerna analiza varijance između skupina)

Nadalje, nisu zabilježene značajne razlike u pH i  $P_aO_2$  između početnih vrijednosti i vrijednosti u T15 u svakoj ispitivanoj skupini (Tablica 2). Vrijednost pH u točki T60 bila je značajno viša u prosjeku za  $0,07 \pm 0,03$  ( $p = 0,017$ ) pri uretanskoj anesteziji, dok nije bilo značajnih razlika u ostalim vremenskim točkama. Za preostala dva anestetika nije bilo statistički značajne razlike u promatranim vremenskim točkama. U točki T0 pH u uretanskoj skupini bio je za  $0,07 \pm 0,03$  ( $p = 0,034$ ) u prosjeku manji kad se uspoređi sa



sevofluranom, a isto se može apostrofirati i za točku T15, T30 i T60. Nadalje, u vremenskim točkama T15 i T30 izofluranska skupina imala je viši pH u odnosu na sevofluransku (Tablica 2a). Vrijednost  $P_aCO_2$  bila je niža u T15 u usporedbi s početnim vrijednostima u uretanskoj skupini ( $52,0 \pm 1,7$  mmHg naspram  $48,3 \pm 2,0$  mmHg,  $p = 0,045$ ; Tablica 2b), dok u izofluranskoj i sevofluranskoj skupini nisu primijećene značajne promjene  $P_aCO_2$ . Što se tiče  $P_aO_2$ , nije bilo značajnih razlika po vremenskim točkama i između anestetika, osim u točki T60 kad je uretanska skupina u prosjeku zabilježila smanjenje  $P_aO_2$  za  $35,06 \pm 13$  mmHg u odnosu na sevofluransku skupinu ( $p = 0,023$ ; Tablica 2c).

**Tablica 2.** Vrijednosti pH i parcijalnih tlakova ugljikovog dioksida ( $P_aCO_2$ , mmHg) i kisika ( $P_aO_2$ , mmHg) u početnim uvjetima (T0), tijekom pet hipoksijskih epizoda (TH1-TH5) te 15 minuta (T15), 30 minuta (T30) i 60 minuta (T60) nakon izlaganja protokolu akutne ponavljane hipoksije u promatrane tri skupine: uretanskoj, izofluranskoj i sevofluranskoj.

|                             | T0                 | T15                   | T30                   | T60                  |
|-----------------------------|--------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------|
| <b>pH</b>                   |                    |                       |                       |                      |
| Uretan                      | $7,3 \pm 0,04^c$   | $7,28 \pm 0,05^c$     | $7,26 \pm 0,05^c$     | $7,23 \pm 0,04^c$    |
| Sevofluran                  | $7,37 \pm 0,07^a$  | $7,36 \pm 0,05^{a,b}$ | $7,34 \pm 0,06^{a,b}$ | $7,31 \pm 0,07^a$    |
| Izofluran                   | $7,3 \pm 0,05$     | $7,28 \pm 0,06^c$     | $7,25^c \pm 0,07$     | $7,24 \pm 0,06$      |
| <b><math>P_aCO_2</math></b> |                    |                       |                       |                      |
| Uretan                      | $51,95 \pm 5,48$   | $48,33 \pm 6,64^*$    | $49,26 \pm 7,88$      | $51,35 \pm 6,86$     |
| Sevofluran                  | $51,18 \pm 3,76$   | $49,5 \pm 5,83$       | $48,72 \pm 6,35$      | $55,12 \pm 7,93$     |
| Izofluran                   | $51,4 \pm 3,63$    | $50,32 \pm 3,42$      | $50,08 \pm 4,16$      | $55,88 \pm 10,97$    |
| <b><math>P_aO_2</math></b>  |                    |                       |                       |                      |
| Uretan                      | $263,86 \pm 19,43$ | $261,62 \pm 20,71$    | $252,76 \pm 21,64$    | $253,3 \pm 13,5^c$   |
| Sevofluran                  | $274,35 \pm 29,88$ | $265,78 \pm 29,85$    | $259,48 \pm 51,96$    | $288,37 \pm 32,95^a$ |
| Izofluran                   | $277,72 \pm 21,89$ | $281,3 \pm 17,27$     | $278,77 \pm 19,57$    | $274,95 \pm 20,58$   |

\* značajno različito u odnosu na početnu vrijednost ( $p < 0,05$ ; analiza varijance za ponavljana mjerenja unutar skupine)

<sup>a</sup> značajno različito u odnosu na vrijednost u uretanskoj skupini ( $p < 0,05$ ; dvosmjerna analiza varijance s Tukey post hoc testom)

<sup>b</sup> značajno različito u odnosu na vrijednost u izofluranskoj skupini ( $p < 0,05$ ; dvosmjerna analiza varijance s Tukey post hoc testom)

<sup>c</sup> značajno različito u odnosu na vrijednost u sevofluranskoj skupini ( $p < 0,05$ ; dvosmjerna analiza varijance s Tukey post hoc testom)

#### 4.5. Promjene srčane frekvencije prije, tijekom i nakon eksperimentalnog protokola

Promatrajući promjene u srčanoj frekvenciji, životinje anestezirane sevofluranom su u početnim uvjetima (T0) imale u prosjeku za približno 110 otkucaja nižu srčanu frekvenciju od životinja koje su bile anestezirane uretanom te za približno 40 otkucaja u odnosu na štakore anestezirane izofluranom (Tablica 3).

**Tablica 3.** Srčana frekvencija (otkucaji/min) u početnim uvjetima (T0), tijekom pet hipoksijskih epizoda (TH1-TH5) te 15 minuta (T15), 30 minuta (T30) i 60 minuta (T60) nakon izlaganja protokolu akutne ponavljane hipoksije u promatrane tri skupine: uretanskoj, izofluranskoj i sevofluranskoj.

|            | T0                          | T15          | T30          | T60          |
|------------|-----------------------------|--------------|--------------|--------------|
| Uretan     | 358,0 ± 3,9                 | 344,9 ± 4,8  | 348,3 ± 3,0  | 343,0 ± 4,6  |
| Sevofluran | 248,9 ± 14,0 <sup>a,b</sup> | 237,7 ± 14,8 | 238,1 ± 15,4 | 236,5 ± 16,7 |
| Izofluran  | 284,8 ± 7,4 <sup>a</sup>    | 286,9 ± 9,5  | 287,3 ± 8,6  | 283,2 ± 6,8  |

|            | TH1          | TH2          | TH3          | TH4          | TH5          |
|------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| Uretan     | 354,6 ± 7,6  | 352,5 ± 3,6  | 346,3 ± 3,2  | 346,0 ± 4,4  | 343,3 ± 4,7  |
| Sevofluran | 250,7 ± 13,4 | 243,3 ± 12,5 | 241,3 ± 12,7 | 240,6 ± 12,9 | 238,4 ± 14,8 |
| Izofluran  | 281,1 ± 7,7  | 278,3 ± 7,7  | 275,9 ± 7,3  | 276,3 ± 7,5  | 278,9 ± 7,4  |

Vrijednosti su prikazane kao srednja vrijednost ± SEM.

<sup>a</sup> značajno različito u odnosu na vrijednost u uretanskoj skupini ( $p < 0,001$ ; jednosmjerna analiza varijance između skupina)

<sup>b</sup> značajno različito u odnosu na vrijednost u izofluranskoj skupini ( $p < 0,001$ ; jednosmjerna analiza varijance između skupina)

#### 4.6. Promjene respiracijskih parametara prije, tijekom i nakon eksperimentalnog protokola

U početnim uvjetima (T0) uretanska skupina demonstrirala je povećanu frekvenciju disanja u odnosu na inhalacijske anestetike koja je primarno bila praćena kraćim izdisajem, a posljedično i kraćim ukupnim respiracijskim ciklusom. U točkama T15, T30 i T60 nije bilo statistički značajnih razlika. U vremenskim točkama TH1 do TH5 zamijećene razlike su bile prvenstveno unutar uretanske skupine, gdje je zabilježeno skraćivanje vremena izdisaja i ukupnog trajanja respiracijskog ciklusa, što je bilo popraćeno povećanom frekvencijom disanja (Tablica 4).

**Tablica 4.** Promjene respiracijskih parametara ( $T_i$ ,  $T_e$ ,  $T_{tot}$  i Frekv) u uretanskoj, sevofluranskoj i izofluranskoj skupini u svim vremenskim točkama pokusa.

|                   | T0                          | T15                            | T30                            | T60                            |                                |
|-------------------|-----------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| <b>Uretan</b>     |                             |                                |                                |                                |                                |
| $T_i$             | 0,60 ± 0,03 <sup>c</sup>    | 0,83 ± 0,20                    | 0,61 ± 0,02                    | 0,54 ± 0,02                    |                                |
| $T_e$             | 0,85 ± 0,06 <sup>b,c</sup>  | 0,97 ± 0,05                    | 1,05 ± 0,15                    | 0,87 ± 0,06                    |                                |
| $T_{tot}$         | 1,45 ± 0,06 <sup>b,c</sup>  | 1,80 ± 0,18                    | 1,66 ± 0,15                    | 1,40 ± 0,06                    |                                |
| Frekv             | 42,50 ± 2,18 <sup>b,c</sup> | 38,33 ± 1,64                   | 38,45 ± 2,09                   | 44,75 ± 2,60                   |                                |
| <b>Sevofluran</b> |                             |                                |                                |                                |                                |
| $T_i$             | 0,40 ± 0,01 <sup>a,b</sup>  | 0,55 ± 0,10                    | 0,57 ± 0,07                    | 0,45 ± 0,03                    |                                |
| $T_e$             | 2,14 ± 0,34 <sup>a,b</sup>  | 2,72 ± 0,91                    | 2,91 ± 0,81                    | 2,12 ± 0,39                    |                                |
| $T_{tot}$         | 2,53 ± 0,34 <sup>a,b</sup>  | 3,27 ± 1,01                    | 3,48 ± 0,87                    | 2,57 ± 0,41                    |                                |
| Frekv             | 25,50 ± 2,66 <sup>a,b</sup> | 27,00 ± 2,12                   | 24,00 ± 4,14                   | 27,50 ± 1,63                   |                                |
| <b>Izofluran</b>  |                             |                                |                                |                                |                                |
| $T_i$             | 0,60 ± 0,04 <sup>c</sup>    | 0,49 ± 0,07                    | 0,50 ± 0,07                    | 0,48 ± 0,02                    |                                |
| $T_e$             | 3,53 ± 0,44 <sup>a,c</sup>  | 3,84 ± 0,62                    | 4,47 ± 1,01                    | 2,78 ± 0,63                    |                                |
| $T_{tot}$         | 4,13 ± 0,47 <sup>a,c</sup>  | 4,33 ± 0,64                    | 4,97 ± 1,05                    | 3,25 ± 0,65                    |                                |
| Frekv             | 15,00 ± 2,32 <sup>a,c</sup> | 15,00 ± 2,51                   | 14,40 ± 2,75                   | 21,00 ± 3,15                   |                                |
|                   | TH1                         | TH2                            | TH3                            | TH4                            | TH5                            |
| <b>Uretan</b>     |                             |                                |                                |                                |                                |
| $T_i$             | 0,44 ± 0,02 <sup>‡</sup>    | 0,43 ± 0,02 <sup>*‡</sup>      | 0,44 ± 0,01 <sup>*‡</sup>      | 0,44 ± 0,02 <sup>*‡</sup>      | 0,45 ± 0,02 <sup>*‡</sup>      |
| $T_e$             | 0,80 ± 0,06                 | 0,75 ± 0,03 <sup>†‡</sup>      | 0,70 ± 0,03 <sup>†‡</sup>      | 0,66 ± 0,04 <sup>†‡</sup>      | 0,67 ± 0,04 <sup>†‡</sup>      |
| $T_{tot}$         | 1,24 ± 0,06                 | 1,18 ± 0,02 <sup>*‡,‡</sup>    | 1,15 ± 0,02 <sup>*‡,‡</sup>    | 1,11 ± 0,02 <sup>*‡,‡</sup>    | 1,11 ± 0,03 <sup>*‡,‡</sup>    |
| Frekv             | 50,00 ± 2,07 <sup>†</sup>   | 51,75 ± 1,18 <sup>*†,‡,‡</sup> | 53,50 ± 1,22 <sup>*†,‡,‡</sup> | 54,75 ± 1,18 <sup>*†,‡,‡</sup> | 55,25 ± 1,19 <sup>*†,‡,‡</sup> |
| <b>Sevofluran</b> |                             |                                |                                |                                |                                |
| $T_i$             | 0,41 ± 0,01                 | 0,40 ± 0,01                    | 0,40 ± 0,01                    | 0,41 ± 0,01                    | 0,41 ± 0,02                    |
| $T_e$             | 1,35 ± 0,11                 | 1,25 ± 0,07                    | 1,27 ± 0,06                    | 1,24 ± 0,05                    | 1,57 ± 0,34                    |
| $T_{tot}$         | 1,75 ± 0,11                 | 1,66 ± 0,07                    | 1,66 ± 0,06                    | 1,65 ± 0,05                    | 1,97 ± 0,33                    |
| Frekv             | 34,50 ± 2,01                | 36,00 ± 1,34                   | 36,50 ± 1,43                   | 36,00 ± 1,55                   | 33,50 ± 3,41                   |
| <b>Izofluran</b>  |                             |                                |                                |                                |                                |
| $T_i$             | 0,49 ± 0,02                 | 0,49 ± 0,02                    | 0,49 ± 0,03                    | 0,46 ± 0,02                    | 0,48 ± 0,03                    |
| $T_e$             | 1,85 ± 0,26                 | 1,80 ± 0,20                    | 1,94 ± 0,30                    | 1,93 ± 0,26                    | 1,94 ± 0,30                    |
| $T_{tot}$         | 2,34 ± 0,26                 | 2,29 ± 0,20                    | 2,43 ± 0,29                    | 2,39 ± 0,25                    | 2,42 ± 0,28                    |
| Frekv             | 27,00 ± 2,79                | 27,00 ± 1,90                   | 25,50 ± 2,16                   | 26,50 ± 1,80                   | 25,50 ± 2,29                   |

Vrijednosti su izražene u sekundama (srednja vrijednost ± standardna pogreška), osim frekvencije koja je izražena kao broj udisaja u jednoj minuti.  $T_i$ : trajanje udisaja,  $T_e$ : trajanje izdisaja,  $T_{tot}$ : trajanje cijelog respiracijskog ciklusa, Frekv: frekvencija disanja. T0: početne vrijednosti prije početka prve hipoksijske epizode, TH1–TH5: pet hipoksijskih epizoda, T15, T30 i T60: 15, 30 i 60 minuta nakon zadnje hipoksijske epizode.

