

Toni Brešković, dr. med.
Znanstveni novak
Zavod za integrativnu fiziologiju
Sveučilište u Splitu, Medicinski fakultet
Tel: 021 557 889
E-mail: toni.breskovic@mefst.hr

Nadnevak prijave: 16.11.2009.

POVJERENSTVU ZA MAGISTERIJE I DOKTORATE

Predmet: **OBRAZLOŽENJE TEME DOKTORSKE DISERTACIJE**

Naslov teme: **„SENZITIVNOST PERIFERNIH KEMORECEPTORA I SIMPATIČKA ŽIVČANA AKTIVNOST U TRENIRANIH RONILACA NA DAH ZA VRIJEME I NAKON PERIODA INTENZIVNIH APNEJAŠKIH TRENINGA“**

Mentor: **prof.dr.sc. Željko Dujić**
Pročelnik Zavoda za integrativnu fiziologiju
Sveučilište u Splitu, Medicinski fakultet
Tel: 021 557 906
E-mail: zeljko.dujic@mefst.hr

1. UVOD

Osnovna uloga disanja je održavanje odgovarajućih koncentracija kisika ugljičnog dioksida i vodikovih iona u tkivima. Sposobnost živčanog sustava u prilagođavanju alveolarne ventilacije trenutačnim potrebama organizma je razvijena, uslijed dobre razvijenosti i usklađenosti središnje i periferne regulacije disanja, do te mjere da se parcijalni tlakovi kisika i ugljičnog dioksida vrlo malo mijenjaju. Do značajnijih promjena u koncentracijama otopljenih plinova u krvi i acido-baznom statusu ne dolazi ni tijekom stanja povećane energetske potrošnje u organizmu.

Povećana koncentracija CO_2 i H^+ iona u krvi djeluje izravno na centralne kemoreceptore, smještene u ventralnom dijelu produljene moždine, pojačavajući ventilacijski odgovor (1). Naglašen je akutni učinak promjene koncentracije ugljičnog dioksida na središnju regulaciju disanja, dok je kronični učinak neznatan zbog prilagodbe. Nasuprot tome, kisik nema snažan izravni učinak na središnju regulaciju disanja, nego djeluje na periferne kemoreceptore u karotidnim i aortalnim tjelešcima, koji dalje šalju informacije u dišni centar (2). Međutim, jedan od rezultata aktivacije centralnih i perifernih kemoreceptora je periferna vazokonstikcija posredovana porastom aktivnosti simpatičkog živčanog sustava (3, 4).

Određivanje aktivnosti autonomnog živčanog sustava je izrazito složeno u ljudi. Do sada najčešće korištene metode su uključivale snimanje aktivnosti različitih organa poput frekvencije rada srca, protoka krvi, tlaka arterijske krvi i produkcije znoja te na temelju tih indirektnih pokazatelja su se donosili zaključci o radu autonomnog živčanog sustava. Mikroneurografija je, za sada, jedina metoda koja omogućuje direktnu kvantifikaciju adrenergičke aktivnosti u ljudi (5, 6). Tehnika se izvodi koristeći mikroelektrode približnog promjera $100 \mu\text{m}$ i promjera vrha od 1 do $5 \mu\text{m}$. Pomoću tehnike mikroneurografije moguće je zabilježiti aktivnost postganglijskih simpatičkih vlakana koji inerviraju krvne žile u mišićima (mišićna simpatička živčana aktivnost; engl. *muscle sympathetic nerve activity*) ili

kožu (kožna simptička živčana aktivnost; engl. *skin sympathetic nerve activity*). Aktivnost simpatičkih neurona koji inerviraju otporničke krvne žile u skeletnim mišićima predstavlja čimbenik regulacije protoka krvi u periferiji i ukupnog perifernog otpora krvožilja. Izbijanja zabilježena u simpatičkom sustavu ovom metodom su sinkrona sa frekvencijom rada srca, stoga, zabilježeni broj impulsa u minuti ne može premašiti broj otkucaja srca u minuti. Takozvana razina bazalne simpatičke živčane aktivnosti se definira kao broj izbijanja u simpatičkom sustavu tijekom 100 srčanih otkucaja. Ovaj način kvantifikacije živčane aktivnosti predstavlja način na osnovu kojeg se ista može usporediti između više skupina ispitanika. Najvažnija prednost ove tehnike je mogućnost kontinuiranog praćenja promjena u simpatičkoj aktivnosti tijekom različitih podražaja.

