

**SVEUČILIŠTE U SPLITU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**ANTE MIHOVILOVIĆ, dr. med.**

**POVEZANOST SERUMSKE KONCENTRACIJE UROTENZINA II S KLINIČKIM,  
LABORATORIJSKIM I ANTROPOMETRIJSKIM PARAMETRIMA U BOLESNIKA S  
OPSTRUKCIJSKOM APNEJOM TIJEKOM SPAVANJA**

**DOKTORSKA DISERTACIJA**

**Split, veljača 2024.**

Ovaj rad izrađen je u Centru za medicinu spavanja Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu i Kliničkog bolničkog centra Split, Centralnom laboratoriju Kliničkog bolničkog centra Split te na Katedri za patofiziologiju i Katedri za maksilofacijalnu kirurgiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu.

**Voditelj rada:** izv. prof. dr. sc. Joško Božić, dr. med.

## ZAHVALA

*Svesrdno zahvaljujem svom mentoru izv. prof. dr. sc. Jošku Božiću, dr. med., ponajprije na dobroj volji, a potom i na podršci, stručnom vodstvu i utrošenom vremenu koji su bili nasušni tijekom izrade ove doktorske disertacije.*

*Posebna zahvala kolegi dr. sc. Dinku Martinoviću, dr. med. koji je svojim vještinama nesebično pomogao izradi ove studije.*

*Zahvaljujem svim ispitanicima koji su, davši svoju suglasnost, sudjelovali u istraživanju.*

*Zahvaljujem i Sretenu Mihoviloviću, mom ocu, koji je, iako nemedicinar, imao volje i strpljenja čitati ovu doktorsku disertaciju i ukazati mi na nehotične gramatičke i stilske propuste.*

*Na koncu, zahvaljujem svojoj obitelji na nikad ugasloj potpori u svemu, pa tako i u izradi ove disertacije. Osobito hvala Tihani Kusturi koja uvijek veli da nije napravila „ništa posebno“.*

U spomen moje prerano preminule majke Natalije (Tanje):

*Pogledam u nebo.*

*Tu je negdje.*

*Promatra.*

*Sve moje borbe.*

*Zato ne odustajem!*

# SADRŽAJ

|   |    |
|---|----|
| <b>1. UVOD</b> .....  | 12 |
| <b>1.1. N-REM stadiji spavanja</b> .....  | 2  |
| <b>1.2. REM spavanje</b> .....  | 3  |
| <b>1.3. Poremećaji spavanja</b> .....   | 4  |
| <b>1.4. Opstrukijska apneja tijekom spavanja</b> .....                            | 5  |
| 1.4.1 Patofiziologija opstrukijske apneje tijekom spavanja .....                  | 6  |
| 1.4.2. Epidemiologija opstrukijske apneje tijekom spavanja i faktori rizika ..... | 8  |
| 1.4.3. Procjena težine poremećaja disanja tijekom spavanja .....                  | 10 |
| 1.4.4. Klinička slika OSA-e i bolesti povezane s OSA-om .....                     | 12 |
| 1.4.5. Metode probira i dijagnostički postupci za OSA-u.....                      | 15 |
| 1.4.6. Metode liječenja OSA-e.....  | 20 |
| <b>1.5. Urotenzini</b> .....  | 24 |
| 1.5.1. Urotenzin II (UII).....  | 26 |
| 1.5.1.1. Urotenzin II u teleosta.....   | 26 |
| 1.5.1.2. Urotenzin II u ne-teleost riba .....                                     | 26 |
| 1.5.1.3. Urotenzin II u tetrapoda .....   | 27 |
| 1.5.1.4. Urotenzin II receptor.....   | 30 |
| 1.5.1.5. Peptid srodan urotenzinu II .....  | 32 |
| 1.5.1.6. Biološke funkcije urotenzina II.....                                     | 34 |
| 1.5.1.7. Uloga i izražaj urotenzina II u somatskim oboljenjima .....              | 37 |
| 1.5.1.8. Urotenzin II u opstrukijskoj apneji tijekom spavanja.....                | 41 |
| <b>2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA</b> .....  | 42 |
| <b>2.1. Ciljevi istraživanja</b> .....  | 43 |
| <b>2.2. Hipoteze</b> .....  | 43 |
| <b>3. ISPITANICI I POSTUPCI</b> .....   | 44 |
| <b>3.1. Dizajn studije</b> .....  | 45 |
| <b>3.2. Ispitanici</b> .....  | 45 |
| <b>3.3. Postupci</b> .....  | 46 |
| 3.3.1. Antropometrijska mjerenja i fizikalni pregled .....                        | 47 |
| 3.3.2. Upitnici .....   | 47 |
| 3.3.3. Polisomnografija .....   | 48 |
| 3.3.4. Uzorkovanje krvi i laboratorijske analize .....                            | 49 |