\* značajno različito u odnosu na početnu vrijednost ( $p < 0.05$ ; analiza varijance za ponavljana mjerenja unutar skupine)

† značajno različito u odnosu na T15 ( $p < 0.05$ ; analiza varijance za ponavljana mjerenja unutar skupine)

‡ značajno različito u odnosu na T30 ( $p < 0.05$ ; analiza varijance za ponavljana mjerenja unutar skupine)

# značajno različito u odnosu na T60 ( $p < 0.05$ ; na za ponavljana mjerenja unutar skupine)

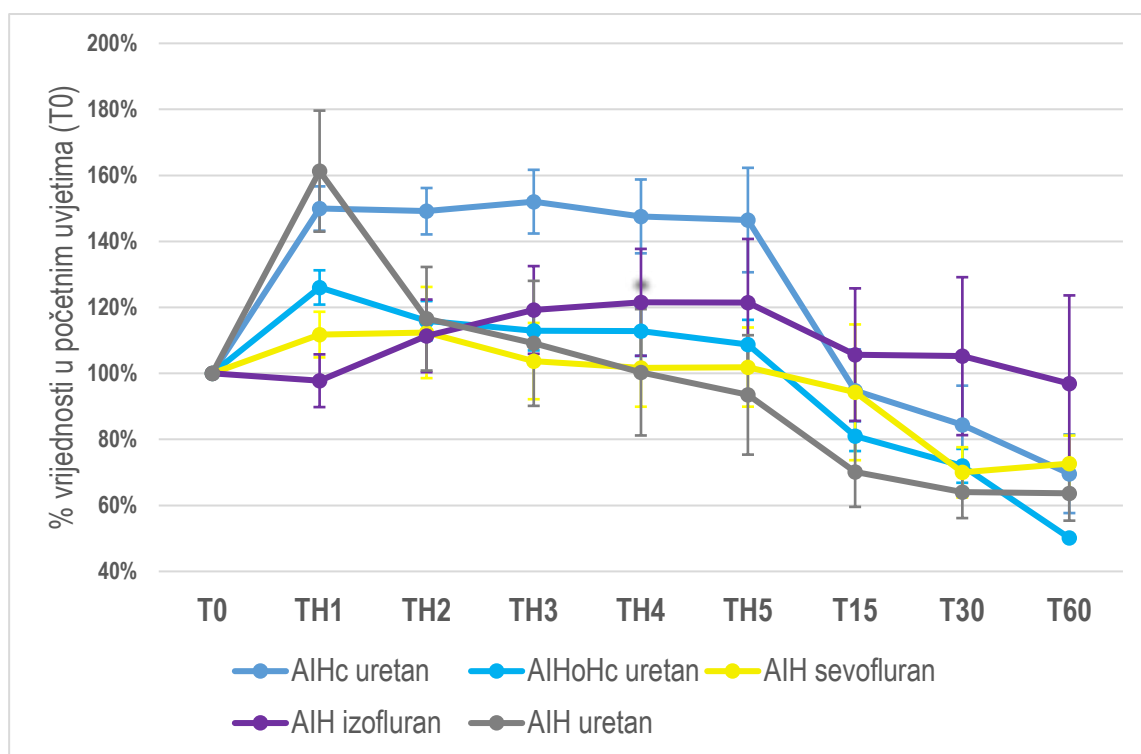
<sup>a</sup> značajno različito u odnosu na vrijednost u uretanskoj skupini ( $p < 0,001$ ; jednosmjerna analiza varijance između skupina)

<sup>b</sup> značajno različito u odnosu na vrijednost u izofluranskoj skupini ( $p < 0,001$ ; jednosmjerna analiza varijance između skupina)

<sup>c</sup> značajno različito u odnosu na vrijednost u sevofluranskoj skupini ( $p < 0,001$ ; jednosmjerna analiza varijance između skupina)

#### 4.7. Promjene u učincima hipoksijskih i hiperkapnijskih podražaja na simpatički sustav uz hiperoksijsku pozadinu tijekom izlaganja inhalacijskoj anesteziji

Odgovor RSNA bio je najveći u prvom podražaju u uretanskoj hipoksijskoj skupini, ali je bio prisutan trend smanjenja odgovora prema posljednjoj hipoksijskoj epizodi. Međutim, odgovor na hipoksiju smanjivao se prema zadnjoj epizodi, dok je odgovor na hiperkapniju ostao očuvan tijekom svih pet hiperkapnijskih epizoda, iako je hiperkapnijski odgovor bio manji u skupini koja je tijekom podražaja, ali i tijekom oporavka, bila izložena hiperoksiji (Slika 12).



**Slika 12.** Usporedba odgovora RSNA na podražaj značajnom hiperkapnijom (15% CO<sub>2</sub>) s hiperoksijom u pozadini na uretanskoj anesteziji i značajnom hipoksijom (9% O<sub>2</sub>) s hiperoksijom u pozadini na uretanskoj, sevofluranskoj i izofluranskoj anesteziji. AIHc: protokol akutne ponavljane hiperkapnije, AIHoHc: protokol akutne ponavljanje hiperkapnije s hiperoksijom u razdobljima oporavka, AIH sevofluran: protokol akutne ponavljane hipoksije za vrijeme izloženosti sevofluranom, AIH izofluran: protokol akutne ponavljane hipoksije za vrijeme izloženosti izofluranom, AIH uretan: protokol akutne ponavljane hipoksije za vrijeme izloženosti uretanu.

## **5. RASPRAVA**

Ova doktorska disertacija obuhvaća učinke inhalacijskih anestetika na simpatičku i respiracijsku aktivnost u životinjskom modelu štakora koji su bili izloženi kratkim repetitivnim epizodama hipoksije tijekom protokola akutne ponavljane hipoksije, uz istovremeno snimanje aktivnosti renalnoga simpatičkog i freničkog živca.

Središnji nalaz istraživanja jest da korišteni inhalacijski anestetici, izofluran i sevofluran, prigušuju odgovor RSNA za vrijeme izloženosti prvoj epizodi hipoksije tijekom protokola AIH. Štoviše, tijekom naknadnih epizoda akutne ponavljane hipoksije, simpatički odgovor ostao je smanjen, čak i u uvjetima hiperoksijske pozadine pri ekvivalentnom MAC-u. Opisujući uočene respiracijske promjene, monoanestezija inhalacijskim agensima izazvala je značajno povećanje PNA tijekom prve hipoksijske epizode, a zapaženi odgovor očuvan je i u promatranim kasnijim hipoksijskim epizodama. Slijedom navedenog, rezultati ukazuju kako je tijekom protokola izloženosti akutnoj intermitentnoj hipoksiji odgovor respiracijskog sustava bio bolje očuvan u usporedbi s odgovorom simpatičkog sustava istodobno zabilježenih u iste pokusne životinje za vrijeme inhalacijske anestezije.

### **5.1. Učinak akutne ponavljane hipoksije na aktivnost renalnoga simpatičkog i freničkog živca tijekom primjene inhalacijske anestezije**

Izlaganje ponavljanim hipoksijskim podražajima detaljno je istraživano model za proučavanje učinaka hipoksije na različite organske sustave, s primarnom svrhom repliciranja karakterističnih epizoda apneja tijekom spavanja. Eksperimentalni model pruža uvid u mehanizme djelovanja OSA-e gdje su patofiziološki temelj istraživanja ponavljane višestruke desaturacije u arterijskoj krvi koje pogoduju razvoju brojnih kardiovaskularnih i metaboličkih poremećaja (59,240). Pokazano je kako akutna izloženost ponavljanoj hipoksiji izaziva pobuđenost respiracijskog i simpatičkog odgovora te može biti podlogom za razvoj dugoročnih promjena u respiracijskom, ali i u simpatičkom sustavu (131,132,160,161,221,241). Dugoročne promjene simpatičkih neuronskih puteva izazvanih AIH-om proizlaze iz sinergističkih djelovanja između respiracijskih i simpatičkih kontrolnih regulacijskih centara. Također, dugoročne promjene simpatičke aktivnosti mogu se potaknuti i neovisnim putevima kroz povećanje simpatičkog tonusa tijekom izlaganja štetnom podražaju poput korištenog protokola AIH (132,170,242,243). Međutim, unatoč brojnim provedenim istraživanjima, međudjelovanje između respiracijskog i simpatičkog sustava tijekom izlaganja ponavljanoj hipoksiji ostaje nejasno.

Nalazi ove doktorske disertacije otvaraju mogućnost analiziranja odgovora respiracijskog sustava na način da ga se može promatrati kao otporniji sustav u odnosu na renalnu komponentu simpatičkoga živčanog sustava tijekom istovremene izloženosti oba sustava ponavljanim akutnim hipoksijskim epizodama s hiperoksijskom pozadinom u razdobljima oporavka. Nadalje, pri razmatranju te teze treba uzeti u obzir kako postoje znanstveni dokazi kako inhalacijski anestetici održavaju postojanim respiracijski odgovor, mjeren putem izravnog snimanja PNA, za vrijeme izlaganja ponavljanim hipoksijskim podražajima pri ekvivalentnim MAC vrijednostima izoflurana i sevoflurana (161). Suprotno od aktivnosti respiracijskog sustava, studije koje su promatrale učinke inhalacijskih anestetika na aktivnost simpatičkih živaca iznjedrile su različite kontradiktorne rezultate. Osim halotana, koji može izrazito deprimirati RSNA, drugi inhalacijski anestetici, poput enflurana, izoflurana i desflurana, obično pokazuju bifazični obrazac aktivnosti karakteriziran simpatoekscitacijom pri udahnutim koncentracijama manjim od 1,5 MAC-a te simpatodepresijom pri višim koncentracijama, tj. iznad 2,5 MAC-a (236,239,244,245). Detaljnije, sevofluran je producirao simpatoekscitacijski odgovor ili se uopće nije mogla zapaziti promjena živčane aktivnosti promatrajući RSNA (237,238,246,247).

Iako su učinci inhalacijskih anestetika na simpatički i respiracijski sustav već dugo vremena predmetom opsežnih istraživanja (233-235), odgovor simpatičkog sustava na AIH u životinja pod anestezijom inhalacijskim anesticima još uvijek nije u potpunosti razjašnjen. U ovom istraživanju, izofluran i sevofluran prigušili su odgovor RSNA na ponavljane hipoksijske podražaje pri ekvivalentnim MAC vrijednostima. Poput prethodnih istraživanja, također i u ovoj doktorskoj disertaciji korištene su vrijednosti od 1,4 MAC-a, koje su se pokazale sigurnom razinom za dovoljnu dubinu anestezije tijekom kirurških zahvata na štakorskom modelu (161,221). Također, pri primijenjenom MAC-u pokazalo se kako inhalacijski anestetici suprimiraju, ali istovremeno održavaju kemorefleks i barorefleks aktivnim u njihovim refleksnim učincima (248). Opisani rezultat kako je RSNA prigušena tijekom izlaganja protokolu AIH tijekom inhalacijske anestezije mogao bi imati potencijalne kliničke implikacije. Poznato je kako RSNA ima važnu ulogu u perioperativnom razdoblju s obzirom da na njenu aktivnost inhalacijski anestetici mogu imati neposredan i neovisan učinak u odnosu na brojna ciljna mjesta djelovanja u SŽS-u (249). Međutim, suprotno životinjskim modelima, u ljudi je nemoguće izravno izmjeriti aktivnost RSNA, ali dostupna neizravna mjerenja ukazuju kako inhalacijski anestetici smanjuju razinu neurotransmitera, prvenstveno noradrenalina, i dovode do globalnoga

depresivnog učinka na periferni simpatički živčani sustav (236,246). Nadalje, još jednom je istaknuta specifičnost regulacije perifernoga simpatičkog sustava naglašavajući složeni učinak inhalacijskih anestetika na pojedine simpatičke živce na način da mogu povećati RSNA, dok istovremeno mogu inhibirati aktivnost drugih perifernih simpatičkih živaca poput CSNA i LSNA (236). Također, u životinjskim studijama često je zabilježeno povećanje RSNA za vrijeme izloženosti inhalacijskim anesticima (236,246,249), dok rezultati ove doktorske disertacije ukazuju kako je RSNA prigušena pod njihovim utjecajem. Objašnjenje gore navedene tvrdnje treba promatrati u kontekstu istovremene izloženosti protokolu AIH koji također može mijenjati odgovor RSNA. Nadalje, promjene u renalnom protoku krvi izazvane promjenama RSNA mogu imati značajan učinak na ekskrecijsku funkciju i oksigenaciju tkiva bubrega što može pridonositi razvoju akutnog oštećenja bubrega u perioperativnom razdoblju (249). Dodatno, u životinjskim modelima inhalacijski anestetici mogu djelovati na RAS, a da se pritom istovremeno ne upliću u oslobađanje arginin-vazopresina, što posljedično dovodi do smanjene diureze i natriureze u ranom postoperativnom oporavku. Također, povećana RSNA posreduje u procesima zadržavanja natrija i tubularne vode induciranih učincima inhalacijskih anestetika (246). Svi opisani učinci potencijalno bi mogli utjecati na izbor anestetika za određene skupine pacijenata, kao i pojedine vrste kirurških zahvata, no potrebna su daljnja istraživanja kako bi se procijenila stvarna klinička relevantnost opisanih nalaza. Nadalje, bitno je naglasiti kako se povezanost respiracijskog i simpatičkog sustava razlikuje ovisno o perifernom živcu koji je predmetom istraživanja, korištenoj životinjskoj vrsti, kao i primijenjenom eksperimentalnom modelu (250).