Izraženi primjer međusobnog utjecaja prenaglašene senzitivnosti perifernih kemoreceptora na simpatičku živčanu aktivnost je opisan u bolesnika sa opstruktivnom apnjom u spavanju. Svojstvo ovog poremećaja je pojava prekida spontanog disanja u trajanju od 10 ili više sekundi tijekom spavanja. Broj ovakvih prekida u disanju može dosegnuti 300 do 500 tijekom spavanja, rezultirajući sa približno 20% vremena spavanja provedenog u apneji. Učestale nevoljne apneje u bolesnika sa opstruktivnom apnjom u spavanju izlažu te bolesnike učestalim hipoksično/hiperkapničnim podražajima koji za posljedicu imaju prenaglašenu senzitivnost perifernih kemoreceptora (7, 8) povećavajući eferentnu simpatičku živčanu aktivnost i ukupni periferni otpor koji rezultiraju razvojem hipertenzije (4, 9). Nasuprot tome, dosadašnje studije su pokazale da je senzitivnost centralnih kemoreceptora kod ovih bolesnika očuvana (8). Navedeni poremećaji su kronično prisutni u ovih bolesnika i kada se nalaze u budnom stanju (10, 11). Prenaglašena simpatička živčana aktivnost i posljedična arterijska hipertenzija te endotelna disfunkcija u ovih bolesnika predstavljaju faktore rizika za razvoj bolesti srca i krvožilnog sustava (12, 13). Voljno zadržavanje daha u laboratorijskim uvjetima i isprekidana hipoksemija uzrokuju kratkotrajne i dugotrajne

promjene u regulaciji autonomnog sustava (14-16). Isprekidana hipoksija u trajanju od 20 do 30 minuta je dovoljan podražaj koji uzrokuje porast mišićne simpatičke živčane aktivnosti i arterijskog tlaka (15).

Ronioci na dah se uzimaju kao primjer „zdravih“ ljudi koji se učestalo voljno izlažu višeminutnim prekidima u disanju – apneji. Jedna od najraširenijih aktivnosti koja uključuje apneju je podvodni ribolov. Uz nekolicinu ljudi koji se bave navedenom djelatnošću iz komercijalnih i natjecateljskih razloga postoji znatno veća skupina ljudi koji ju prakticiraju rekreativno. Posebnu skupinu ronilaca na dah sačinjavaju trenirani ronioci na dah, koji se bave isključivo apnejaškim natjecateljskim disciplinama. Trenirani ronioci na dah su izloženi ekstremnoj hipoksiji/hiperkapniji tijekom izvođenja maksimalnih apneja. Po završetku maksimalne apneje, parcijalni tlak kisika u plućnim alveoalama može iznositi 20-30 mmHg uz saturaciju arterijske krvi kisikom približno 50% (17, 18). Ronioci na dah sudjeluju u natjecanjima u nekoliko disciplina, statičkoj odnosno dinamičkoj apneji te u disciplini ronjenja s konstantnim opterećenjem (engl. *constant weight*). Tijekom izvođenja statičke apneje, ronilac mirno pluta na površini vode u bazenu te je cilj postići maksimalno moguće vrijeme apneje. Pri izvođenju dinamičke apneje ronilac nastoji preroniti maksimalnu moguću udaljenost. Ronjenje na dah sa konstantnim opterećenjem se izvodi tako da ronilac roni na maksimalnu moguću dubinu uz pomoć peraja uzduž okomito spuštenog konopca. Usprkos izrazito ekstremnim uvjetima u ovom sportu rekordi se konstantno popravljaju. Trenutni svjetski rekordi u statičkoj apneji iznose 11 min 35 s za muškarce i 8 min 23 s za žene, dinamičkoj apneji 250 m za muškarce odnosno 214 m za žene i u apneji sa konstantim opterećenjem 122 m za muškarce odnosno 101 m za žene.¹⁴ Prilikom izvođenja statičke i dinamičke apneje, ronioci su izloženi progresivnoj hipoksičnoj hiperkapniji. Nasuprot tome, tijekom izvođenja discipline s konstantnim opterećenjem, tijekom većeg dijela zarona ronioci

su izloženi hiperoksičnoj hiperkapniji zbog porasta tlaka u alvolama radi pritiska povećanog hidrostatskog tlaka na stjenku prsnog koša.