|                               |     |
|-------------------------------|-----|
| 3.4. Statističke analize..... | 49  |
| 4. REZULTATI.....             | 51  |
| 5. RASPRAVA.....              | 62  |
| 6. ZAKLJUČCI.....             | 68  |
| 7. LITERATURA.....            | 70  |
| 8. SAŽETAK.....               | 98  |
| 9. SUMMARY.....               | 101 |
| 10. ŽIVOTOPIS.....            | 104 |
| 11. PRIVITCI.....             | 112 |

## POPIS OZNAKA I KRATICA

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

ACPAP – uređaj za potpomognuto disanje automatskim kontinuiranim pozitivnim tlakom (engl. *Continuous Automatic Positive Airway Pressure*)

ACTH – adenokortikotropni hormon

ADMA – asimetrični dimetilarginin (engl. *Asymmetric Dimethylarginine*)

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

ALT – alanin-transaminaza

AST – aspartat transaminaza

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

BPAP – uređaj za potpomognuto disanje dvorazinskim pozitivnim tlakom (engl. *Bi-Level Positive Airway Pressure*)

cDNK – komplementarna deoksiribonukleinska kiselina

CHI3L1 – protein-1 sličan hitinazi-3 (engl. *Chitinase-3-like Protein 1*)

CI – interval pouzdanosti (engl. *Confidence Interval*)

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

CRP – C-reaktivni protein

CV – koeficijent varijacije (engl. *Coefficient of Variation*)

DKT – dijastolički krvni tlak

DNK – deoksiribonukleinska kiselina

DOISNORE50 – upitnik za procjenu rizika od OSA-e (engl. *Diseases, Observed apnea, Insomnia, Snoring, Neck circumference, Obesity, R = are you male, Excessive daytime sleepiness, 50 = age ≥ 50*)

EEG – elektroencefalogram

EIA – enzimski imunotest (engl. *Enzyme Immunoassay*)

EKG – elektrokardiogram

ELISA – enzimski imunotest (engl. *Enzyme-linked Immunosorbent Assay*)

EMG – elektromiogram

EOG – elektrookulogram

ERK – kinaze regulirane izvanstaničnim signalom (engl. *Extracellular signal-Regulated Kinases*)

ESM-1 – molekula 1 specifična za endotelne stanice (engl. *Endothelial Cell Specific Molecule 1*)

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

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

FLRT2 – transmembranski protein bogat fibronektinom leucinom (engl. *Fibronectin Leucine Rich Transmembrane Protein 2*)

GFR – brzina glomerularne filtracije (engl. *Glomerular Filtration Rate*)

GOAL – upitnik za procjenu rizika od OSA-e (engl. engl. *Gender, Obesity, Age, Loud snoring*)

GPCR – G-protein vezani receptor (engl. *G-protein Coupled Receptor*)

HbA1C – hemoglobin A1C (glikirani hemoglobin)

HCY – homocistein (engl. *Homocysteine*)

HDL – lipoprotein velike gustoće (engl. *High Density Lipoprotein*)

HEK-293 – ljudske embrionalne bubrežne 293 stanice (engl. *Human embryonic kidney 293 cells*)

HGNS – neurostimulacija hipoglosalnog živca (engl. *Hypoglossal Nerve Stimulation*)

HIF-1 $\alpha$  – faktor 1- $\alpha$  inducibilan hipoksijom (engl. *Hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$* )

hsCRP – visukoosjetljivi C-reaktivni protein (engl. *High-Sensitivity C-reactive Protein*)

HSP90 – protein toplinskog šoka 90 (engl. *Heat Shock Protein 90*)

HST – kućno testiranje na apneju tijekom spavanja (engl. *Home Sleep Testing*)

ICAM-1 – međustanična adhezijska molekula-1 (engl. *Intercellular Adhesion Molecule 1*),