Ranije je dokazano kako sevofluran i izofluran rade depresiju respiracijskog sustava, točnije suprimiraju pojavu pLTF-a nakon izlaganja protokolu (161). Također, analizirajući dugoročne učinke protokola AIH, sLTF je moguće izazvati bez istovremene pojave pLTF-a, što ukazuje kako simpatički sustav posjeduje svoju vlastitu toničku aktivnost (132,165). U studijama koje samo promatraju učinak protokola AIH na simpatički i respiracijski sustav bez korištenja inhalacijskih anestetika, zapaženo je kako ponavljana hipoksija potiče sinergističko ekscitacijsko djelovanje oba sustava (131,132,170). Uzimajući u obzir recipročnu povezanost neuronskih mreža unutar RVLM-a, koje generiraju simpatičke, ali i respiracijske neuronske puteve, izvjesno je kako štetni podražaji poput naglašene hipoksije mogu različito regulirati aktivnost respiracijskog i simpatičkog sustava. Dodatno, u doktorskoj disertaciji su korišteni inhalacijski anestetici koji imaju brojna ciljna mjesta



djelovanja i samim time dodatni utjecaj na međuaktivnost oba sustava, kao i na spomenute učinke intermitentne hipoksije na organizam. Nalazi doktorske disertacije podržavaju teoriju kako štakori anestetizirani inhalacijskim anestetikom, a istovremeno izloženi AIH-u, pokazuju očuvaniji respiracijski odgovor u usporedbi sa simpatičkim odgovorom. Uočene promjene u odgovorima PNA i RSNA za vrijeme inhalacijske anestezije mogle bi se tumačiti kao posljedica međudjelovanja inhalacijskih anestetika s neuronskim mrežama unutar kemorefleksnog sustava, posebno s neuronima moždanog debla koji su lokalizirani u rostralnijim dijelovima SŽS-a (234,250-253). Predložena mjesta djelovanja mogu se tražiti i u PVN jezgri, kao i signalnom sustavu hipofiznom adenilat ciklaznom aktivirajućem peptidu (engl. *pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide*, PACAP) koji mogu izravno utjecati na simpatičke odgovore tijekom izloženosti hipoksiji neovisno o istovremenoj aktivnosti respiracijskog sustava (254,255). Međutim, primijenjeni model ne može sa sigurnošću donijeti jasne zaključke o točnim mehanizmima djelovanja, s obzirom da polivalentnost učinaka inhalacijskih anestetika koji svoje učinke mogu producirati putem višestrukih neuronskih signalnih puteva u SŽS-u.

Prethodni izvještaji sugeriraju kako odgovori PNA i RSNA na aktivaciju kemorefleksa mogu ovisiti ne samo o jačini i vrsti ponavljano hipoksijskog podražaja, već i o korištenom obrascu reoksigenacije (256-259). Pokazano je kako hiperoksija ima minimalni učinak na snagu odgovora PNA, ali kako može značajno oslabiti simpatički odgovor na akutnu opstrukciju dišnih puteva kod štakora (258). U ovom istraživanju, AIH protokol proveden je upravo u uvjetima hiperoksije. Značajno povećanje RSNA u odnosu na vrijednosti u početnim uvjetima zabilježeno je samo tijekom prve epizode ponavljane hipoksije u kontrolnoj skupini anestetiziranoj uretanom. Nasuprot tome, u skupinama anestetiziranim inhalacijskim anestheticima, RSNA odgovor bio je prigušen tijekom cijelog protokola AIH. Primijenjena hiperoksija (50% O<sub>2</sub>) tijekom razdoblja oporavka mogla je utjecati na adaptaciju simpatičkog odgovora u kasnijim hipoksijskim epizodama u uretanskoj skupini, dok je pretpostavka kako početni simpatički odgovor na hipoksiju u skupinama s inhalacijskim anestheticima vjerojatno nije bio dovoljan snažan da izazove sličan obrazac zabilježene promjene. Za razliku od odgovora na hipoksiju, aktivnost RSNA na hiperkapnijski podražaj je ostala očuvana tijekom svih pet hiperkapnijskih epizoda, iako je hiperkapnijski odgovor bio manji u skupini koja je tijekom, ali i nakon protokola, bila izložena hiperoksiji. Za razliku od hipoksijskog podražaja, u hiperkapnijskom podražaju nisu korišteni inhalacijski anestetici koji su pokazali kako znatno prigušuju simpatički

odgovor u odnosu na uretansku anesteziju kada su izloženi protokolu AIH. Nadalje, životinjski model nam omogućuje istraživati simpatičku aktivnost renalnog živca pri izoliranim štetnim podražajima poput izolirane hipoksije ili hiperkapnije što na ljudima ne možemo izravno mjeriti. Iako je teško napraviti translaciju navedenih uvjeta na svakodnevnu kliničku praksu, potencijalni klinički značaj hiperoksije također bi se mogao razmatrati u činjenici kako se upravo za održavanje anestezije koriste često inhalacijski anestetici i to u pravilu uz hiperoksijske uvjete za vrijeme trajanja anestezioloških procedura (175-179). Zaključno, inhalacijski anestetici mogli bi imati u perioperativnom razdoblju blagotvorniji učinak na simpatički sustav i ravnotežu tjelesnih tekućina posebno u specifičnih kategorija pacijenata, poput kroničnih bubrežnih i srčanih bolesnika, kao i pacijenata koji boluju od OSA-e.

## **5.2. Učinak akutne ponavljane hipoksije na održavanje vrijednosti srednjeg arterijskog tlaka i acidobazne ravnoteže tijekom primjene inhalacijske anestezije**

S obzirom na činjenicu kako je u eksperimentu upotrebljavana monoanestezija sevofluranom ili izofluranom važno je uzeti u obzir i njen učinak na MAP, što može potencijalno utjecati na smanjenje vrijednosti MAP-a (260). Dodatno, i protokol AIH može smanjiti vrijednosti MAP-a izravnim djelovanjem na krvne žile putem vazodilatacije (261,262). Slijedom navedenog, kombinirani učinak na MAP inhalacijskih anestetika i štetnih podražaja, poput hipoksije, potencira opažanje kako bi smanjeni MAP mogao utjecati na respiracijske silazne puteve, kao i na odgovor simpatičkih neuronskih puteva. Ovakva premisa u skladu je s prethodnim studijama koje su pokazale da izloženost istovjetnom AIH protokolu može dovesti do značajnog smanjenja MAP-a tijekom ponavljanih hipoksijskih epizoda (161,241,259). Učinak se zapaža kao posljedica zajedničkog učinka hipoksijskog podražaja i višestrukih učinaka inhalacijske anestezije. Ipak, sagledavajući složenost cjelokupnog eksperimenta nije moguće precizno odrediti relativni doprinos pojedinih opisanih čimbenika na promjene vrijednosti MAP-a (260,261). Nadalje, hipoksijski podražaj i korištena inhalacijska anestezija mogu aktivirati barorefleks s ciljem povećanja simpatičkih impulsa prema perifernim ciljnim organima. Međutim, točno mjesto učinka inhalacijskih anestetika na baroreceptorsko djelovanje ostaje nejasno. Moguće je pretpostaviti da se opisane promjene opažaju zbog vjerojatne smanjene

osjetljivosti aornih baroreceptora, ali i zbog prisutne depresije u silaznom putu barorefleksa na razini simpatičkih ganglija ili SŽS-a (263). Analizirajući vrijednosti MAP-a u ovom istraživanju prisutan je trend smanjenja vrijednosti tijekom kratkih ponavljanih epizoda hipoksije u uretanskoj i izofluranskoj skupini. Međutim, u svim proučavanim skupinama MAP se vratio na početne vrijednosti nakon izlaganja protokolu AIH.

U provedenom istraživanju analiziran je acidobazni status u arterijskoj krvi životinja te je potom određen apnejički prag na način da se isti valorizirao vrijednošću  $P_aCO_2$  pri kojoj bi se izgubio signal freničkog živca. Prestanak aktivnosti freničkog živca smatrao se jednakim prestanku disanja ili prisutnosti apneje. Kao i u prethodnim studijama koje su promatrale respiracijsku aktivnost freničkog živca, razina  $P_aCO_2$  2-4 mmHg iznad apnejičkog praga smatrana je zadovoljavajućom kako bi se stabilizirao kvalitetan signal za vrijeme trajanja pokusa (161,221). U sve tri promatrane skupine izokapnija je bila nužan uvjet za provedbu eksperimenta i uspijevala se održavati konstantnom uz sitne korekcije, najčešće u izofluranskoj skupini, koje nisu imale važniji utjecaj na provedbu eksperimenta i iste su bile zadovoljavajuće za održavanje signala freničkog živca.

### **5.3. Učinak akutne ponavljane hipoksije na vrijednosti srčane frekvencije tijekom primjene inhalacijske anestezije**

Zabilježene vrijednosti srčane frekvencije u Sprague-Dawley štakora, u svih 9 promatranih vremenskih točaka, smanjuju se pod utjecajem inhalacijskih anestetika sevoflurana i izoflurana u odnosu na kontrolnu uretansku skupinu. Opisani rezultati su u skladu s nalazima drugih studija i podupiru teoriju stabilnih hemodinamskih svojstava uretana koji minimalno utječe na hemodinamsku stabilnost, a pritom i na srčanu frekvenciju (264). Nasuprot tome, inhalacijski anestetici kao što su sevofluran i izofluran, poznati su po svom učinku produciranja depresije autonomnog živčanog sustava, uključujući smanjenje srčane frekvencije, prvenstveno putem složenih inhibicijskih međudjelovanja sa SŽS-om (175-179). Inhalacijski anestetici, kako se pretpostavlja, mogu djelovati i na ionske kanale i neurotransmitere u mozgu, čime moduliraju autonomne funkcije, uključujući i regulaciju promatrane srčane frekvencije (175-179).

Pri zadanoj koncentraciji od 1,4 MAC-a, opažena je nešto manja srčana frekvencija za vrijeme uporabe sevoflurana u usporedbi s izofluranskom skupinom, što se može objasniti različitim farmakokinetičkim svojstvima inhalacijskih anestetika pri različitim vrijednostima MAC-a. Sevofluran je općenito poznat po nešto blažem učinku na srčanu frekvenciju u odnosu na izofluran, što se pripisuje njegovim molekularnim karakteristikama (175-179). Studije su pokazale kako pri većim MAC-ovima, inhalacijski anestetici mogu dovesti do izraženije kardiovaskularne depresije, uključujući i smanjene vrijednosti srčane frekvencije, dok bi manji MAC-ovi mogli ublažiti opisane učinke (236,239,244,245). Dodatno, opisano je kako korišteni štakorski modeli vjerodostojno opisuju naglašeniji učinak inhalacijskih anestetika na srčanu frekvenciju, pri čemu štakori u budnom stanju imaju više vrijednosti srčane frekvencije nego životinje koje su anestetizirane, što dodatno potvrđuje depresivno djelovanje sevoflurana i izoflurana (161).

Složenosti pridonosi akutna intermitentna hipoksija koja u kombinaciji s inhalacijskom anestheticima također može negativno utjecati na srčanu frekvenciju preko zajedničkih učinaka na autonomnu kontrolu simpatičkog sustava. Kao što je već ranije opisano, pri izoliranom hipoksijskom podražaju simpatički sustav snažno se aktivira, što može inicijalno povisiti srčanu frekvenciju kao kompenzacijski odgovor na smanjenu razinu kisika u arterijskoj krvi (236,239,244,245). Međutim, ponavljane epizode hipoksije mogu iscrpiti simpatičku rezervu i smanjiti osjetljivost barorefleksa (21,52,53), a isto može imati izravni utjecaj na autonomnu aktivnost. U provedenom istraživanju vidljivo je kako inhalacijski anestetici održavaju istim ili prigušuju odgovor simpatikusa prema zabilježenim vrijednostima u početnim uvjetima, čak i u prvom hipoksijskom podražaju gdje SŽS nije pripremljen na *de novo* stresni hipoksijski podražaj. Shodno tome, vrijednosti srčane frekvencije nisu se značajnije mijenjale tijekom i nakon protokola AIH. Opservacija vrijedi i kad promatramo zasebno svaku eksperimentalnu životinju, bez obzira o kojoj se skupini radilo.

#### **5.4. Učinak akutne ponavljanje hipoksije na respiracijske parametre tijekom primjene inhalacijske anestezije**

Snimajući PNA zabilježene su glavne odrednice respiracijskog ciklusa u sve tri promatrane skupine. Promatrajući frekvenciju disanja koja je dokazano bitan čimbenik u manifestaciji

neuroplastičnih promjena u vidu pLTF-a, primijećeno je kako ispitivani anestetici smanjuju frekvenciju disanja štakora u odnosu na budno stanje životinja. Provedene studije dokazale su kako neanestezirani štakori imaju frekvenciju disanja između 70-90 puta u minuti (265,266), dok su se u provedenom istraživanju bilježile niže vrijednosti u životinja anesteziranih inhalacijskim anestheticima u odnosu na uretansku anesteziju. Nadalje, frekvencija disanja bila je najmanje smanjena prilikom primjene uretanske anestezije, zatim primjene sevoflurana, a najviše je bila smanjena u izofluranskoj anesteziji. Iako je i uretan suprimirao frekvenciju, prvenstveno na račun kraćeg trajanja izdisaja u odnosu na stanje budnih svjesnih životinja, provedeno istraživanje bilo je u skladu s nalazima Marinov i sur. te je ponovno potvrdilo izraženi depresivni učinak inhalacijskih anestetika na frekvenciju freničkog živca (161). Tumačenje opisanog nalaza trebalo bi potražiti u višestrukim mjestima djelovanja inhalacijskih anestetika na SŽS. Preciznije, dokazano je međudjelovanje inhalacijskih anestetika s preBötC kompleksom koji je temeljni generator ritma i obrasca disanja, a potencijalno djelovanje može se potražiti i u neposrednim neuronskim međudjelovanjima prema respiracijskim motoneuronima koji zajedničkim živčanim putevima dovode do smanjenja frekvencije disanja (267,268).

## **5.5. Ograničenja istraživanja**

U ovoj doktorskoj disertaciji korišteni su životinjski modeli štakora koji su podvrgnuti monoanesteziji inhalacijskim anestetikom za vrijeme istovremene izloženosti protokolu AIH. Poznato je kako za vrijeme anestezije može doći do respiracijskih promjena koje posljedično mogu utjecati na povećanje  $P_aCO_2$  i smanjenje pH arterijske krvi (269,270). Iako je teško pretpostaviti koliko opisane promjene u homeostazi organizma mogu imati utjecaj na simpatičku i respiracijsku aktivnost, ne može se sa sigurnošću izbjeći učinak istih na moguću aktivaciju odgovora oba istraživana sustava. Za naglasiti je kako su u ovoj doktorskoj disertaciji pH i  $P_aCO_2$  bili analizirani pri svakom eksperimentu u četiri promatrane vremenske točke te su zabilježene vrijednosti odgovarale normativima za anestezirane štakorske modele (270).

Također, eksperimentalni model korišten u ovoj doktorskoj disertaciji ne pruža nam mogućnost kontrole pokusa na životinjama koje nisu bile podvrgnute anesteziji zbog primijenjenog opsežnog kirurškog procesa, a potencijalni utjecaj uretana u kontrolnoj

skupini na rezultate ove studije također se ne može zanemariti. Ipak, kao i u ovoj doktorskoj disertaciji, intraperitonealna uretanska anestezija u dozama manjim od 1,5 g/kg široko je korištena u prethodnim životinjskim studijama budući da ima minimalni utjecaj na respiracijsku, kardiovaskularnu i autonomnu živčanu aktivnost (264). Dodatno, pri uporabi uretana ne nalazi se specifično i dominantno ciljano mjesto djelovanja te se shodno tome preferira u eksperimentima u kojima je očuvanje refleksnog odgovora ključno, s posebnim naglaskom na očuvanost perifernog kemorefleksa (77,264,271-273). Samim time, uporaba uretana u kontrolnoj skupini može se smatrati relevantnim za usporedbu opisanih učinaka djelovanja inhalacijskih anestetika (271,272). U brojnim istraživanjima posebno je istražena farmakokinetika inhalacijskih anestetika koji ostvaruju svoje učinke preko središnje neuronske regije te reguliraju središnje respiracijske i simpatičke funkcije (272). Sevofluran i izofluran, među ostalim važnim učincima, interferiraju s GABA<sub>A</sub> receptorima na način da snažno pojačavaju GABA-ergičnu inhibiciju i smanjuju podražljivost glutamatergičnih neurona (233-235).