2. PROBLEMATIKA I CILJEVI ISTRAŽIVANJA

Uzveši u obzir promjene do kojih dolazi prilikom izlaganja učestalim i dugotrajnim apnejama tj. hipoksiji postavlja se pitanje imaju li takvi učestali kronični hipoksični podražaji uzrokovi voljnim apnejama utjecaja na ljudsko zdravlje? Naime, u svijetu postoji značajan broj zdravih i relativno mladih ljudi koji se bave sportovima koji uključuju dugotrajno voljno zadržavanje dah. Primjer takvih sportova su podvodni hokej, sinkronizirano plivanje i konačno, ronjenje na dah u formi natjecateljskog sporta ili podvodnog ribolova koji je dosta raširen.

Cilj predloženog istraživanja je utvrditi javljaju li se u mladim treniranim ronilaca, koji se nalaze u fazi višemjesečnih intenzivnih apnejaških treninga, promjene u osjetljivosti kemoreceptora slične onima kakve se javljaju u bolesnika sa opstruktivnom apnejom u spavanju. Takve promjene bi dovodile do porasta bazalne mišićne simpatičke živčane aktivnosti koja bi uzrokovala porast vazomotornog tonusa i posljedično razvoj hipertenzije u tih ljudi. Nadalje, u slučaju pronalaska tih poremećaja u ronilaca na dah potrebno je utvrditi koliko dugo te promjene opstaju nakon završetka perioda intenzivnih treninga.

3. HIPOTEZA

U treniranim ronilaca na dah koji se nalaze u fazi višemjesečnih intenzivnih apnejaških treninga bazalna simpatička živčana aktivnost je viša od one u kontrolnih ispitanika.

U treniranim ronilaca na dah koji se nalaze u fazi višemjesečnih intenzivnih apnejaških treninga, slično kao i u bolesnika sa opstruktivnom apnejom u spavanju, senzitivnost

perifernih kemoreceptora na podražaj hipoksijom je prenaglašena u odnosu na kontrolne ispitanike.

U treniranih ronilaca na dah nakon prestanka intenzivnih treninga u trajanju od minimalno mjesec dana dolazi do normaliziranja bazalne simpatičke živčane aktivnosti.

U treniranih ronilaca na dah nakon prestanka intenzivnih treninga u trajanju od minimalno mjesec dana dolazi do normaliziranja senzitivnosti perifernih kemoreceptora na podražaj hipoksijom.

4. SADRŽAJ ISTRAŽIVANJA

Istraživanje će se provesti u laboratoriju Zavoda za integrativnu fiziologiju pri Medicinskom fakultetu u Splitu.

Skupinu ronilaca na dah će sačinjavati ronioci koji se natjecateljski bave ronjenjem na dah. Primarne natjecateljske discipline ronilaca će biti statička i/ili dinamička apnjea budući da su upravo prakticiranjem tih dviju disciplina ronioci izloženi najvećim hiposkičnim/hiperkapničnim podražajima. Kontrolnu skupinu će sačinjavati zdravi dobrovoljci približno jednake dobi kao i ronioci na dah. Kontrolni ispitanici će također biti u dobroj fizičkoj spremnosti uz uvjet da sport kojim se bave ne smije uključivati apneju ili bilo kakvo drugo izlaganje hipoksiji. Studija se planira provoditi u jutarnjim satima radi toga da bi ispitanici mogli doći u laboratorij na tašte. Ispitanice će biti testirane za vrijeme folikularne faze menstruacijskog ciklusa (19-21).

Po dolasku u laboratorij ispitanicima će se pojasniti postupci koji će se provoditi tijekom istraživanja. Svi ispitanici će morati pročitati i potpisati obrazac o informiranom pristanku za sudjelovanje u znanstvenom istraživanju. Nakon što ispitanik zadovolji kriterije uključenja u studiju izmjerit će mu se tjelesna visina i težina te napraviti spirometrija. Ispitanik će biti postavljen u ležeći položaj te će se opremiti mjernim uređajima. Potom će se

pristupiti izvođenju tehnike snimanja mišićne simpatičke živčane aktivnosti. U slučaju uspješnog pronalaska peronealnog živca te dobivanja neurograma zadovoljavajuće kvalitete nastavit će se sa izvođenjem pokusa, u suprotnom ispitanik se isključuje iz studije. U nastavku istraživanja slijedi izlaganje ispitanika normokapničnoj hipoksiji. Po završetku hipoksičnog podražaja ispitanik i dalje mirno leži te se svi fiziološki parametri nastavljaju bilježiti narednih 30 minuta. Po isteku 30-minutnog perioda oporavka protokol istraživanja za tog ispitanika je završen. Snimljeni podaci će se analizirati naknadno.