ICSD – Međunarodna klasifikacija poremećaja spavanja (engl. *International Classification of Sleep Disorders*)

IGF-1 – inzulinu sličan faktor rasta 1 (engl. *Insulin-like Growth Factor 1*)

IL-6 – interleukin-6

IL-8 – interleukin-8

IMA – albumin modificiran ishemijom (engl. *Ischemia Modified Albumin*)

LDL – lipoprotein niske gustoće (engl. *Low Density Lipoprotein*)

Lp-PLA2 – fosfolipaza A2 povezana sa serumskim lipoproteinom (engl. *Lipoprotein-associated Phospholipase A2*)

MAS – mandibularni splint (engl. *Mandibular Advancement Splint*)

MDA – malondialdehid

MMA – maksilomandibularni *advancement*

MRA – uređaj za repoziciju mandibule (engl. *Mandibular Repositioning Appliance*)

mRNA – glasnička ribonukleinska kiselina (engl. *Messenger Ribonucleic Acid*)

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

Nox2 – nikotinamid-adenin-dinukleotid fosfat oksidaza (engl. *Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate Oxidase*)

N-REM – spavanje bez brzih pokreta očiju (engl. *Non Rapid Eye Movement Sleep*)



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

OR – omjer izgleda (engl. *Odds Ratio*)

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

OSAS – sindrom opstruktivne apneje tijekom spavanja (engl. *Obstructive Sleep Apnea Syndrome*)

PBMC – mononuklearna stanica periferne krvi (engl. *Peripheral Blood Mononuclear Cell*)

PKC – protein C kinaza (engl. *Protein Kinase C*)

PLA2 – fosfolipaza A2 (engl. *Phospholipase A2*)

PPAP – uređaj za potpomognuto disanje proporcionalnim pozitivnim tlakom (engl. *Proportional Positive Airway Pressure*)

PSG – polisomnografija

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

RDI – indeks respiratornog poremećaj (engl. *Respiratory Distress Index*)

REI – indeks respiratornih događanja (engl. *Respiratory Event Index*)

REM – spavanje s brzim pokretima očiju (engl. *Rapid Eye Movement*)

RERAs – uzbuđenja povezana s respiratornim naporom (engl. *Respiratory Effort Related Arousals*)

RIA – radioimunotest (engl. *Radioimmunoassay*)

ROS – reaktivne vrste kisika (engl. *Reactive Oxygen Species*)

RT-PCR – lančana reakcija polimeraze sa reverznom transkripcijom (engl. *Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction*)

SANReSP – upitnik za procjenu rizika od OSA-e (engl. *Snoring, Apnea, Nocturia, Rest, Sleepy, Pressure*)

SAQLI – indeks kvalitete života pri apneji tijekom spavanja (engl. *Sleep Apnea Quality of Life Index*)

SKT – sistolički krvni tlak

SpO<sub>2</sub> – zasićenost krvi kisikom (engl. *Saturation of Peripheral Oxygen*)

STOP – upitnik za procjenu rizika od OSA-e (engl. *Snoring, Tiredness during daytime, Observed apnea, high blood Pressure*)

STOP-Bang – upitnik za procjenu rizika od OSA-e (engl. *Snoring, Tiredness during daytime, Observed apnea, high blood Pressure, Body mass index, Age, Neck circumference, male Gender*)

SWS – sporovalno spavanje (engl. *Slow Wave Sleep*)

TNF- $\alpha$  – tumorski faktor nekroze  $\alpha$  (engl. *Tumor Necrosis Factor  $\alpha$* )

TORS – transoralna robotska kirurgija (engl. *Transoral Robotic Surgery*)

TRD – udloga za povlačenje jezika (engl. *Tongue Reatining Device*)

TSH – tireotropni hormon (engl. *Thyroid-Stimulating Hormone*)

UII – urotenzin II (engl. *Urotensin II*)

URP – peptid srodan urotenzinu II (engl. *Urotensin II Related Peptide*)

UTS2R – urotenzin II receptor (engl. *Urotensin II Receptor*)

UVS – ukupno vrijeme spavanja

VCAM-1 – vaskularna stanična adhezijska molekula-1 (engl. *Vascular Cell Adhesion Molecule 1*)

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

## **1. UVOD**

Spavanje je prirodno stanje reducirane svijesti, a izmjenjuje se s budnošću. Ciklička izmjena spavanja i budnosti predstavlja jedan od najznačajnijih bioloških ritmova. Dugo se vjerovalo da je spavanje pasivno stanje koje nema osobit utjecaj na zdravlje. Bihevioralni i fiziološki kriteriji mjereni elektroencefalogramom, elektrookulogramom i elektromiogramom spavanje dijele u dva stanja: spavanje bez brzih pokreta očiju (engl. *Non Rapid Eye Movement*, N-REM) i spavanje s brzim pokretima očiju (engl. *Rapid Eye Movement*, REM) (1).