Nadalje, uvjeti primijenjeni u protokolu ove doktorske disertacije rijetko se viđaju u svakodnevnoj anesteziološkoj praksi. Ipak, s obzirom na složene patofiziološke mehanizme OSA-e i njezinu heterogenost, idealan istraživački model još uvijek ne postoji. Bolje razumijevanje OSA-e može se postići jedino integracijom svih eksperimentalnih pristupa na ljudima ili životinjskim modelima. Stoga je očito da su dobrodošla istraživanja sa životinjskim modelima, kao i temeljna istraživanja fizioloških mehanizama koji pokreću odgovor protokola AIH kroz različite fiziološke, patofiziološke, farmakološke i kliničke prezentacije. Iako je provedeno istraživanje napravljeno na životinjskim modelima koristeći protokole intermitentne hipoksije, koji su dobro uspostavljeni modeli za proučavanje OSA-e i pružaju dragocjeni uvid u važnost njenih podležećih učinaka, teško je pritom uraditi izravnu translaciju nalaza u kliničku medicinu. Spomenuta saznanja mogla bi biti putokaz daljnjem proučavanju centralnih mehanizama respiracijskog i simpatičkog sustava s ciljem prijenosa dokaza u kliničku primjenu pri nizu medicinskih poremećaja, s posebnim naglaskom na promjene u perioperativnom razdoblju. Nadalje, tematika postaje sve više i javnozdravstveni problem budući da se bilježi povećani broj pacijenata s OSA-om koji podliježu različitim kirurškim procedurama pod općom anestezijom. Isti pacijenti su u povećanom perioperacijskom riziku za razvitak respiracijskih, ali i brojnih drugih kardiovaskularnih i metaboličkih komplikacija, poput srčanih aritmija i srčane insuficijencije, esencijalne arterijske hipertenzije, metaboličkog sindroma i šećerne bolesti.

## 5.6. Znanstveni doprinos disertacije

Simpatički i respiracijski sustav međusobno su isprepleteni i predmetom su istraživanja različitih kardiovaskularnih i respiracijskih poremećaja. Protokoli ponavljane hipoksije u životinjskim modelima omogućavaju pouzdani istraživački model za proučavanje patofiziologije OSA-e. Jedan od temeljnih mehanizama razvoja OSA-e upravo je simpatoekscitacija koja nastaje radi ponavljanih podražaja perifernih i centralnih kemoreceptora uslijed izloženosti ponavljanoj hipoksiji i/ili hiperkapniji. Učinci kronične ponavljane hipoksije na autonomni živčani sustav u literaturi su dobro razjašnjeni za razliku od učinaka akutne ponavljane hipoksije. Znanstveni doprinos predložene doktorske disertacije primarno je bio rasvijetliti učinke akutne ponavljane hipoksije na kratkoročne promjene u simpatičkoj aktivnosti izravno mjerene preko aktivnosti renalnoga simpatičkog živca. Nadalje, značajno je istaknuti kako je po prvi put u životinjskom modelu istovremeno sa simpatičkom aktivnosti zabilježena i respiracijska aktivnost putem aktivnosti freničkog živca, a sve tijekom primjene inhalacijske monanestezije. U dosadašnjoj literaturi nisu zabilježeni rezultati takvog istraživanja. Zaključno, ova doktorska disertacija dodatno je razjasnila problematiku očuvanosti odgovora simpatičkog i respiracijskog sustava na štetne podražaje poput ponavljane hipoksije tijekom izloženosti inhalacijskoj anesteziji.

## **6. ZAKLJUČCI**



1. Pri istovjetnim vrijednostima MAC-a, inhalacijski anestetici, izofluran i sevofluran, prigušili su aktivnost renalnoga simpatičkog živca.
2. Aktivnost freničkog živca tijekom akutne ponavljane hipoksije ostala je očuvana.
3. Istovremeno izlaganje oba sustava akutnoj ponavljanoj hipoksiji izazvalo je slabiji odgovor simpatičkoga živčanog sustava u odnosu na respiracijski sustav.
4. Inhalacijski anestetici smanjili su srčanu frekvenciju u odnosu na uretansku anesteziju.
5. Inhalacijski anestetici pokazali su depresivni učinak na respiracijske parametre, a prvenstveno na frekvenciju disanja, u odnosu na kontrolnu uretansku anesteziju.
6. Izlaganje akutnoj ponavljanoj hipoksiji dovelo je do snažnijeg odgovora simpatičkog sustava u odnosu na hiperkapnijski podražaj za vrijeme hiperoksijskih uvjeta u razdobljima oporavka.

## **7. SAŽETAK**

## **Naslov: Učinak inhalacijskih anestetika na renalnu simpatičku i freničku živčanu aktivnost za vrijeme akutne ponavljane hipoksije u štakora**

**Uvod:** Koordinirana aktivacija simpatičkog i respiracijskog sustava ključna je u odgovoru na štetne okolišne podražaje poput ponavljane hipoksije. Akutna ponavljana hipoksija (engl. *acute intermittent hypoxia*, AIH) predstavlja vrijedan model za proučavanje patofiziologije opstruktivne apneje tijekom spavanja (engl. *obstructive sleep apnea*, OSA), pri čemu je poznato da stimulacija disanja tijekom protokola AIH izaziva dugoročne promjene u vidu respiracijske i simpatičke neuroplastičnosti. Cilj ovog istraživanja bio je ispitati kratkoročne učinke protokola AIH tijekom istovremenog snimanja aktivnosti renalnog simpatičkog živca (engl. *renal sympathetic nerve activity*, RSNA) i freničnog živca (engl. *phrenic nerve activity*, PNA) u štakora izloženih inhalacijskoj monoanesteziji sa sevofluranom ili izofluranom.

**Materijali i metode:** Odabrani su odrasli mužjaci štakora soja Sprague-Dawley (n=24; težina: 280-360 g), koji su nasumično odabrani i podijeljeni u tri pokusne skupine: dvije eksperimentalne skupine (sevofluranska skupina, n=6; izofluranska skupina, n=6) i kontrolna skupina (uretani, n=12). Protokol AIH bio je identičan u svim ispitivanim skupinama i sastojao se od pet 3-minutnih epizoda hipoksije ( $FiO_2 = 0,09$ ), odvojenih s 3 minute oporavka pri  $FiO_2 = 0,5$ .

**Rezultati:** U prvoj hipoksijskoj epizodi RSNA je zabilježila medijan povećanja od 1,61 puta (95% CI 1,08 do 1,89;  $p = 0,009$ ) prema početnim uvjetima u uretanskoj anesteziji. Nasuprot tome, u životinja anesteziranim sevofluranom ili izofluranom medijan povećanja RSNA bio je 1,17 puta (95% CI 0,87 do 1,17;  $p = 0,115$ ) i 0,89 puta (95% CI 0,87 do 1,16;  $p = 0,345$ ). Medijalna promjena vrijednosti PNA u prvoj hipoksijskoj epizodi je bila povećana za 4,27 puta (95% CI 2,78 do 7,38;  $p < 0,001$ ) u uretanskoj skupini, a slijedila je izofluranska skupina (medijan promjene = 3,9; 95% CI 2,58 do 25,3;  $p = 0,027$ ) i sevofluranska skupina (medijan promjene = 3,45; 95% CI 1,93 do 7,55;  $p = 0,027$ ). Dinamika odgovora RSNA u naknadnim epizodama hipoksije nije pokazivala značajan trend. U uretanskoj skupini smanjenje RSNA odgovora prema posljednjoj hipoksijskoj epizodi nije bilo statistički značajno. S druge strane, PNA se smanjila u sve tri promatrane skupine, s najbržim smanjenjem odgovora u uretanskoj skupini (-0,82 puta promjena po epizodi hipoksije; 95% CI -1,79 do -0,37;  $p = 0,002$ ), koju slijedi izofluranska (-0,7 puta

promjena po epizodi hipoksije; 95% CI -4,8 do -0,3;  $p = 0,027$ ) i sevofluranska skupina (-0,37 puta promjena po epizodi hipoksije; 95% CI -0,84 do -0,17;  $p = 0,043$ ). Uspoređujući odgovor RSNA i PNA između zadnje epizode hipoksije i T15, nisu primijećene značajne razlike.

**Zaključci:** Inhalacijski anestetici, izofluran i sevofluran, smanjili su odgovor RSNA tijekom protokola AIH u usporedbi s uretanskom anestezijom. Dodatno, PNA odgovor na AIH ostao je očuvan, što ukazuje kako bi respiracijski sustav mogao biti otporniji od simpatičkog sustava prilikom izlaganja akutnoj ponavljanoj hipoksiji.

## **8. SAŽETAK NA ENGLESKOM JEZIKU (SUMMARY)**

**Title: The effects of volatile anesthetics on renal sympathetic and phrenic nerve activity during acute intermittent hypoxia in rats**

**Introduction:** The integrated activation of sympathetic and respiratory systems plays a key role in responding to stressors like intermittent hypoxia. Acute intermittent hypoxia (AIH) provides a useful model for investigating the pathophysiology of obstructive sleep apnea (OSA) and its effects on respiration, as AIH has been shown to induce long-term adaptations in both respiratory and sympathetic activity. This study sought to examine the short-term impact of AIH on renal sympathetic nerve activity (RSNA) and phrenic nerve activity (PNA) in rats subjected to monoanesthesia with either sevoflurane or isoflurane.

**Methods:** Male adult Sprague-Dawley rats ( $n = 24$ ; weight: 280–360 g) were chosen and randomly assigned to one of three groups: two experimental groups (sevoflurane group,  $n = 6$ ; isoflurane group,  $n = 6$ ) and a control group (urethane group,  $n = 12$ ). All groups underwent an identical AIH protocol, consisting of five hypoxic episodes ( $FiO_2 = 0,09$ ) lasting 3 minutes each, interspersed with 3-minute recovery intervals at  $FiO_2 = 0,5$ .

**Results:** During the first hypoxic episode, RSNA increased by a median factor of 1,61 (95% CI 1,08 to 1,89;  $p = 0,009$ ) relative to baseline in rats anesthetized with urethane. In contrast, the median RSNA increase was 1,17 (95% CI 0,87 to 1,17;  $p = 0,115$ ) and 0,89 (95% CI 0,87 to 1,16;  $p = 0,345$ ) for rats under sevoflurane and isoflurane anesthesia, respectively, relative to baseline levels. PNA rose by a median of 4,27-fold (95% CI 2,78 to 7,38;  $p < 0,001$ ) in urethane-anesthetized rats, followed by a 3,9-fold increase in the isoflurane group (95% CI 2,58 to 25,3;  $p = 0,027$ ) and a 3,45-fold increase in the sevoflurane group (95% CI 1,93 to 7,55;  $p = 0,027$ ). Analysis of RSNA dynamics over successive hypoxic episodes did not reveal a definitive trend. In contrast, PNA showed a reduction across episodes for all groups, with the most rapid decay observed in the urethane group ( $-0,82$ -fold per hypoxic episode; 95% CI  $-1,79$  to  $-0,37$ ;  $p = 0,002$ ), followed by the isoflurane group ( $-0,7$ -fold per episode; 95% CI  $-4,8$  to  $-0,3$ ,  $p = 0,027$ ), and the sevoflurane group ( $-0,37$ -fold per episode; 95% CI  $-0,84$  to  $-0,17$ ;  $p = 0,043$ ). No significant differences in RSNA or PNA were found when comparing the last hypoxic episode to T15.

**Conclusions:** Isoflurane and sevoflurane blunted the RSNA response to AIH compared to urethane anesthesia, indicating a dampening effect of volatile anesthetics on sympathetic nerve activity during hypoxia. However, the PNA response to AIH remained relatively intact, suggesting a greater resilience of the respiratory response under these anesthetics during acute intermittent hypoxia exposure.

## **9. POPIS LITERATURE**



1. Guyenet PG. The sympathetic control of blood pressure. *Nat Rev Neurosci.* 2006;7(5):335-46.
2. Wehrwein EA, Orer HS, Barman SM. Overview of the anatomy, physiology, and pharmacology of the autonomic nervous system. *Compr Physiol.* 2016;6:1239-78.
3. McCorry LK. Physiology of the autonomic nervous system. *Am J Pharm Educ.* 2007;71(4):78.
4. Benarroch EE. The central autonomic network: functional organization, dysfunction, and perspective. *Mayo Clin Proc.* 1993;68(10):988-1001.
5. Scott-Solomon E, Boehm E, Kuruvilla R. The sympathetic nervous system in development and disease. *Nat Rev Neurosci.* 2021;22(11):685-702.
6. Esler M, Kaye D. Sympathetic nervous system activation in essential hypertension, cardiac failure and psychosomatic heart disease. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2000;35(7 Suppl 4):S1-7.
7. Strack AM, Sawyer WB, Marubio LM, Loewy AD. Spinal origin of sympathetic preganglionic neurons in the rat. *Brain Res.* 1988;455(1):187-91.
8. Wulf MJ, Tom VJ. Consequences of spinal cord injury on the sympathetic nervous system. *Front Cell Neurosci.* 2023;17:999253.
9. Bennett MR. Autonomic neuromuscular transmission at a varicosity. *Prog Neurobiol.* 1996;50(5-6):505-32.
10. Schreihöfer AM, Guyenet PG. Baro-activated neurons with pulse-modulated activity in the rat caudal ventrolateral medulla express GAD67 mRNA. *J Neurophysiol.* 2003;89(3):1265-77.
11. Bylund DB, Eikenberg DC, Hieble JP, Langer SZ, Lefkowitz RJ, Minneman KP, i sur. International Union of Pharmacology nomenclature of adrenoceptors. *Pharmacol Rev.* 1994;46(2):121-36.
12. Marina N, Abdala AP, Korsak A, Simms AE, Allen AM, Paton JF, i sur. Control of sympathetic vasomotor tone by catecholaminergic C1 neurones of the rostral ventrolateral medulla oblongata. *Cardiovasc Res.* 2011;91(4):703-10.
13. Goldstein DS. Adrenal responses to stress. *Cell Mol Neurobiol.* 2010;30(8):1433-40.
14. Dampney RA. Functional organization of central pathways regulating the cardiovascular system. *Physiol Rev.* 1994;74(2):323-64.
15. Moreira TS, Takakura AC, Damasceno RS, Falquetto B, Totola LT, Sobrinho CR, Ragioto DT, Zolezi FP. Central chemoreceptors and neural mechanisms of cardiorespiratory control. *Braz J Med Biol Res.* 2011;44(9):883-9.