Studija 1

Svrha studije 1 je pokazati perzistira li promjena senzitivnosti perifernih kemoreceptora u treniranih ronilaca na dah više od mjesec dana od prestanka intenzivnih treninga. Zbog toga ronioci će prolaziti protokol nakon više od mjesec dana od završetka perioda intenzivnih treninga.

Studija 2

Svrha studije 2 je pokazati javlja li se poremećaj senzitivnosti perifernih kemoreceptora u samoj fazi intenzivnih višemjesečnih apnejaških treninga. Trajanje faze treninga je minimalno 2 mjeseca. Ronilac na dah u ovoj studiji će prolaziti gore navedeni protokol tijekom perioda intenzivnih treninga.

5. METODE ISTRAŽIVANJA

a) Ispitanici

Ispitivanu skupinu će sačinjavati trenirani ronioci na dah. Kontrolnu skupinu će sačinjavati ispitanici podjednakih karakteristika kao sudionici^N ispitivane skupine izuzev treniranja apneje. Dob ispitanika će biti od 18 do 35 godina starosti. Primarne natjecateljske discipline ronioca na dah moraju biti statička i/ili dinamička apnea. Prosječan intenzitet treniranja mora biti 2-3 apnejaška treninga tjedno u trajanju od minimalno 1 sat. Za potrebe

studije 1, nakon završenog perioda intenzivnih treninga u trajanju od minimalno 2 mjeseca, ispitanici ne smiju imati apnejaške treninge minimalno mjesec dana prije testiranja. U studiji 2 ispitanici će se nalaziti u fazi intenzivnih treninga koja je do trenutka testiranja u laboratoriju trajala minimalno 2 mjeseca. Ronioci na dah ne smiju biti natjecatelji u disciplini apneje s konstantnim opterećenjem ili se intenzivno baviti podvodnim ribolovom. Svi ispitanici u trenutku testiranja moraju biti zdravi, u anamnestičkim podacima ne smiju imati težih oboljenja ili ozljeda.

U prijašnjoj studiji (22) bazalna frekvencija izbijanja mišićne simpatičke živčane aktivnosti u kontrolnih ispitanika je iznosila 33 izbijanja/min uz standardnu devijaciju od 13 izbijanja/min. Uz predodređenu snagu studije od 0,75 i definiranu vjerojatnost alfa pogreške ($\alpha=0,05$) statističkom analizom određen je minimalan potreban broj od 10 ispitanika po skupini da bi se mogla dokazati razlika među skupinama u frekvencijama izbijanja simpatičke živčane aktivnosti od minimalno 50%. U obzir se mora uzeti limitirajući broj dostupnih treniranih ronioca na dah koji zadovoljavaju kriterije uključenja u studiju, te opažena razlika među skupinama u frekvenciji izbijanja mišićne živčane simpatičke aktivnosti u sličnoj studiji (8). Navedena studija je uključivala bolesnike sa opstruktivnom apnejom u spavanju (bazalna frekvencija izbijanja simpatičkog sustava u ovih bolesnika je bila približno 100% veća u odnosu na kontrole). Stoga, minimalna razlika frekvencije izbijanja simpatičke aktivnosti od 50%, koju je u stanju detektirati ovo istraživanje, se smatra relevantnim. Iz tog razloga, u svakoj studiji u ovom istraživanju se planira uključiti po 20 dobrovoljnih ispitanika. Skupine će sačinjavati 10 profesionalnih ronioca na dah te jednak broj kontrolnih ispitanika.

b) Postupci

Antropometrija. Svakom ispitaniku će se izmjeriti tjelesna visina i težina te na osnovu dobivenih podataka izračunati indeks tjelesne mase (engl. *body mass index*). Kaliperom će se

izmjeriti kožni nabori na tri mesta (nadlaktica, trbuh, natkoljenica) te uz pomoć formule Jacksona i Pollocka izračunati indeks tjelesne masti (engl. *body fat index*).