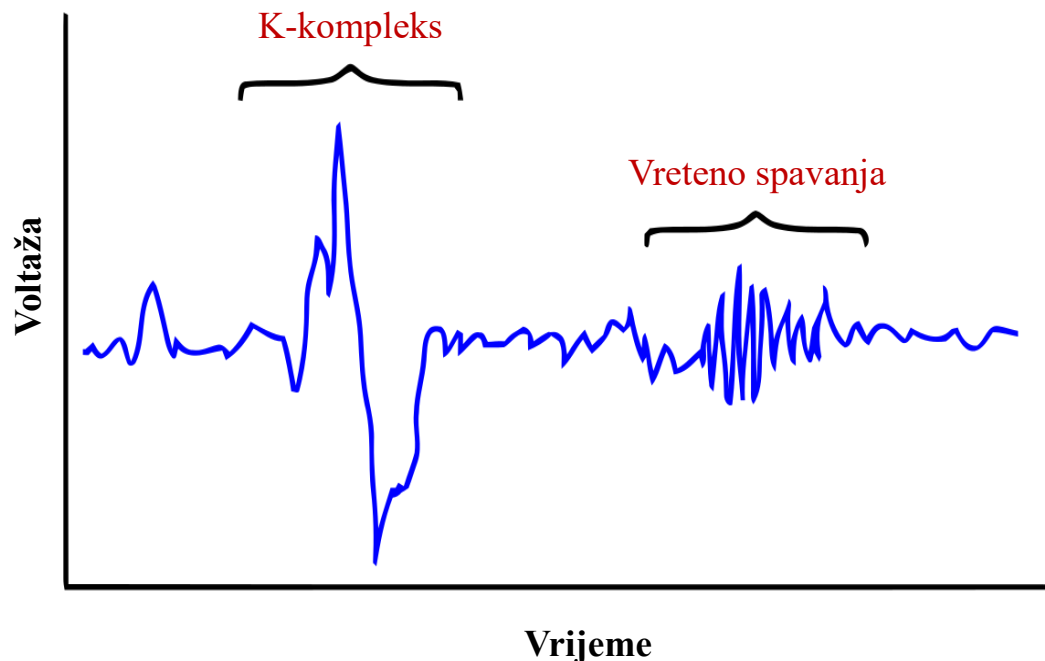
### 1.1. N-REM stadiji spavanja

Postoje tri stadija N-REM spavanja:

1. stadij: to je stadij u kojem se događa prijelaz iz budnog stanja u spavanje, tj. to je stanje u kojem se tone u san. Za vrijeme ove faze usporavaju se srčani ritam i brzina disanja, a tjelesna temperatura i napetost mišića se značajdušismanjuje. U ranom dijelu ove faze sna, elektroencefalogram (EEG) bilježi  $\alpha$ -valove relativno niske frekvencije (8-13 Hz). Ovakav obrazac moždane aktivnosti prisutan je u opuštenih, ali budnih ljudi. Prolaskom kroz 1. stadij sve više se na EEG snimci bilježi aktivnost  $\theta$ -valova koji su niže frekvencije (4-7 Hz), ali su moždani valovi veće amplitude od  $\alpha$ -valova.

2. stadij: u ovom stadiju tijelo je u stanju duboke relaksacije. U ovoj fazi spavanja  $\theta$ -valovi su i dalje dominantni, ali su isprekidani kratkim naletima aktivnosti frekvencije 7-15 Hz poznatima kao „vretena spavanja“ (engl. *sleep spindle*) koji su važni za učenje i pamćenje (2) te K-kompleksima, tj. uzorcima moždane aktivnosti vrlo visoke amplitude koji se ponekad mogu javiti kao odgovor na podražaj iz okoline (3). K-kompleks i vreteno spavanja prikazani su na slici 1.