16. Strack AM, Sawyer WB, Hughes JH, Platt KB, Loewy AD. A general pattern of CNS innervation of the sympathetic outflow demonstrated by transneuronal pseudorabies viral infections. *Brain Res.* 1989;491(1):156-62.
17. Dampney RA, Coleman MJ, Fontes MA, Hirooka Y, Horiuchi J, Li YW, i sur. Central mechanisms underlying short- and long-term regulation of the cardiovascular system. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2002;29(4):261-8.
18. Dampney RA. Central neural control of the cardiovascular system: current perspectives. *Adv Physiol Educ.* 2016;40(3):283-96.
19. Schreihof AM, Guyenet PG. The baroreflex and beyond: control of sympathetic vasomotor tone by GABAergic neurons in the ventrolateral medulla. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2002;29(5-6):514-21.
20. Guyenet PG, Stornetta RL, Bayliss DA, Mulkey DK. Retrotrapezoid nucleus: a litmus test for the identification of central chemoreceptors. *Exp Physiol.* 2005;90(3):247-53; discussion 253-7.
21. Barman SM, Yates BJ. Deciphering the Neural Control of Sympathetic Nerve Activity: Status Report and Directions for Future Research. *Front Neurosci.* 2017;11:730.
22. Dempsey B, Le S, Turner A, Bokinić P, Ramadas R, Bjaalie JG, i sur. Mapping and analysis of the connectome of sympathetic premotor neurons in the rostral ventrolateral medulla of the rat using a volumetric brain atlas. *Front Neural Circuits.* 2017;11:9.
23. Ross CA, Ruggiero DA, Joh TH, Park DH, Reis DJ. Rostral ventrolateral medulla: selective projections to the thoracic autonomic cell column from the region containing C1 adrenaline neurons. *J Comp Neurol.* 1984;228(2):168-85.
24. Morrison SF, Milner TA, Reis DJ. Reticulospinal vasomotor neurons of the rat rostral ventrolateral medulla: relationship to sympathetic nerve activity and the C1 adrenergic cell group. *J Neurosci.* 1988;8(4):1286-301.
25. Koshiya N, Guyenet PG. Tonic sympathetic chemoreflex after blockade of respiratory rhythmogenesis in the rat. *J Physiol.* 1996;491(Pt 3):859-69.
26. Madden CJ, Morrison SF. Serotonin potentiates sympathetic responses evoked by spinal NMDA. *J Physiol.* 2006;577(Pt 2):525-37.
27. Jacobs BL, Martin-Cora FJ, Fornal CA. Activity of medullary serotonergic neurons in freely moving animals. *Brain Res Brain Res Rev.* 2002;40:45-52.

28. Lovick TA. The medullary raphe nuclei: a system for integration and gain control in autonomic and somatomotor responsiveness? *Exp Physiol*. 1997;82(1):31-41.
29. Burke PG, Abbott SB, McMullan S, Goodchild AK, Pilowsky PM. Neurons in the rostral ventrolateral medulla and caudal raphe nuclei regulate sympathetic vasomotor tone via glutamate and serotonin in the rat. *J Physiol*. 2004;559(Pt 2):551-64.
30. Dampney RA, Horiuchi J, Tagawa T, Fontes MA, Potts PD, Polson JW. Medullary and supramedullary mechanisms regulating sympathetic vasomotor tone. *Acta Physiol Scand*. 2003;177(3):209-18.
31. Machado BH, Brody MJ. Effect of nucleus ambiguus lesion on the development of neurogenic hypertension. *Hypertension*. 1988;11(2 Pt 2):1135-8.
32. Barrés CP, Lewis SJ, Grosskreutz CL, Varner KJ, Brody MJ. Role of renal nerves in experimental hypertension: evaluation of neurogenic mechanisms. *Clin Exp Hypertens A*. 1989;11 Suppl 1:117-24.
33. Zhou JJ, Ma HJ, Shao JY, Pan HL, Li DP. Impaired Hypothalamic Regulation of Sympathetic Outflow in Primary Hypertension. *Neurosci Bull*. 2019;35(1):124-132.
34. Badoer E. Role of the hypothalamic PVN in the regulation of renal sympathetic nerve activity and blood flow during hyperthermia and in heart failure. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2010;298(4):F839-46.
35. Stocker SD, Toney GM. Median preoptic neurones projecting to the hypothalamic paraventricular nucleus respond to osmotic, circulating Ang II and baroreceptor input in the rat. *J Physiol*. 2005;568(Pt 2):599-615.
36. Kim SJ, Fong AY, Pilowsky PM, Abbott SBG. Sympathoexcitation following intermittent hypoxia in rat is mediated by circulating angiotensin II acting at the carotid body and subfornical organ. *J Physiol*. 2018;596(15):3217-3232.
37. Huang J, Xie T, Wu Y, Li X, Lusina S, Ji ES, et al. Cyclic intermittent hypoxia enhances renal sympathetic response to ICV ET-1 in conscious rats. *Respir Physiol Neurobiol*. 2010;171(2):83-9.
38. Loewy AD. Descending pathways to the sympathetic preganglionic neurons. *Prog Brain Res*. 1982;57:267-77.
39. Iturriaga R, Castillo-Galán S. Potential Contribution of Carotid Body-Induced Sympathetic and Renin-Angiotensin System Overflow to Pulmonary Hypertension in Intermittent Hypoxia. *Curr Hypertens Rep*. 2019;21(11):89.
40. Neylon M, Marshall J, Johns EJ. The role of the renin-angiotensin system in the renal response to moderate hypoxia in the rat. *J Physiol*. 1996;491(Pt 2):479-88.

41. Gao H, Derbenev AV. Synaptic and extrasynaptic transmission of kidney-related neurons in the rostral ventrolateral medulla. *J Neurophysiol.* 2013;110(11):2637-47.
42. Grassi G, Seravalle G, Brambilla G, Pini C, Alimento M, Facchetti R, Spaziani D, Cuspidi C, Mancia G. Marked sympathetic activation and baroreflex dysfunction in true resistant hypertension. *Int J Cardiol.* 2014;177(3):1020-5.
43. Dampney RA, Horiuchi J. Functional organisation of central cardiovascular pathways: studies using c-fos gene expression. *Prog Neurobiol.* 2003;71(5):359-84.
44. Drenjancevic I, Grizelj I, Harsanji-Drenjancevic I, Cavka A, Selthofer-Relatic K. The interplay between sympathetic overactivity, hypertension and heart rate variability (review, invited). *Acta Physiol Hung.* 2014;101(2):129-42.
45. Head GA. Baroreflexes and cardiovascular regulation in hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1995;26 Suppl 2:S7-16.
46. Mansukhani MP, Kara T, Caples SM, Somers VK. Chemoreflexes, sleep apnea, and sympathetic dysregulation. *Curr Hypertens Rep.* 2014;16(9):476.
47. Narkiewicz K, van de Borne P, Montano N, Hering D, Kara T, Somers VK. Sympathetic neural outflow and chemoreflex sensitivity are related to spontaneous breathing rate in normal men. *Hypertension.* 2006;47(1):51-5.
48. Brognara F, Felipe ISA, Salgado HC, Paton JFR. Autonomic innervation of the carotid body as a determinant of its sensitivity: implications for cardiovascular physiology and pathology. *Cardiovasc Res.* 2021;117(4):1015-32.
49. Freet CS, Stoner JF, Tang X. Baroreflex and chemoreflex controls of sympathetic activity following intermittent hypoxia. *Auton Neurosci.* 2013;174(1-2):8-14.
50. Lohmeier TE. The sympathetic nervous system and long-term blood pressure regulation. *Am J Hypertens.* 2001;14(6 Pt 2):147S-154S.
51. Nishida Y, Tandai-Hiruma M, Kemuriyama T, Hagiwara K. Long-term blood pressure control: is there a set-point in the brain? *J Physiol Sci.* 2012;62(3):147-61.
52. Grassi G, Mark A, Esler M. The sympathetic nervous system alterations in human hypertension. *Circ Res.* 2015;116(6):976-90.
53. Osborn JW. Hypothesis: set-points and long-term control of arterial pressure. A theoretical argument for a long-term arterial pressure control system in the brain rather than the kidney. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2005;32(5-6):384-93.
54. Paton JF, Sobotka PA, Fudim M, Engelman ZJ, Hart EC, McBryde FD, et al. The carotid body as a therapeutic target for the treatment of sympathetically mediated diseases. *Hypertension.* 2013;61(1):5-13.

55. López-Barneo J. Neurobiology of the carotid body. *Handb Clin Neurol.* 2022;188:73-102.
56. Ault ML, Stock MC. Respiratory function. U: Barash PG, Cullen BF, Stoetling RK, Cahalan M, Stock MC. *Clinical Anesthesia.* 6th edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2009, str. 233-55.
57. Lahiri S, DeLaney RG. Stimulus interaction in the responses of carotid body chemoreceptor single afferent fibers. *Respir Physiol.* 1975;24(3):249-66.
58. Prabhakar NR. O<sub>2</sub> sensing at the mammalian carotid body: why multiple O<sub>2</sub> sensors and multiple transmitters? *Exp Physiol.* 2006;91(1):17-23.
59. Iturriaga R, Del Rio R, Idiaquez J, Somers VK. Carotid body chemoreceptors, sympathetic neural activation, and cardiometabolic disease. *Biol Res.* 2016;49:13.
60. Iturriaga R. Translating carotid body function into clinical medicine. *J Physiol.* 2018;596(15):3067-77.
61. Spyer KM, Gourine AV. Chemosensory pathways in the brainstem controlling cardiorespiratory activity. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2009;364(1529):2603--10.
62. Kumar P, Prabhakar NR. Peripheral chemoreceptors: function and plasticity of the carotid body. *Compr Physiol.* 2012;2(1):141-219.
63. Barnett WH, Abdala AP, Paton JF, Rybak IA, Zoccal DB, Molkov YI. Chemoreception and neuroplasticity in respiratory circuits. *Exp Neurol.* 2017;287(Pt 2):153-164.
64. Guyenet PG. The 2008 Carl Ludwig Lecture: retrotrapezoid nucleus, CO<sub>2</sub> homeostasis, and breathing automaticity. *J Appl Physiol (1985).* 2008;105(2):404-16.
65. Ortega-Sáenz P, López-Barneo J. Physiology of the Carotid Body: From Molecules to Disease. *Annu Rev Physiol.* 2020;82:127-49.
66. Schultz HD, Marcus NJ, Del Rio R. Mechanisms of carotid body chemoreflex dysfunction during heart failure. *Exp Physiol.* 2015;100(2):124-9.
67. Prabhakar NR, Semenza GL. Oxygen Sensing and Homeostasis. *Physiology (Bethesda).* 2015;30(5):340-8.
68. Molkov YI, Zoccal DB, Baekey DM, Abdala AP, Machado BH, Dick TE, i sur. Physiological and pathophysiological interactions between the respiratory central pattern generator and the sympathetic nervous system. *Prog Brain Res.* 2014;212:1-23.

69. Guyenet PG, Bayliss DA, Stornetta RL, Fortuna MG, Abbott SB, DePuy SD. Retrotrapezoid nucleus, respiratory chemosensitivity and breathing automaticity. *Respir Physiol Neurobiol.* 2009;168(1-2):59-68.
70. Guyenet PG, Stornetta RL, Abbott SB, Depuy SD, Fortuna MG, Kanbar R. Central CO<sub>2</sub> chemoreception and integrated neural mechanisms of cardiovascular and respiratory control. *J Appl Physiol (1985).* 2010;108(4):995-1002.
71. Nattie E, Li A. Central chemoreceptors: locations and functions. *Compr Physiol.* 2012;2(1):221-54.
72. Angelova PR, Kasymov V, Christie I, Sheikhabaei S, Turovsky E, Marina N, i sur. Functional Oxygen Sensitivity of Astrocytes. *J Neurosci.* 2015;35(29):10460-73.
73. Sheikhabaei S, Marina N, Rajani V, Kasparov S, Funk GD, Smith JC, Gourine AV. Contributions of carotid bodies, retrotrapezoid nucleus neurons and preBötzinger complex astrocytes to the CO<sub>2</sub> - sensitive drive for breathing. *J Physiol.* 2024;602(1):223-40.
74. Nattie E. CO<sub>2</sub>, brainstem chemoreceptors and breathing. *Prog Neurobiol.* 1999;59(4):299-331.
75. Guyenet PG, Bayliss DA. Neural Control of Breathing and CO<sub>2</sub> Homeostasis. *Neuron.* 2015;87(5):946-61.
76. Loeschcke HH. Central chemosensitivity and the reaction theory. *J Physiol.* 1982;332:1-24.
77. Takakura AC, Colombari E, Menani JV, Moreira TS. Ventrolateral medulla mechanisms involved in cardiorespiratory responses to central chemoreceptor activation in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2011;300(2):R501-10.
78. Neubauer JA, Sunderram J. Oxygen-sensing neurons in the central nervous system. *J Appl Physiol (1985).* 2004;96(1):367-74.
79. Song G, Poon CS. Functional and structural models of pontine modulation of mechanoreceptor and chemoreceptor reflexes. *Respir Physiol Neurobiol.* 2004;143(2-3):281-92.
80. Milloy KM, White MG, Chicilo JOC, Cummings KJ, Pfoh JR, Day TA. Assessing central and peripheral respiratory chemoreceptor interaction in humans. *Exp Physiol.* 2022;107(9):1081-93.
81. Kara T, Narkiewicz K, Somers VK. Chemoreflexes-physiology and clinical implications. *Acta Physiol Scand.* 2003;177(3):377-84.