Spirometrija. Ispitanicima će se napraviti dinamička spiometrija u stojećem položaju.

U tu svrhu koristit će se uređaj Quark PFT (Cosmed, Rim, Italija).

Mjerenje zasićenosti hemoglobina kisikom u arterijskoj krvi. Na prst ispitanika postavit će se infracrveni senzor za pulsnu oksimetriju (Poet II, Criticare Systems, Waukesha, WI, SAD).

Hemodinamički parametri. Za kontinuirano mjerenje arterijskog tlaka i bilježenje frekvencije rada srca će se koristiti Finometer uređaj (Finapress Medical Systems, Arnhem, Nizozemska). Isti uređaj će iz podataka o pulsnom valu zabilježenih u manžeti postavljenoj na prst ispitanika kontinuirano izračunavati promjene u vrijednosti udarnog volumena srca koristeći unaprijedenu Wesselingovu metodu (Modelflow program) (23). Ispitanicima će se također postaviti jednokanalni EKG uređaj (Dual Bio Amp/Stimulator, ADInstruments, Castle Hill, Australija).

Snimanje mišićne simpatičke živčane aktivnosti. Za direktno snimanje simpatičke aktivnosti korist će se tehnika mikroneurografije (24). Mikroelektroda visoke impedancije, napravljena od volframa (FHC Inc., Bowdoin, ME, SAD) uvest će se u peronealni živac ispitanika dok će se druga mikroelektroda uvesti pod kožu ispitanika u krugu 5 cm od mjesta uvođenja prve mikroelektrode te će služiti kao referentna elektroda. Dobiveni signal će se pojačati 100.000 puta. Takav signal će se pojednostavljati u rasponu od 0,7 do 2,0 kHz, ispraviti te integrirati koristeći vremensku konstantu od 0,1 s (662C-4, Nerve traffic analysis system, Bioengineering, The University of Iowa, Iowa City; IA, SAD).—

Normokapnična hipoksija. Ispitanici će disati kroz jednosmjernu Y valvulu (Hans-Rudolph 2730 Series, Large 2-way, NRBV, Y Shape, K.C., MO, SAD) čiji inspiratori ulaz će biti povezan na valvulu sa mogućnošću odabira jednog od moguća dva ulaza (Hans

Rudolph 4000 Series Large non mixing, 3-way "Y" Stopcock, K.C., MO, USA). Na taj način, osoba koja izvodi pokus može po potrebi mijenjati izvor udahnutog zraka za ispitanika na disanje sobnog zraka ili mješavinu plinova pohranjenu u rezervoaru. Spirometar (Harvard apparatus, Student model, Holliston, MA, SAD) će služiti kao rezervoar mješavine plinova. Spirometar će biti povezan na plinsku miješalicu. Plinska miješalica će se povezati sa tri komprimirana plinska cilindra (komprimirani zrak, 100% dušik i 100% ugljik-dioksid). Na taj način, pomoću plinske miješalice i tri različita plina moguće je kreirati potrebnu hipoksičnu plinsku smjesu koja će se upumpavati u spirometar. Sastav i volumen udahnutog i izdahnutog zraka će se uzorkovati u usniku te bilježiti na računalu nakon svakog ciklusa udaha-izdaha (Quark b², Cosmed, Rim, Italija). Prije započinjanja hipoksičnog protokola ispitanik će određeno vrijeme udisati zrak radi prilagodbe na disanje kroz sustav. Ujedno će se to vrijeme iskoristiti da bi se odredila bazalna vršna koncentracija ugljičnog dioksida na kraju izdisaja (PetCO₂). Nakon toga, dodavanjem dušika u smjesu, smanjila bi se koncentracija kisika u udahnutoj smjesi, odnosno stvorila progresivna hipoksija. Razina hipoksičnog podražaja će se regulirati promatranjem postotka zasićenosti hemoglobina kisikom u arterijskoj krvi. Planirano je da se hipoksični podražaj pojačava u dva koraka. U prvom koraku cilj bi bio spustiti razinu saturacije arterijske krvi kisikom na približno 90%. Na toj razini arterijske saturacije bi se ispitanika zadržalo 3 minute. Nakon toga bi se razina kisika u udahnutom zraku dodatno smanjila, što bi rezultiralo snižavanjem saturacije arterijske krvi kisikom na 80%. Na toj razini bi se ispitanik zadržao 5 minuta. Normokapnija bi se održavala dodavanjem ugljičnog dioksida u smjesu po potrebi. Nakon isteka petominutnog perioda ispitanik bi započeo udisati sobni zrak i time bi hiposkični protokol bio završen. Planirano je da ispitanik nastavi mirno ležati narednih pola sata za čije vrijeme bi se nastavilo sa snimanjem fizioloških parametara.