3. stadij: naziva se i stanje dubokog sna, karakterizirano je  $\delta$ -valovima visoke amplitude, ali niske frekvencije (niže od 3 Hz). Ova faza nekad se naziva i sporovalno spavanje (engl. *slow wave sleep*, SWS), a ti spori valovi ukazuju na visoku sinkroniziranost neuralne aktivnosti (4).



Slika 1. Preuzeto i prilagođeno prema: Halász P. K-complex, a reactive EEG graphoelement of NREM sleep: an old chap in a new garment. *Sleep Med Rev.* 2005;9:391-412. (5)

## 1.2. REM spavanje

REM spavanje, a kako mu i sam naziv govori, karakterizirano je brzim pokretima očiju. Prvi put je opisano 1953. godine (6). Moždana aktivnost se opisuje kao niskonaponska aktivnost visoke frekvencije, a takav desinkronizirani EEG osoba u REM fazi spavanja vrlo je sličan EEG snimci budnih osoba. U REM fazi sna se često sanja, i ako se probudi osobu iz REM faze sna često navodi da je upravo sanjala (7). U ovoj fazi spavanja prisutna je i paraliza mišićnih sustava u tijelu osim onih važnih za cirkulaciju i disanje (8), a slijedom toga u ovoj fazi nema voljnih pokreta mišića. Osim obnavljajućih funkcija (konsolidacija pamćenja i učenja, emocionalna memorija, razvoj mozga, senzomotorni razvoj, regulacija raspoloženja i sl.), REM spavanje bitno je za brojne druge fiziološke funkcije (9). Alkohol i hipoksija su glavni faktori koji utječu na redukciju REM faze spavanja (10).

### 1.3. Poremećaji spavanja

Međunarodna klasifikacija poremećaja spavanja (engl. *International Classification of Sleep Disorders*, ICSD), u svom trećem izdanju objavljenom 2014. godine, poremećaje spavanja svrstava u sedam glavnih kategorija (11):

1. Nesanice,
2. Poremećaji disanja tijekom spavanja,
3. Centralni poremećaji prekomjerne pospanosti,
4. Poremećaji cirkadijalnog ritma spavanja i budnosti,
5. Parasomnije,
6. Poremećaji kretanja povezani sa spavanjem,
7. Ostali poremećaji spavanja.

Poremećaji disanja tijekom spavanja dijele se u četiri velike kategorije, s dodatnim potpodjelama unutar kategorija (11):

1. Opstruktivski apnejički poremećaji tijekom spavanja (engl. *Obstructive Sleep Apnea Disorders*):
  - a. OSA u odrasloj populaciji,
  - b. OSA u pedijatrijskoj populaciji,
2. Sindromi centralne apneje tijekom spavanja:
  - a. Centralna apneja tijekom spavanja s Cheyne-Stokesovim disanjem,
  - b. Centralna apneja tijekom spavanja zbog medicinskog poremećaja, a bez Cheyne-Stokesovog disanja,
  - c. Centralna apneja tijekom spavanja zbog periodičkog disanja na velikoj nadmorskoj visini,
  - d. Centralna apneja tijekom spavanja uzrokovana lijekom ili supstancom,
  - e. Primarna centralna apneja tijekom spavanja,
  - f. Primarna centralna apneja tijekom spavanja u dojenčadi,
  - g. Primarna centralna apneja tijekom spavanja u nedonoščadi,
  - h. Centralna apneja tijekom spavanja nastala tijekom liječenja.

3. Hipoventilacijski poremećaji vezani za spavanje:
  - a. Hipoventilacijski poremećaj pretilosti,
  - b. Kongenitalni sindrom centralne alveolarne hipoventilacije,
  - c. Centralna hipoventilacija s kasnim početkom i s disfunkcijom hipotalamusa,
  - d. Idiopatska centralna alveolarna hipoventilacija,
  - e. Hipoventilacija tijekom spavanja zbog lijekova ili tvari,
  - f. Hipoventilacija tijekom spavanja zbog medicinskog poremećaja.
4. Hipoksemijski poremećaji vezani za spavanje.

#### **1.4. Opstruktivska apneja tijekom spavanja**

Od svih poremećaja disanja tijekom spavanja, opstruktivski apnejički poremećaji tijekom spavanja su najčešći i distribuirani su u svim dobnim skupinama. Respiracijska događanja su klasificirana kao apneje i kao hipopneje, s tim da se apneje dijele na opstruktivske, centralne i mješovite (12).