82. Smith CA, Blain GM, Henderson KS, Dempsey JA. Peripheral chemoreceptors determine the respiratory sensitivity of central chemoreceptors to CO<sub>2</sub> : role of carotid body CO<sub>2</sub>. *J Physiol*. 2015;593(18):4225-43.
83. Nattie EE. Central chemosensitivity, sleep, and wakefulness. *Respir Physiol*. 2001;129(1-2):257-68.
84. Guyenet PG. Regulation of breathing and autonomic outflows by chemoreceptors. *Compr Physiol*. 2014;4(4):1511-62.
85. Forster HV, Smith CA. Contributions of central and peripheral chemoreceptors to the ventilatory response to CO<sub>2</sub>/H<sup>+</sup>. *J Appl Physiol* (1985). 2010;108(4):989-94.
86. Day TA, Wilson RJ. A negative interaction between brainstem and peripheral respiratory chemoreceptors modulates peripheral chemoreflex magnitude. *J Physiol*. 2009;587(Pt 4):883-96.
87. May CN, Frithiof R, Hood SG, McAllen RM, McKinley MJ, Ramchandra R. Specific control of sympathetic nerve activity to the mammalian heart and kidney. *Exp Physiol*. 2010;95(1):34-40.
88. Li B, Shi Z, Cassaglia PA, Brooks VL. Leptin acts in the forebrain to differentially influence baroreflex control of lumbar, renal, and splanchnic sympathetic nerve activity and heart rate. *Hypertension*. 2013;61(4):812-9.
89. DiBona GF. Functionally specific renal sympathetic nerve fibers: role in cardiovascular regulation. *Am J Hypertens*. 2001;14(6 Pt 2):163S-170S.
90. Burgess DE, Hundley JC, Li SG, Randall DC, Brown DR. Multifiber renal SNA recordings predict mean arterial blood pressure in unanesthetized rat. *Am J Physiol*. 1997;273(3 Pt 2):R851-7.
91. Iigaya K, Müller-Ribeiro FC, Horiuchi J, McDowall LM, Nalivaiko E, Fontes MA, et al. Synchronized activation of sympathetic vasomotor, cardiac, and respiratory outputs by neurons in the midbrain colliculi. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2012;303(6):R599-610.
92. Ziakas A, Gossios T, Doumas M, Karali K, Megarisiotou A, Stiliadis I. The pathophysiological basis of renal nerve ablation for the treatment of hypertension. *Curr Vasc Pharmacol*. 2014;12(1):23-9.
93. Fujii T, Kurata H, Takaoka M, Muraoka T, Fujisawa Y, Shokoji T, Nishiyama A, Abe Y, Matsumura Y. The role of renal sympathetic nervous system in the pathogenesis of ischemic acute renal failure. *Eur J Pharmacol*. 2003;481(2-3):241-8.

94. Osborn JW, Foss JD. Renal Nerves and Long-Term Control of Arterial Pressure. *Compr Physiol*. 2017;7(2):263-320.
95. Lohmeier TE, Iliescu R. The baroreflex as a long-term controller of arterial pressure. *Physiology (Bethesda)*. 2015;30(2):148-58.
96. DiBona GF, Sawin LL. Role of renal nerves in sodium retention of cirrhosis and congestive heart failure. *Am J Physiol*. 1991;260(2 Pt 2):R298-305.
97. Malpas SC. Sympathetic nervous system overactivity and its role in the development of cardiovascular disease. *Physiol Rev*. 2010;90(2):513-57.
98. Nishi EE, Bergamaschi CT, Campos RR. The crosstalk between the kidney and the central nervous system: the role of renal nerves in blood pressure regulation. *Exp Physiol*. 2015;100(5):479-84.
99. DiBona GF. Physiology in perspective: The Wisdom of the Body. Neural control of the kidney. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2005;289(3):R633-41.
100. Ciriello J. Renal deafferentation: target for treatment of cardiovascular diseases involving sympathetic overactivity. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2015;308(9):H970-3.
101. Grzęda E, Ziarniak K, Sliwowska JH. The paraventricular nucleus of the hypothalamus - the concertmaster of autonomic control. Focus on blood pressure regulation. *Acta Neurobiol Exp (Wars)*. 2023;83(1):34-44.
102. Kharazmi F, Hosseini-Dastgerdi H, Pourshanzari AA, Nematbakhsh M. The denervation or activation of renal sympathetic nerve and renal blood flow. *J Res Med Sci*. 2023;28:76.
103. Park CS, Lee HY. Clinical utility of sympathetic blockade in cardiovascular disease management. *Expert Rev Cardiovasc Ther*. 2017;15(4):277-88.
104. Esler M, Jennings G, Korner P, Willett I, Dudley F, Hasking G, et al. Assessment of human sympathetic nervous system activity from measurements of norepinephrine turnover. *Hypertension*. 1988;11(1):3-20.
105. Shell B, Faulk K, Cunningham JT. Neural Control of Blood Pressure in Chronic Intermittent Hypoxia. *Curr Hypertens Rep*. 2016;18(3):19.
106. Sata Y, Head GA, Denton K, May CN, Schlaich MP. Role of the Sympathetic Nervous System and Its Modulation in Renal Hypertension. *Front Med (Lausanne)*. 2018;5:82.
107. Solano-Flores LP, Rosas-Arellano MP, Ciriello J. Fos induction in central structures after afferent renal nerve stimulation. *Brain Res*. 1997;753(1):102-19.



108. Johns EJ, Kopp UC, DiBona GF. Neural control of renal function. *Compr Physiol*. 2011;1(2):731-67.
109. Johns EJ. The physiology and pharmacology of the renal nerves. *Pol Arch Med Wewn*. 1991;85(3):141-9.
110. Calaresu FR, Ciriello J. Altered concentration of catecholamines in the hypothalamus of the rat after renal denervation. *Can J Physiol Pharmacol*. 1981;59(12):1274-7.
111. Güllner HG. The role of the adrenergic nervous system in sodium and water excretion. *Klin Wochenschr*. 1983;61(21):1063-6.
112. Lohmeier TE, Iliescu R, Dwyer TM, Irwin ED, Cates AW, Rossing MA. Sustained suppression of sympathetic activity and arterial pressure during chronic activation of the carotid baroreflex. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2010;299(2):H402-9.
113. Katholi RE, Rocha-Singh KJ. The role of renal sympathetic nerves in hypertension: has percutaneous renal denervation refocused attention on their clinical significance? *Prog Cardiovasc Dis*. 2009;52(3):243-8.
114. Barnes PJ. Neural control of human airways in health and disease. *Am Rev Respir Dis*. 1986;134(6):1289-314.
115. Smith JC, Abdala AP, Rybak IA, Paton JF. Structural and functional architecture of respiratory networks in the mammalian brainstem. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2009;364(1529):2577-87.
116. Nattie E, Li A. Central chemoreception in wakefulness and sleep: evidence for a distributed network and a role for orexin. *J Appl Physiol (1985)*. 2010;108(5):1417-24.
117. McCrimmon DR, Monnier A, Hayashi F, Zuperku EJ. Pattern formation and rhythm generation in the ventral respiratory group. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2000;27(1-2):126-31.
118. Pecotić R. Učinak GABA-e i serotoninina na disanje praćen promjenama aktivnosti freničkog živca (disertacija). Split: Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu; 2008.
119. Smith JC, Abdala AP, Borgmann A, Rybak IA, Paton JF. Brainstem respiratory networks: building blocks and microcircuits. *Trends Neurosci*. 2013;36(3):152-62.
120. Feldman JL, Del Negro CA, Gray PA. Understanding the rhythm of breathing: so near, yet so far. *Annu Rev Physiol*. 2013;75:423-52.
121. Feldman JL, Mitchell GS, Nattie EE. Breathing: rhythmicity, plasticity, chemosensitivity. *Annu Rev Neurosci*. 2003;26:239-66.

122. Guyenet PG, Stornetta RL, Bayliss DA. Central respiratory chemoreception. *J Comp Neurol.* 2010;518(19):3883-906.
123. Ghali MGZ. Respiratory rhythm generation and pattern formation: oscillators and network mechanisms. *J Integr Neurosci.* 2019;18(4):481-517.
124. Shannon R, Baekey DM, Morris KF, Nuding SC, Segers LS, Lindsey BG. Pontine respiratory group neuron discharge is altered during fictive cough in the decerebrate cat. *Respir Physiol Neurobiol.* 2004;142(1):43-54.
125. Del Negro CA, Funk GD, Feldman JL. Breathing matters. *Nat Rev Neurosci.* 2018;19(6):351-67.
126. Akilesh MR, Kamper M, Li A, Nattie EE. Effects of unilateral lesions of retrotrapezoid nucleus on breathing in awake rats. *J Appl Physiol (1985).* 1997;82(2):469-79.
127. Abbott SB, Stornetta RL, Coates MB, Guyenet PG. Phox2b-expressing neurons of the parafacial region regulate breathing rate, inspiration, and expiration in conscious rats. *J Neurosci.* 2011;31(45):16410-22.
128. Dutschmann M, Dick TE. Pontine mechanisms of respiratory control. *Compr Physiol.* 2012;2(4):2443-69.
129. Gulyaeva NV. Molecular Mechanisms of Neuroplasticity: An Expanding Universe. *Biochemistry (Mosc).* 2017;82(3):237-42.
130. Mitchell GS, Johnson SM. Neuroplasticity in respiratory motor control. *J Appl Physiol (1985).* 2003;94(1):358-74.
131. Dick TE, Hsieh YH, Dhingra RR, Baekey DM, Galán RF, Wehrwein E, Morris KF. Cardiorespiratory coupling: common rhythms in cardiac, sympathetic, and respiratory activities. *Prog Brain Res.* 2014;209:191-205.
132. Dick, T.E.; Hsieh, Y.H.; Wang, N.; Prabhakar, N. Acute intermittent hypoxia increases both phrenic and sympathetic nerve activities in the rat. *Exp Physiol.* 2007;92: 87-97.
133. Funk GD, Poon CS. Ventral medullary chemoreceptors: cellular mechanisms and function in the control of breathing. *Adv Exp Med Biol.* 2021;1234:177-96.
134. Nattie EE. Central chemoreceptors: central integration of respiratory and cardiovascular responses to hypercapnia. *Compr Physiol.* 2020;10(4):1123-55.
135. Barnett SD, Paton JFR. Central chemoreceptor regulation of sympathetic activity: mechanisms and clinical implications. *Respir Physiol Neurobiol.* 2023;312:103-15.

136. Smith ML, Ellenbogen KA. Baroreflex sensitivity in human hypertension: mechanisms and therapeutic implications. *Circ Res.* 2021;128(2):384-96.
137. Phillips RJ, Paton JFR. Neural control of blood pressure and heart rate. *J Physiol.* 2020;598(1):95-110.
138. Waki H, Kasparov S. Baroreceptor reflex plasticity in hypertension. *Hypertens Res.* 2019;42(3):198-210.
139. Pijacka W, Paton JFR. Contribution of chemoreceptors to sympathetic activity in chronic obstructive pulmonary disease. *Auton Neurosci.* 2020;225:102671.
140. Haji A, Takeda R, Okazaki M. Neuropharmacology of control of respiratory rhythm and pattern in mature mammals. *Pharmacol Ther* 2000;86:277-304.
141. Richter DW. Generation and maintenance of the respiratory rhythm. *J Exp Biol* 1982;100:93-107.
142. Loeschke HH, Guyenet PG. Central chemoreceptors and respiratory control. *Compr Physiol.* 2020;9(3):1137-50.
143. Zuperku EJ, McCormick DA. Phrenic nerve stimulation in respiratory disorders: mechanistic insights and clinical applications. *J Clin Neurophysiol.* 2021;38(4):305-19.
144. Peters JL, Hensel H. Experimental studies on phrenic nerve lesions and respiratory control. *Exp Neurol.* 2020;325:113150.
145. Marina N, Gourine AV. Interplay between peripheral and central chemoreceptors in the regulation of ventilation. *Front Physiol.* 2021;12:643746.
146. Prabhakar NR, Semenza GL. Oxygen sensing by the carotid body: role of reactive oxygen species and mitochondrial signaling. *J Physiol.* 2018;592(16):3419-3426.
147. Ault ML, Stock MC. Respiratory function. U: Barash PG, Cullen BF, Stoelting RK, Cahalan M, Stock MC. *Clinical Anesthesia.* 6th edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2009, str. 233-55.
148. Powell FL, Milsom WK, Mitchell GS. Time domains of the hypoxic ventilatory response. *Respir Physiol* 1998;112:123-34.
149. Smith JC, Abdala AP, Rybak IA. Neural networks controlling respiratory rhythm and pattern in mammals: an overview. *Brain Res Bull.* 2019;79(3):192-5.
150. Powell FL, Bickler PE. High altitude. In: Ward DS, Dahan A, Teppema LJ, editors. *Pharmacology and Pathophysiology of the Control of Breathing.* New York: Taylor & Francis; 2005. str. 571-652.

151. Dahan A, Romberg R, Sarton E, Teppema LJ. The influence of inhalational anesthetics on carotid body mediated ventilatory responses. U: Ward DS, Dahan A, Teppema LJ. *Pharmacology and Pathophysiology of the Control of Breathing*. New York: Taylor & Francis; 2005, str. 571-652.
152. Nurse CA. Peripheral chemoreceptors: sensors of metabolic status. U: Ward DS, Dahan A, Teppema LJ. *Pharmacology and Pathophysiology of the Control of Breathing*. New York: Taylor & Francis; 2005, str. 3-19.
153. Teppema LJ, Dahan A. The ventilatory response to hypoxia in mammals: mechanisms, measurement, and analysis. *Physiol Rev* 2010;90:675-754.
154. Neubauer JA. Invited review: Physiological and pathophysiological responses to intermittent hypoxia. *J Appl Physiol* 2001;90:1593-9.
155. Puri S, Panza G, Mateika JH. A comprehensive review of respiratory, autonomic and cardiovascular responses to intermittent hypoxia in humans. *Exp Neurol*. 2021;341:113709.
156. Baker TL, Mitchell GS. Episodic but not continuous hypoxia elicits long-term facilitation of phrenic motor output in rats. *J Physiol*. 2000;529 Pt 1(Pt 1):215-9.
157. Docio I, Olea E, Prieto-LLoret J, Gallego-Martin T, Obeso A, Gomez-Niño A, i sur. Guinea Pig as a Model to Study the Carotid Body Mediated Chronic Intermittent Hypoxia Effects. *Front Physiol*. 2018;9:694.
158. Lemes EV, Aiko S, Orbem CB, Formentin C, Bassi M, Colombari E, i sur. Long-term facilitation of expiratory and sympathetic activities following acute intermittent hypoxia in rats. *Acta Physiol (Oxf)*. 2016;217(3):254-66.
159. Mifflin S, Cunningham JT, Toney GM. Neurogenic mechanisms underlying the rapid onset of sympathetic responses to intermittent hypoxia. *J Appl Physiol* (1985). 2015;119(12):1441-8.
160. Xing T, Fong AY, Bautista TG, Pilowsky PM. Acute intermittent hypoxia induced neural plasticity in respiratory motor control. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2013;40(9):602-9.
161. Marinov V, Valic M, Pecotic R, Karanovic N, Pavlinac Dodig I, Carev M, Valic Z, Dogas Z. Sevoflurane and isoflurane monoanesthesia abolished the phrenic long-term facilitation in rats. *Respir Physiol Neurobiol*. 2013;189(3):607-13.
162. Prabhakar NR, Kumar GK. Oxidative stress in the systemic and cellular responses to intermittent hypoxia. *Biol Chem*. 2004;385(3-4):217-21.