Signali iz svih uređaja povezati će se na analogno-digitalni pretvarač (Powerlab/16SP, ADInstruments, Castle Hill, Australija) te pohraniti na osobno računalo. Podaci će se uzorkovati frekvencijom od 1kHz uz pomoć računalnog programa Chart (ADInstruments, verzija 5.5.6.7) te naknadno analizirati.

c) Statistički postupci

Identifikacija izbijanja u zapisu mišićne simpatičke živčane aktivnosti. Izbijanja u integriranom zapisu neurograma moraju zadovoljavati sljedeće uvijete: 1) omjer signal-šum > 2; 2) sinkronizacija sa arterijskim pulsom; 3) latencija u odnosu na R zubac u EKG zapisu od 0,9 do 1,5 s; 4) primjerno trajanje izbijanja (kratki = artefakt, dugi = kožna simpatička živčana aktivnost); 5) vidljiv porast aktivnosti nakon manevara koji povećavaju intratorakalni tlak (npr. Valsalvin manevr); 6) izostanak porasta aktivnosti nakon podražaja glasnim zvukom ili mentalnim opterećenjem.

Kvantifikacija izbijanja mišićne simpatičke živčane aktivnosti. Aktivnost simpatičkog sustava će se kvantificirati na nekoliko načina: 1) frekvencija izbijanja – ukupan broj izbijanja u 1 minuti; 2) incidencija izbijanja – broj izbijanja na 100 otkucaja srca; 3) amplituda pojedinog izbijanja – izračunata površina ispod krivulje (engl. *area under the curve*) za pojedino izbijanje i normalizirana u odnosu na najveće izbijanje u zapisu; 4) ukupna aktivnosti – zbroj površina svih izbijanja u jednoj minuti.

I Kvantifikacija senzitivnosti utjecaja perifernih kemoreceptora na simpatički sustav.

Izračunat će se kao promjena u aktivnosti simpatičkog živčanog sustava u odnosu na promjenu saturacije arterijske krvi kisikom za vrijeme hipoksičnog podražaja.

Kvantifikacija senzitivnosti utjecaja perifernih ^{A1}kemoreceptora na ventilacijski odgovor. Izračunat će se kao promjena u minutnoj ventilaciji u odnosu na promjenu saturacije arterijske krvi kisikom za vrijeme hipoksičnog podražaja.

Podaci će se analizirati u 7 točaka protokola: 1) tijekom trominutnog perioda prije započinjanja hiposkije; 2) tijekom tri minute kada je saturacija hemoglobina kisikom u arterijskoj krvi približno 90%; 3) tijekom zadnje tri minute perioda kada je saturacija hemoglobina kisikom u arterijskoj krvi približno 80%; 4) tijekom tri minute nakon prestanka udisanja hipoksične smjese; tijekom tri minute u 5) 10.; 6) 20. i 7) 30. minuti perioda oporavka.

Svi izračunati podaci će biti prikazani kao aritmetička sredina sa 95% intervalima pouzdanosti. Vrijednost $P<0,05$ će predstavljati granicu statističke značajnosti. Bazalne vrijednosti, vrijednosti u istim mjernim točkama i senzitivnosti kemoreceptora između dvije skupine će se usporediti *t*-testom za nezavisne uzroke. Promjene uzrokovane utjecajem hipoksije na pojedini parametar u istoj skupini će se testirati ANOVA-om za ponavljana mjerena. Bonferronijev test će se koristiti kao *post hoc* test. Interakcije odgovora pojedinih parametara između dvije skupine će se odrediti koristeći *general linear model* za ANOVA-u za ponavljana mjerena. Statistička analiza svih podataka će se napraviti koristeći aplikaciju Statistica (verzija 7.0; Statsoft Inc., Tulsa, OK, SAD).