Opstruktivske apneje se definiraju kao repetitivne epizode kolapsa gornjih dišnih puteva koji vodi u potpuno ili djelomično zatvaranje dišnih puteva, a prilikom kojeg dolazi do pada protoka zraka za više od 90% unatoč kontinuiranom respiracijskom naporu koji traje najmanje 10 sekundi (12, 13).

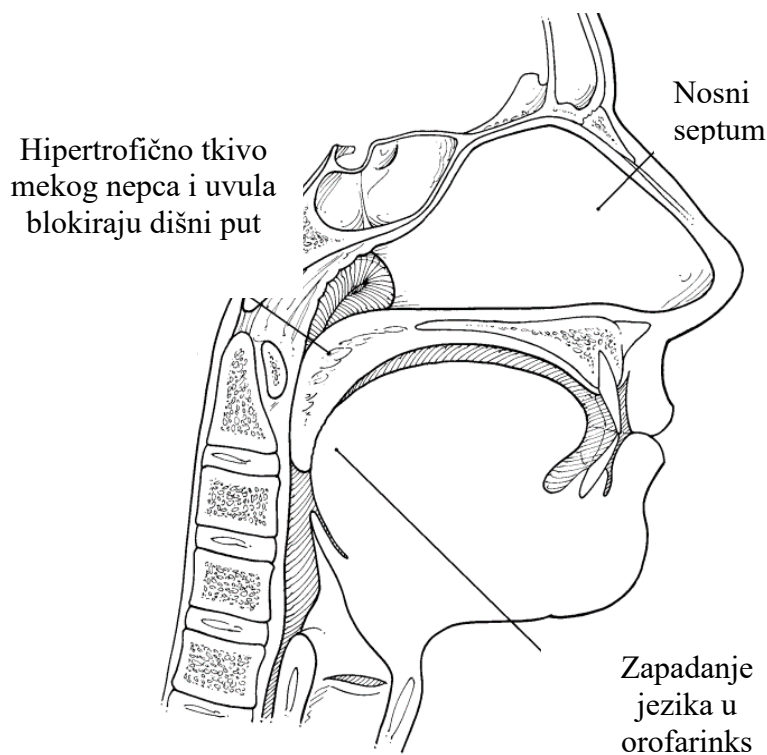
Za razliku od opstruktivskih apneja, hipopneje se, karakterizirane djelomičnim kolapsom gornjih dišnih puteva, definiraju kao sniženje protoka zraka za  $\geq 30\%$  u trajanju od barem 10 sekundi s  $\geq 3\%$  desaturacije kisika i (mikro)buđenjem (noćnom uzbuđenošću) ili, pak, s desaturacijom od  $\geq 4\%$  (12, 14).

S druge strane, centralne apneje su karakterizirane padom protoka zraka za više od 90% u trajanju od najmanje 10 sekundi, ali su popraćene odsutstvom respiracijskog napora jer su dišni putovi otvoreni (13).

Mješovita apneja je po padu protoka zraka identična opstruktivskoj i centralnoj ( $\geq 90\%$ ), ali je karakterizirana inicijalnim izostankom respiracijskog napora koji se potom ipak nastavlja, unatoč izostanku protoka zraka (12).

### 1.4.1 Patofiziologija opstruktivske apneje tijekom spavanja

Gornji dišni putevi, u anatomske smislu, predstavljaju cijev podložnu kolapsu. Opstruktivska apneja tijekom spavanja nastaje kao posljedica kolapsa gornjih dišnih puteva, uglavnom na razini ždrijela. Razlika između intraluminalnog tlaka i tlaka okolnog tkiva naziva se transmuralni tlak. Ukoliko transmuralni tlak prekorači kritični tlak ždrijela ( $P_{CRIT}$ ), uzrokuje kolabiranje tkiva prema unutra i posljedično dovodi do opstrukcije dišnog puta. Sve dok sile ne promijene transmuralni tlak u neto silu tkiva manju od  $P_{CRIT}$ , dišni put ostaje kolabiran i opstruiran. Trajanje OSA-e (engl. *Obstructive Sleep Apnea*) jednako je vremenu prekoračenja  $P_{CRIT}$  (15).