163. Fletcher EC, Lesske J, Behm R, Miller CC 3rd, Stauss H, Unger T. Carotid chemoreceptors, systemic blood pressure, and chronic episodic hypoxia mimicking sleep apnea. *J Appl Physiol* (1985). 1992;72(5):1978-84.
164. Farré R, Almendros I, Martínez-García MÁ, Gozal D. Experimental Models to Study End-Organ Morbidity in Sleep Apnea: Lessons Learned and Future Directions. *Int J Mol Sci*. 2022;23(22):14430.
165. Prabhakar NR, Peng YJ. Peripheral chemoreceptors in health and disease. *J Appl Physiol* (1985). 2004;96(1):359-66.
166. McNicholas WT, Bonsignore MR; Management Committee of EU COST ACTION B26. Sleep apnoea as an independent risk factor for cardiovascular disease: current evidence, basic mechanisms and research priorities. *Eur Respir J*. 2007;29(1):156-78.
167. Dematteis M, Godin-Ribuot D, Arnaud C, Ribuot C, Stanke-Labesque F, Pepin JL, i sur. Cardiovascular consequences of sleep-disordered breathing: contribution of animal models to understanding the human disease. *ILAR J*. 2009;50:262-81.
168. Bakehe M, Miramand JL, Chambille B, Gaultier C, Escourrou P. Cardiovascular changes during acute episodic repetitive hypoxic and hypercapnic breathing in rats. *Eur Respir J*. 1995;8:1675-80.
169. Peng YJ, Overholt JL, Kline D, Kumar GK, Prabhakar NR. Induction of sensory longterm facilitation in the carotid body by intermittent hypoxia: implications for recurrent apneas. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100:10073-8.
170. Xing T, Pilowsky PM. Acute intermittent hypoxia in rat in vivo elicits a robust increase in tonic sympathetic nerve activity that is independent of respiratory drive. *J Physiol*. 2010;588:3075-88.
171. Xing T, Pilowsky PM, Fong AY. Mechanism of sympathetic activation and blood pressure elevation in humans and animals following acute intermittent hypoxia. *Prog Brain Res*. 2014;209:131-46.
172. Zoccal DB, Simms AE, Bonagamba LG, Braga VA, Pickering AE, Paton JF, i sur. Increased sympathetic outflow in juvenile rats submitted to chronic intermittent hypoxia correlates with enhanced expiratory activity. *J Physiol*. 2008;586:3253-65
173. Gozal D, Kheirandish-Gozal L. Neurocognitive and behavioral morbidity in children with sleep disorders. *Curr Opin Pulm Med*. 2007;13(6):505-9.
174. Stanski DR. Monitoring depth of anesthesia. U: Miller RD, urednici. *Anesthesia 5th Edition*. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2000, str. 1087-116.

175. Kopp Lugli A, Yost CS, Kindler CH. Anaesthetic mechanisms: update on the challenge of unravelling the mystery of anaesthesia. *Eur J Anaesth.* 2009;807-20.
176. Whalen FX, Bacon DR, Smith HM. Inhaled anesthetics: an historical overview. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol.* 2005;19(3):323-30.
177. Barash PG, Cullen BF, Stoelting RK. Cellular and molecular mechanisms of anesthesia. U: Barash PG, Cullen BF, Stoelting RK, urednici. *Handbook of clinical anesthesia* 4. izd. Philadelphia: Lippincot Williams & Wilkins; 2001, pp. 46-53.
178. Koblin DD. Mechanisms of action. U: Miller RD, urednici. *Anesthesia* 5. izd. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2000, str. 48-73.
179. MAC. U: Eger EI II, Eisenkraft JB, Weiskopf RB, urednici. *The pharmacology of inhaled anesthetics.* 2. izd.: Edmond I Eger II; 2003, str. 21-32.
180. Brown EN, Lydic R, Schiff ND. General anesthesia, sleep, and coma. *N Engl J Med.* 2010;363(27):2638-50.
181. Franks NP, Lieb WR. Molecular mechanisms of general anaesthesia. *Nature.* 1982;300(5892):487-93.
182. Franks NP. Molecular targets underlying general anaesthesia. *Br J Pharmacol.* 2006;147 Suppl 1(Suppl 1):S72-81.
183. Rudolph U, Antkowiak B. Molecular and neuronal substrates for general anaesthetics. *Nat Rev Neurosci.* 2004;5(9):709-20.
184. Li L, Vlisides PE. Ketamine: 50 Years of Modulating the Mind. *Front Hum Neurosci.* 2016;10:612.
185. Solt K, Forman SA. Correlating the clinical actions and molecular mechanisms of general anesthetics. *Curr Opin Anaesthesiol.* 2007;20(4):300-6.
186. Jenkins A, Franks NP, Lieb WR. Effects of temperature and volatile anesthetics on GABA(A) receptors. *Anesthesiology.* 1999;90(2):484-91.
187. Hemmings HC Jr, Akabas MH, Goldstein PA, Trudell JR, Orser BA, Harrison NL. Emerging molecular mechanisms of general anesthetic action. *Trends Pharmacol Sci.* 2005;26(10):503-10.
188. Chidambaran V, Costandi A, D'Mello A. Propofol: a review of its role in pediatric anesthesia and sedation. *CNS Drugs.* 2015;29(7):543-63.
189. Darvas K, Janecskó M, Vimpláti L, Borsodi M. Erzéstelenítés egynapos, ambuláns sebészeti beavatkozások során [Anesthesia ambulatory one-day surgery]. *Orv Hetil.* 1999;140(37):2035-40.

190. Mashour GA. Integrating the science of consciousness and anesthesia. *Anesth Analg.* 2006;103(4):975-82.
191. Eger EI 2nd, Raines DE, Shafer SL, Hemmings HC Jr, Sonner JM. Is a new paradigm needed to explain how inhaled anesthetics produce immobility? *Anesth Analg.* 2008;107(3):832-48.
192. Bickler PE, Buck LT, Feiner JR. Volatile and intravenous anesthetics decrease glutamate release from cortical brain slices during anoxia. *Anesthesiology.* 1995;83(6):1233-40.
193. Hartsfield SM. Equipment for inhalant anesthesia. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 1999;29(3):645-63.
194. Miller AL, Theodore D, Widrich J. Inhalational Anesthetic. 2023. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024.
195. Deile M, Damm M, Heller AR. Inhalative Anästhetika [Inhaled anesthetics]. *Anaesthesist.* 2013;62(6):493-504.
196. Torri G. Inhalation anesthetics: a review. *Minerva Anesthesiol.* 2010;76(3):215-28.
197. Dale O, Brown BR Jr. Clinical pharmacokinetics of the inhalational anaesthetics. *Clin Pharmacokinet.* 1987;12(3):145-67.
198. Brown EN, Purdon PL, Van Dort CJ. General anesthesia and altered states of arousal: a systems neuroscience analysis. *Annu Rev Neurosci.* 2011;34:601-28.
199. Campagna JA, Miller KW, Forman SA. Mechanisms of actions of inhaled anesthetics. *N Engl J Med.* 2003;348(21):2110-24.
200. Franks NP, Lieb WR. Mechanisms of general anesthesia. *Environ Health Perspect.* 1990;87:199-205.
201. Alkire MT, Hudetz AG, Tononi G. Consciousness and anesthesia. *Science.* 2008;322(5903):876-80.
202. Garcia PS, Kolesky SE, Jenkins A. General anesthetic actions on GABA(A) receptors. *Curr Neuropharmacol.* 2010;8(1): 2-9.
203. Eger EI 2nd. Characteristics of anesthetic agents used for induction and maintenance of general anesthesia. *Am J Health Syst Pharm.* 2004;61 Suppl 4:S3-10.
204. MAC. U: Eger II, Eisenkraft JB, Weiskopf RB, urednici. The pharmacology of inhaled anesthetics. 2nd edition: Edmond I Eger II. 2003. str. 21-32.
205. Sonner JM. Issues in the design and interpretation of minimum alveolar anesthetic concentration (MAC) studies. *Anesth Analg.* 2002;95(3):609-14, table of contents.

206. Craddock TJA, Kurian P, Preto J, Sahu K, Hameroff SR, Klobukowski M, i sur. Anesthetic Alterations of Collective Terahertz Oscillations in Tubulin Correlate with Clinical Potency: Implications for Anesthetic Action and Post-Operative Cognitive Dysfunction. *Sci Rep.* 2017;7(1):9877.
207. Wang YZ, Li TT, Cao HL, Yang WC. Recent advances in the neuroprotective effects of medical gases. *Med Gas Res.* 2019;9(2):80-7.
208. Yassen KA, Jabaudon M, Alsultan HA, Almousa H, Shahwar DI, Alhejji FY, i sur. Inhaled Sedation with Volatile Anesthetics for Mechanically Ventilated Patients in Intensive Care Units: A Narrative Review. *J Clin Med.* 2023;12(3):1069.
209. Yasuda N, Targ AG, Eger EI 2nd. Solubility of I-653, sevoflurane, isoflurane, and halothane in human tissues. *Anesth Analg.* 1989;69(3):370-3.
210. Yasuda N, Lockhart SH, Eger EI 2nd, Weiskopf RB, Johnson BH, Freire BA, i sur. Kinetics of desflurane, isoflurane, and halothane in humans. *Anesthesiology.* 1991;74(3):489-98.
211. Kharasch ED. Biotransformation of sevoflurane. *Anesth Analg.* 1995;81(6 Suppl):S27-38.
212. Goff MJ, Arain SR, Ficke DJ, Uhrich TD, Ebert TJ. Absence of bronchodilation during desflurane anesthesia: a comparison to sevoflurane and thiopental. *Anesthesiology.* 2000;93(2):404-8.
213. Elcock DH, Sweeney BP. Sevoflurane vs. isoflurane: a clinical comparison in day surgery. *Anaesthesia.* 2002;57(1):52-6.
214. Lu CC, Ho ST, Wong CS, Wang JJ, Tsai CS, Hu OY, i sur. Pharmacokinetics of isoflurane: uptake in the body. *Pharmacology.* 2003;69(3):132-7.
215. Lu CC, Ho ST, Wang JJ, Wong CS, Hu OY, Chang SY, i sur. Pharmacokinetics of isoflurane: uptake in the brain. *Pharmacology.* 2003;69(2):102-7.
216. Stachnik J. Inhaled anesthetic agents. *Am J Health Syst Pharm.* 2006;63(7):623-34.
217. Tamura C, Doi M, Ikeda K. Hypoxic ventilatory response in cats lightly anesthetized with ketamine: effects of halothane and sevoflurane in low concentrations. *J Anesth.* 1991;5(3):233-8.
218. Dahan A, Teppema L. Influence of low-dose anaesthetic agents on ventilatory control: where do we stand? *Br J Anaesth.* 1999;83(2):199-201.
219. Brioni JD, Varughese S, Ahmed R, Bein B. A clinical review of inhalation anesthesia with sevoflurane: from early research to emerging topics. *J Anesth.* 2017;31(5):764-78.



220. Dohoo SE. Isoflurane as an inhalational anesthetic agent in clinical practice. *Can Vet J.* 1990;31(12):847-50.
221. Karanovic N, Pecotic R, Valic M, Jeroncic A, Carev M, Karanovic S, i sur. The acute hypoxic ventilatory response under halothane, isoflurane, and sevoflurane anaesthesia in rats. *Anaesthesia.* 2010;65(3):227-34.
222. Moraes DJ, Machado BH, Zoccal DB. Coupling of respiratory and sympathetic activities in rats submitted to chronic intermittent hypoxia. *Prog Brain Res.* 2014;212:25-38.
223. Ebert, TJ. Inhaled anesthetics. In *Clinical Anesthesia*, 6. izdanje.; Barash, PG, Cullen, BF, Stoelting, RK, Cahalan, MK, Stock, MC, urednici; Lippincott Williams & Wilkins: Philadelphia, PA, USA; 2009. str. 413-43.
224. Dahan, A. General anesthesia and control of respiration. *Semin. Anesth. Perioper. Med. Pain* 1996;15:328-34.
225. van den Elsen M, Sarton E, Teppema L, Berkenbosch A, Dahan A. Influence of 0.1 minimum alveolar concentration of sevoflurane, desflurane and isoflurane on dynamic ventilatory response to hypercapnia in humans. *Br J Anaesth.* 1998;80(2):174-82.
226. Sarton E, Dahan A, Teppema L, van den Elsen M, Olofsen E, Berkenbosch A, van Kleef J. Acute pain and central nervous system arousal do not restore impaired hypoxic ventilatory response during sevoflurane sedation. *Anesthesiology.* 1996;85(2):295-303.
227. Dahan A, Sarton E, van den Elsen M, van Kleef J, Teppema L, Berkenbosch A. Ventilatory response to hypoxia in humans. Influences of subanesthetic desflurane. *Anesthesiology.* 1996;85(1):60-8.
228. van den Elsen MJ, Dahan A, Berkenbosch A, DeGoede J, van Kleef JW, Olievier IC. Does subanesthetic isoflurane affect the ventilatory response to acute isocapnic hypoxia in healthy volunteers? *Anesthesiology.* 1994;81(4):860-7; rasprava 26A.
229. Pandit JJ. The variable effect of low-dose volatile anaesthetics on the acute ventilatory response to hypoxia in humans: a quantitative review. *Anaesthesia.* 2002;57(7):632-43.
230. Sjögren D, Sollevi A, Ebberyd A, Lindahl SG. Isoflurane anaesthesia (0.6 MAC) and hypoxic ventilatory responses in humans. *Acta Anaesthesiol Scand.* 1995;39(1):17-22.