6. IZJAVA O ULOZI PRISTUPNIKA U ISTRAŽIVANJU

Pristupnik će uz pomoć kontakt osobe pri ronilačkim klubovima sudjelovati u regrutiranju treniranih ronilaca na dahi te kontrolnih ispitanika za potrebe ovog istraživanja.

Upoznat će svakog ispitanika studije o razlozima istraživanja i postupcima koji će se u njemu provoditi.

Za vrijeme istraživanja pristupnik će sudjelovati prilikom mjerjenja tjelesne visine i težine te kožnih nabora ispitanika. Također će sudjelovati u postavljanju znanstvene opreme na ispitanika.

Pristupnik će izvoditi tehniku mikroneurografije pomoću koje će se snimati mišićna simpatička živčana aktivnost.

Za vrijeme udisanja hipoksične smjese pristupnik će uz pomoć plinske miješalice kontrolirati koncentracije pojedinih komponenti smjese plinova koju ispitanik udiše.

Tijekom trajanja cijelog protokola pristupnik će se brinuti da sve aktivnosti teku u skladu sa previdenim planom istraživanja.

Pristupnik će ekstrahirati podatke zabilježene u računalu tijekom pokusa te iste analizirati. Također će analizirati i neurograme mišićne simpatičke živčane aktivnosti.

Pristupnik će napraviti statističku analizu izračunatih podataka.

7. ZNANSTVENI DOPRINOS

Budući da se trenirani ronioci na dah, tijekom svojih intenzivnih treninga izlažu učestalim i značajnim hipoksičnim podražajima, predloženim istraživanjem će se razjasniti javlja li se u toj populaciji ljudi sličan fiziološki poremećaj kakav je već opisan u bolesnika sa opstruktivnom apnejom u spavanju. Pronalazak takvog poremećaja bi značio postojanje preduvjeta za razvoj hipertenzije i drugih oboljenja koja su vezana uz opstruktivnu apneju u spavanju. Navedeno bi imalo utjecaj na relativno veliku populaciju zdravih i relativno mladih ljudi koji svakodnevno prakticiraju sportove, koji ne moraju isključivo biti apneaške discipline već i djelomično uključivati apneju, bilo profesionalno ili rekreativno. U slučaju postojanja poremećaja senzitivnosti perifernih kemoreceptora dodatno bi se razjasnilo koliko dugo isti traje, odnosno je li reverzibilan. Na osnovu rezultata predloženog istraživanja mogao bi se dozirati relativno siguran intenzitet apneaških treninga ili definirati obavezni periodi prestanaka treniranja tijekom trenažnog procesa.

8. ETIČNOST POSTUPAKA

Postupci koji se planiraju koristiti u predloženom istraživanju su opisani u Obrascu za prijavu znanstvenog projekta „Ronjenje na dah i kardiovaskularni sustav“ (MZOŠ, znanstveni projekt br. 216-2160133-0330) te su odobreni od strane Etičkog povjerenstva za biomedicinska istraživanja Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu.

Prilozi:

- Preslika Obrasca za prijavu znanstvenog projekta „Ronjenje na dah i kardiovaskularni sustav“
- Preslika potvrđnice Etičkog povjerenstva za biomedicinska istraživanja Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu
- Preslika obavijesti za potencijalne sudionike u znanstvenom istraživanju
- Preslika obrasca o informiranom pristanku sudionika znanstvenog istraživanja.

9. LITERATURA

1. Gelfand R, Lambertsen CJ. Dynamic respiratory response to abrupt change of inspired CO₂ at normal and high PO₂. J Appl Physiol 1973;35:903-13.
2. Wade JG, Larson CP, Jr., Hickey RF, Ehrenfeld WK, Severinghaus JW. Effect of carotid endarterectomy on carotid chemoreceptor and baroreceptor function in man. N Engl J Med 1970;282:823-9.
3. Sapru HN. Carotid chemoreflex. Neural pathways and transmitters. Adv Exp Med Biol 1996;410:357-64.