Slika 2. Preuzeto i prilagođeno prema: Madani M. Surgical treatment of snoring and mild obstructive sleep apnea. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am.* 2002;14:333-50. (22)

Imajući u vidu da većina pacijenata s OSA-om pokazuje opstrukciju ždrijela na razini nazofarinksa i orofarinksa, od velike su važnosti i anatomske čimbenici. Primjerice uvećane



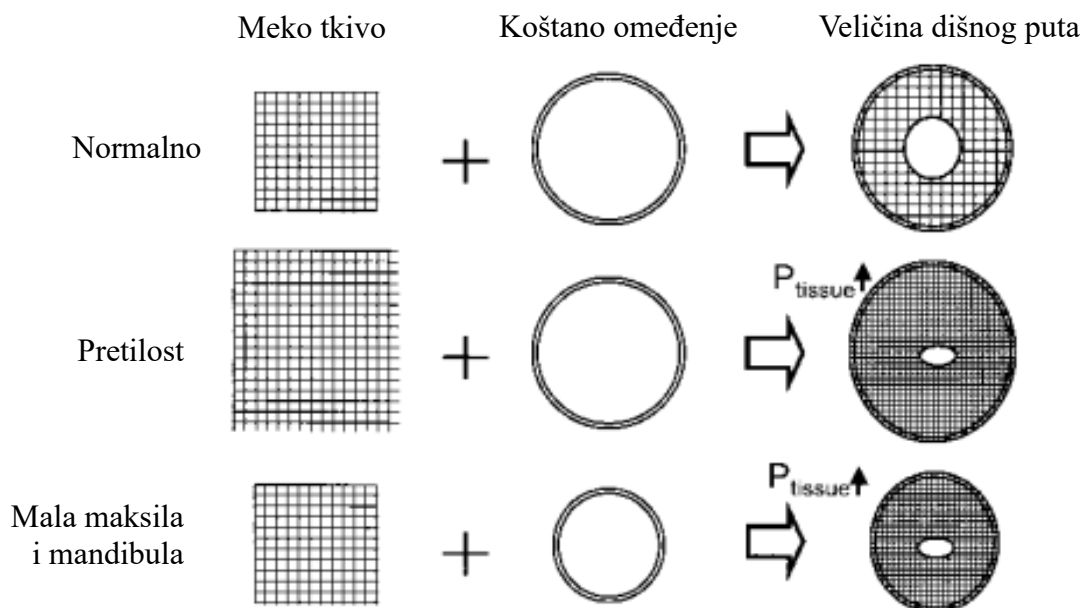
tonzile, makroglosija, hipertrofično limfatičko tkivo na bazi jezika ili stijenkama ždrijela, duljina mekog nepca i uvule kao i abnormalni položaji bilo maksile bilo mandibule, mogu pridonijeti smanjenju površine poprečnog presjeka gornjih dišnih putova, kao i povećanju tlaka koji okružuje dišne putove. I jedno i drugo stvara predispozicije za kolaps dišnog puta (16), što je zorno prikazano na slici 2.

Neuromuskularna aktivnost gornjeg dišnog puta smanjuje se tijekom spavanja, čak i ona refleksna, a to osobito može biti izraženo u oboljelih od opstruktivske apneje tijekom spavanja (17). Smanjena ventilacijska motorna snaga mišića gornjih dišnih puteva je najčešće kritični početni događaj koji posljedično vodi do opstrukcije gornjih dišnih puteva.

U razvoj opstruktivske apneje tijekom spavanja uključeni su statički i dinamički patofiziološki čimbenici. Statički čimbenici su, primjerice, gravitacija (uzrokuje retropoziciju jezika i mekog nepca, osobito u ležećem položaju), smanjenje promjera faringealnog dišnog puta, trahealno povlačenje, držanje vrata i čeljusti, površinske adhezijske sile, ali i svaka anatomska varijacija (primjerice retrognatizam donje čeljusti, hipoplazija maksile ili makroglosija), a svi navedeni čimbenici povećavaju vjerojatnost opstruktivske apneje tijekom spavanja (16, 17).