231. Ide T, Sakurai Y, Aono M, Nishino T. Contribution of peripheral chemoreception to the depression of the hypoxic ventilatory response during halothane anesthesia in cats. *Anesthesiology*. 1999;90(4):1084-91.
232. Ebert TJ, Harkin CP, Muzi M. Cardiovascular responses to sevoflurane: a review. *Anesth Analg*. 1995;81(6 Suppl):S11-22.
233. Hao X, Ou M, Zhang D, Zhao W, Yang Y, Liu J, i sur. The Effects of General Anesthetics on Synaptic Transmission. *Curr Neuropharmacol*. 2020;18(10):936-65.
234. Kotani N, Akaike N. The effects of volatile anesthetics on synaptic and extrasynaptic GABA-induced neurotransmission. *Brain Res Bull*. 2013;93:69-79.
235. Mapelli J, Gandolfi D, Giuliani E, Casali S, Congi L, Barbieri A, i sur. The effects of the general anesthetic sevoflurane on neurotransmission: an experimental and computational study. *Sci Rep*. 2021;11(1):4335.
236. Iguchi N, Kosaka J, Booth LC, Iguchi Y, Evans RG, Bellomo R, i sur. Renal perfusion, oxygenation, and sympathetic nerve activity during volatile or intravenous general anaesthesia in sheep. *Br J Anaesth*. 2019;122(3):342-9.
237. Ma D, Sapsed-Byrne SM, Chakrabarti MK, Whitwam JG. Effect of sevoflurane on spontaneous sympathetic activity and baroreflexes in rabbits. *Br J Anaesth*. 1998;80(1):68-72.
238. Nagayama T. Effects of sevoflurane anesthesia and baroreceptor function on renal sympathetic nerve activity in rats. *Masui*. 1990;39(2):210-8.
239. Okamoto H, Hoka S, Kawasaki T, Okuyama T, Takahashi S. Dose-dependent increases in the renal sympathetic nerve activity during rapid increase in isoflurane concentration in intact, lower airway-deafferented, and baroreceptor-deafferented rabbits. *Anesthesiology*. 1996;84(5):1196-204.
240. Dempsey JA, Veasey SC, Morgan BJ, O'Donnell CP. Pathophysiology of sleep apnea. *Physiol Rev*. 2010;90(1):47-112.
241. Carev M, Valic M, Pecotic R, Karanovic N, Valic Z, Pavlinac I, i sur. Propofol abolished the phrenic long-term facilitation in rats. *Respir Physiol Neurobiol*. 2010;170(1):83-90.
242. Hsieh YH, Jacono FJ, Siegel RE, Dick TE. Respiratory modulation of sympathetic activity is attenuated in adult rats conditioned with chronic hypobaric hypoxia. *Respir Physiol Neurobiol*. 2015;206:53-60.

243. Yamamoto K, Lalley P, Mifflin S. Acute intermittent optogenetic stimulation of nucleus tractus solitarius neurons induces sympathetic long-term facilitation. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2015;308(4):R266-75.
244. Pac-Soo CK, Wang C, Chakrabarti MK, Whitwam JG. Comparison of the effects of inhalational anaesthetic agents on sympathetic activity in rabbits. *Eur J Anaesthesiol*. 2000;17(5):311-8
245. Seagard JL, Hopp FA, Bosnjak ZJ, Osborn JL, Kampine JP. Sympathetic efferent nerve activity in conscious and isoflurane-anesthetized dogs. *Anesthesiology*. 1984;61(3):266-70.
246. Taavo M, Rundgren M, Frykholm P, Larsson A, Franzén S, Vargmar K, Valarcher JF, DiBona GF, Frithiof R. Role of Renal Sympathetic Nerve Activity in Volatile Anesthesia's Effect on Renal Excretory Function. *Function (Oxf)*. 2021;2(6):zqab042.
247. Taoda M, Hashimoto K, Karasawa F, Satoh T. The effect of sevoflurane and enflurane on renal sympathetic nerve activity in sinoaortic denervated rabbits. *Masui*. 2000;49(12):1328-32.
248. Pandit JJ, Buckler KJ. Differential effects of halothane and sevoflurane on hypoxia-induced intracellular calcium transients of neonatal rat carotid body type I cells. *Br J Anaesth*. 2009;103(5):701-10.
249. Franzén S, DiBona G, Frithiof R. Anesthesia and the renal sympathetic nervous system in perioperative AKI. *Semin Nephrol*. 2022;42(3):151283.
250. Zoccal DB, Paton JF, Machado BH. Do changes in the coupling between respiratory and sympathetic activities contribute to neurogenic hypertension? *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2009;36(12):1188-96.
251. Takeda R, Haji A. Cellular effects of isoflurane on bulbar respiratory neurons in decerebrate cats. *Jpn J Pharmacol*. 1993;62(1):57-65.
252. Takita K, Morimoto Y. Effects of sevoflurane on respiratory rhythm oscillators in the medulla oblongata. *Respir Physiol Neurobiol*. 2010;173(1):86-94.
253. Teppema L, Sarton E, Dahan A, Olievier K. Selective depression of peripheral chemoreflex loop by sevoflurane in lightly anesthetized cats. *Adv Exp Med Biol*. 1998;450:155-8.
254. Blackburn MB, Andrade MA, Toney GM. Hypothalamic PVN contributes to acute intermittent hypoxia-induced sympathetic but not phrenic long-term facilitation. *J Appl Physiol (1985)*. 2018;124(5):1233-43.

255. Farnham MMJ, Tallapragada VJ, O'Connor ET, Nedoboy PE, Dempsey B, Mohammed S, i sur. PACAP-PAC1 Receptor Activation Is Necessary for the Sympathetic Response to Acute Intermittent Hypoxia. *Front Neurosci.* 2019;13:881.
256. Madirazza K, Pecotic R, Pavlinac Dodig I, Valic M, Dogas Z. Hyperoxia blunts renal sympathetic nerve activity response to acute intermittent hypercapnia in rats. *J Physiol Pharmacol.* 2019;70(5).
257. Baker TL, Fuller DD, Zabka AG, Mitchell GS. Respiratory plasticity: differential actions of continuous and episodic hypoxia and hypercapnia. *Respir Physiol.* 2001;129(1-2):25-35.
258. Ferreira CB, Cravo SL, Stocker SD. Airway obstruction produces widespread sympathoexcitation: role of hypoxia, carotid chemoreceptors, and NTS neurotransmission. *Physiol Rep.* 2018;6(3):e13536.
259. Stipica I, Pavlinac Dodig I, Pecotic R, Dogas Z, Valic Z, Valic M. Periodicity during hypercapnic and hypoxic stimulus is crucial in distinct aspects of phrenic nerve plasticity. *Physiol Res.* 2016;65(1):133-43.
260. Fink AM, Dean C. Quantifying Acute Changes in Renal Sympathetic Nerve Activity in Response to Central Nervous System Manipulations in Anesthetized Rats. *J Vis Exp.* 2018;(139):58205.
261. Casey DP, Joyner MJ. Compensatory vasodilatation during hypoxic exercise: mechanisms responsible for matching oxygen supply to demand. *J Physiol.* 2012;590(24):6321-6.
262. Cui F, Gao L, Yuan F, Dong ZF, Zhou ZN, Kline DD, i sur. Hypobaric intermittent hypoxia attenuates hypoxia-induced depressor response. *PLoS One.* 2012;7(7):e41656.
263. Saeki Y, Hasegawa Y, Shibamoto T, Yamaguchi Y, Hayashi T, Tanaka S, i sur. The effects of sevoflurane, enflurane, and isoflurane on baroreceptor-sympathetic reflex in rabbits. *Anesth Analg.* 1996;82(2):342-8.
264. Mateika JH, Sandhu KS. Experimental protocols and preparations to study respiratory long term facilitation. *Respir Physiol Neurobiol.* 2011;176(1-2):1-11.
265. McGuire M, Zhang Y, White DP, Ling L. Effect of hypoxic episode number and severity on ventilatory long-term facilitation in awake rats. *J Appl Physiol.* 2002;93:2155-61.
266. Strohl KP, Thomas AJ, St. Jean P, Schlenker EH, Koletsky RJ, Schork NJ. Ventilation and metabolism among rat strains. *J Appl Physiol* 1997;82:317-23.

267. Stuth EA, Stucke AG, Brandes IF, Zuperku EJ. Anesthetic effects on synaptic transmission and gain control in respiratory control. *Respir Physiol Neurobiol.* 2008;164:151-9.
268. Kuribayashi J, Sakuraba S, Kashiwagi M, Hatori E, Tsujita M, Hosokawa Y, i sur. Neural mechanisms of sevoflurane-induced respiratory depression in newborn rats. *Anesthesiology.* 2008;109:233-42.
269. Brun-Pascaud M, Gaudebout C, Blayo MC, Pocidal JJ. Arterial blood gases and acid-base status in awake rats. *Respir Physiol.* 1982;48(1):45-57.
270. Subramanian RK, Sidharthan A, Maneksh D, Ramalingam L, Manickam AS, Kanthakumar P, i sur. Normative data for arterial blood gas and electrolytes in anesthetized rats. *Indian J Pharmacol.* 2013;45(1):103-4.
271. Hara K, Harris RA. The anesthetic mechanism of urethane: the effects on neurotransmitter-gated ion channels. *Anesth Analg.* 2002;94(2):313-8.
272. Maggi CA, Meli A. Suitability of urethane anesthesia for physiopharmacological investigations in various systems. Part 1: General considerations. *Experientia.* 1986;42(2):109-14.
273. Morrison SF. RVLM and raphe differentially regulate sympathetic outflows to splanchnic and brown adipose tissue. *Am J Physiol.* 1999;276(4):R962-73.

## **10. ŽIVOTOPIS**

**Osobni podaci:**

Ime i prezime: **Josip Krnić**  
Adresa: Objedinjeni hitni bolnički prijam  
Klinika za anesteziologiju, reanimatologiju i intenzivno  
liječenje  
Klinički bolnički centar Split  
Spinčićeva 1, 21000 Split  
Telefon: +385 21 556 937  
E-pošta: jkrnic@kbsplit.hr  
Datum i mjesto rođenja: 4. srpnja 1987. u Splitu  
Državljanstvo: hrvatsko

**Obrazovanje i radna mjesta:**

- V Gimnazija Vladimir Nazor, Split (2002 - 2006)
- Doktor medicine - Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu (2006 - 2012)
- Pripravnički staž - Klinički bolnički centar Split (2012 - 2013)
- Doktorski studij “Klinička medicina utemeljena na dokazima” - Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu (2013 - trenutno)
- Specijalizant anesteziologije, reanimatologije i intenzivne medicine - Klinički bolnički centar Split (2014 - 2019)
- Specijalist anesteziologije, reanimatologije i intenzivne medicine - Klinički bolnički centar Split (2019 - trenutno)
- Vršitelj dužnosti Pročelnika Objedinjenoga hitnog bolničkog prijama - Klinički bolnički centar Split (2023 - 2024)
- Pročelnik Objedinjenoga hitnog bolničkog prijama - Klinički bolnički centar Split (2024 - trenutno)

**Stručna usavršavanja:**

- Prijeoperacijska priprema, vođenje anestezije i intenzivno liječenje bolesnika koji podliježu transplantaciji bubrega - Odjel za transplantaciju bubrega KBC Zagreb (2022)
- “*Bleeding management course*“ - Octapharma Academy, Octapharma Nordic AB (2022)

- XVI. tečaj trajne mehaničke respiracijske potpore - Hrvatsko društvo za anesteziologiju i intenzivno liječenje KBC Split (2017)
- Ultrazvukom vođena regionalna anestezija - Klinika za anesteziologiju, reanimatologiju i intenzivno liječenje KBC Split (2016)

#### **Jezične vještine:**

- Engleski jezik                      razumijevanje, govor i pisanje - stupanj C2
- Talijanski jezik                    razumijevanje, govor i pisanje - stupanj B1
- Njemački jezik                    razumijevanje, govor i pisanje - stupanj A1

#### **Članstvo u stručnim udruženjima:**

- Član Hrvatske liječničke komore
- Član Hrvatskog društva za anesteziologiju, reanimatologiju i intenzivnu medicinu

#### **Znanstveni doprinos:**

- Objavljen znanstveni članak na temu *"The effects of volatile anesthetics on renal sympathetic nerve activity and phrenic nerve activity during acute intermittent hypoxia in rats"*
- naslovni asistent na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Splitu na katedrama "Anesteziologija, reanimatologija i intenzivno liječenje" i "Kliničkim vještinama".
- predavao na "Veleučilištu Aspira" - Split, Hrvatska

#### **Humanitarni rad:**

- Aktivni član rotarijanske zajednice - član Rotary Cluba Split; Asistent Guvernera za regiju Dalmacija u posljednje tri rotarijanske godine 2022/2023, 2023/2024 i 2024/2025 - Rotary International District 1913 Croatia
- Osnivač i prvi Upravitelj humanitarne zaklade "Val dobrote" za pomoć djeci, s posebnim naglaskom na prijevremeno rođenu djecu (2019)
- Član Upravnog odbora Zaklade "Srce za Zambiju" s primarnom misijom edukacije i poboljšanja higijenskih uvjeta djece u Zambiji (2020 - 2024)
- Član ekspertne međunarodne radne skupine "COVID 19 Global Task Force" - Rotary International (2020 - 2022)
- Idejni začetnik i voditelj humanitarne akcije u Splitu "Moja učiteljica zove se Nada" (2018/2019)



- Idejni začetnik i voditelj humanitarne akcije u Splitu "Val dobrote za Palčiče" (2019/2020)
- Organizator znanstvenih i društvenih skupova: "Rotary Health Forum: Izazovi suvremenog obrazovanja malih učenika tijekom bolničkog liječenja" (2018) i "2nd Spring Symposium of Applied Cardiovascular Physiology and Treatment in ICU and Anesthesia" (2023)

**Počasti i nagrade:**

- Zahvalnica za rad u Respiracijskom-intenzivističkom centru Križine za vrijeme pandemije corona virusa - KBC Split (2020)
- Posebno priznanje s Guvernerskom distinkcijom za 10 najboljih rotarijanaca zbog predanosti ostvarivanju vizije i strateških ciljeva Distrikta 1913 Hrvatska, promicanja rotarijanskih vrijednosti i nesebičnog služenja u 2018/2019 godini - Rotary District 1913 Croatia (2019)
- Zahvalnica Rotary Cluba München-Martinsried za posvećenost humanitarnom projektu nabavke respiratora i inkubatora za prijevremeno rođenu djecu u KBC-u Split u zajedničkoj humanitarnoj akciji "Val dobrote za Palčiče" - Rotary club München-Martinsried
- Zahvalnica Rotary Cluba 1242 Zagreb za nesebično služenje zajednici za vrijeme zajedničke humanitarne akcije "Moja učiteljica zove se Nada" za opremanje škole u bolnici KBC-a Split - Rotary Club 1242 Zagreb
- Zahvalnica za uspješno obnašanje funkcije Asistenta Guvernera u rotarijanskim godinama 2022/2023 i 2023/2024 - Rotary District 1913 Croatia

**Ostalo:**

- Stipendist grada Splita za vrijeme srednjoškolskog i fakultetskog obrazovanja
- Reprezentativac Republike Hrvatske u mlađim dobnim kategorijama (do 18 godina) u plivanju
- Osvajač brojnih medalja na državnim i međunarodnim natjecanjima u plivanju