4. Somers VK, Mark AL, Zavala DC, Abboud FM. Contrasting effects of hypoxia and hypercapnia on ventilation and sympathetic activity in humans. *J Appl Physiol* 1989;67:2101-6.
5. Mark AL, Victor RG, Nerhed C, Wallin BG. Microneurographic studies of the mechanisms of sympathetic nerve responses to static exercise in humans. *Circ Res* 1985;57:461-9.
6. Wallin G. Intraneuronal recording and autonomic function in man. U: Banister R, urednik. Autonomic failure. London: Oxford University Press; 1983. str. 36-51.
7. Imadojemu VA, Mawji Z, Kunselman A, Gray KS, Hogeman CS, Leuenberger UA. Sympathetic chemoreflex responses in obstructive sleep apnea and effects of continuous positive airway pressure therapy. *Chest* 2007;131:1406-13.
8. Narkiewicz K, van de Borne PJ, Pesek CA, Dyken ME, Montano N, Somers VK. Selective potentiation of peripheral chemoreflex sensitivity in obstructive sleep apnea. *Circulation* 1999;99:1183-9.
9. Wolk R, Somers VK. Cardiovascular consequences of obstructive sleep apnea. *Clin Chest Med* 2003;24:195-205.
10. Grassi G, Facchini A, Trevano FQ, Dell'Oro R, Arenare F, Tana F, i sur. Obstructive sleep apnea-dependent and -independent adrenergic activation in obesity. *Hypertension* 2005;46:321-5.
N
11. Narkiewicz K, Pesek CA, Kato M, Phillips BG, Davison DE, Somers VK. Baroreflex control of sympathetic nerve activity and heart rate in obstructive sleep apnea. *Hypertension* 1998;32:1039-43.

12. Peker Y, Hedner J, Kraiczi H, Loth S. Respiratory disturbance index: an independent predictor of mortality in coronary artery disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;162:81-6.
13. Peker Y, Hedner J, Norum J, Kraiczi H, Carlson J. Increased incidence of cardiovascular disease in middle-aged men with obstructive sleep apnea: a 7-year follow-up. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;166:159-65.
14. Cutler MJ, Swift NM, Keller DM, Wasmund WL, Smith ML. Hypoxia-mediated prolonged elevation of sympathetic nerve activity after periods of intermittent hypoxic apnea. *J Appl Physiol* 2004;96:754-61.
15. Leuenberger UA, Brubaker D, Quraishi S, Hogeman CS, Imadojemu VA, Gray KS. Effects of intermittent hypoxia on sympathetic activity and blood pressure in humans. *Auton Neurosci* 2005;121:87-93.
16. Morgan BJ, Crabtree DC, Palta M, Skatrud JB. Combined hypoxia and hypercapnia evokes long-lasting sympathetic activation in humans. *J Appl Physiol* 1995;79:205-13.
17. Lindholm P, Lundgren CE. Alveolar gas composition before and after maximal breath-holds in competitive divers. *Undersea Hyperb Med* 2006;33:463-7.
18. Overgaard K, Friis S, Pedersen RB, Lykkeboe G. Influence of lung volume, glossopharyngeal inhalation and P(ET) O₂ and P(ET) CO₂ on apnea performance in trained breath-hold divers. *Eur J Appl Physiol* 2006;97:158-64.
19. Minson CT, Halliwill JR, Young TM, Joyner MJ. Influence of the menstrual cycle on sympathetic activity, baroreflex sensitivity, and vascular transduction in young women. *Circulation* 2000;101:862-8.

20. Fu Q, Okazaki K, Shibata S, Shook RP, VanGundy TB, Galbreath MM, i sur. Menstrual cycle effects on sympathetic neural responses to upright tilt. *J Physiol* 2009;587:2019-31.
21. Carter JR, Lawrence JE, Klein JC. Menstrual cycle alters sympathetic neural responses to orthostatic stress in young, eumenorrheic women. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2009;297:E85-E91.
22. Dujic Z, Ivancev V, Heusser K, Dzamonja G, Palada I, Valic Z, i sur. Central chemoreflex sensitivity and sympathetic neural outflow in elite breath-hold divers. *J Appl Physiol* 2008;104:205-11.
23. Jellema WT, Imholz BP, Oosting H, Wesseling KH, van Lieshout JJ. Estimation of beat-to-beat changes in stroke volume from arterial pressure: a comparison of two pressure wave analysis techniques during head-up tilt testing in young, healthy men. *Clin Auton Res* 1999;9:185-92.
24. Hagbarth KE, Vallbo AB. Pulse and respiratory grouping of sympathetic impulses in human muscle-nerves. *Acta Physiol Scand* 1968;74:96-108.

AN