Dinamički čimbenici su dinamička adherencija, otpor dišnih puteva na razini nosa i ždrijela te Bernoullijev efekt koji igra vrlo važnu ulogu u patofiziologiji nastanka opstruktivske apneje. Sukladno Bernoullijevoj jednadžbi, na mjestu suženja dišnog puta dolazi do povećanja brzine strujanja zraka. Povećanjem brzine strujanja zraka, pritisak na bočnu stijenku ždrijela se smanjuje, a posljedično tomu transmuralni tlak prekorači tlak ždrijela ( $P_{\text{CRIT}}$ ) i dolazi do opstrukcije dišnog puta, kao što je prikazano na slici 3 (15). Upravo se pomoću Bernoullijevog efekta može objasniti zašto pretili pacijenti imaju daleko veću šansu za razvoj opstruktivske apneje tijekom spavanja (18).

Zbog svih navedenih čimbenika, dolazi do repetitivne opstrukcije disanja tijekom noći koja rezultira desaturacijom hemoglobina, tj. hipoksijom te fragmentacijama spavanja. Posljedično se događaju brojni akutni i kronični štetni učinci na organizam, kao što su variranje krvnog tlaka i srčane frekvencije, povećanje negativnog intratorakalnog tlaka, povišenje simpatičkog tonusa, kortikalno buđenje i sl., što, pak, dovodi do povratne sprege s drugim patofiziološkim mehanizmima kao što su upalni, kardiovaskularni, metabolički i sl. (13, 19), ali dovodi i do oksidativnog stresa (20, 21).



Slika 3. Preuzeto i prilagođeno prema: Watanabe T, Isono S, Tanaka A, Tanzawa H, Nishino T. Contribution of body habitus and craniofacial characteristics to segmental closing pressures of the passive pharynx in patients with sleep-disordered breathing. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002;165:260-5. (23)

#### 1.4.2. Epidemiologija opstruktivske apneje tijekom spavanja i faktori rizika

OSA, patofiziološki definirana kao opstrukcija disanja tijekom spavanja, vrlo je česta u odraslih osoba (24). Kohortna studija provedena u Wisconsinu u Sjedinjenim Američkim Državama 1993. godine na 625 ispitanika, državnih zaposlenika u dobi od 30 do 60 godina, pokazala je u 9% žena i u 24% muškaraca poremećaje disanja tijekom spavanja, a koji su se definirali AHI indeksom (engl. *Apnea-Hypopnea Index*)  $\geq 5/\text{sat}$ . Kada se AHI indeksu  $\geq 5/\text{sat}$  prirodno anamnestički podatak pretjerane dnevne pospanosti, definirajući tada OSA-u kao klinički entitet, rezultati studije su pokazali prevalenciju klinički manifestne opstruktivske apneje tijekom spavanja u 2% žena i 4% muškaraca (25, 26). Godine 2015. provedena je HypnoLaus studija u Švicarskoj koja je pokazala da 23,4% žena i 49,7% muškaraca imaju umjereni do teški poremećaj disanja tijekom spavanja (27, 28, 29), a tako visoka prevalencija se objasnila većom osjetljivošću

mjernih tehnika kao i kriterija za vrednovanje i bodovanje (28). Studija *Sleep Heart Health* provedena na 5615 ispitanika pokazala je da 9% žena i 24% muškaraca imaju makar blaži oblik OSA-e (30). Neke studije provedene na azijskoj populaciji su pokazale prevalenciju opstruktivne apneje tijekom spavanja u 3,2% žena i 4,5% muškaraca (31). Međutim, sustavni pregledni članak o prevalenciji OSA-e u azijskoj populaciji zaključio je kako je prisutan nedostatak relevantnih podataka kojima bi se nedvosmisleno mogla utvrditi učestalost OSA-e u toj populaciji (32), a taj zaključak se s pravom može primijeniti i na generalnu populaciju. Unatoč postojećim epidemiološkim člancima, a obzirom na heterogenost prikupljenih podataka, ostaje nedovoljno jasno definirano kolika je točna prevalencija OSA-e među generalnom populacijom (24). Zbog dvojbi oko definiranja OSA-e kao kliničkog sindroma, većina epidemioloških istraživanja upućuje na potrebu daljnjih istraživanja, osobito onih čimbenika koji unose dvosmislenost u utvrđivanje stvarne prevalencije sindroma - istraživanje novih metoda mjerenja poremećaja disanja tijekom spavanja, ali i istraživanje biomarkera za definiranje kliničkog sindroma (24, 32). Young i suradnici su zaključili da gotovo 93% žena i 82% muškaraca ostaje klinički nedijagnosticirano, što ukazuje na značajan javnozdravstveni problem (33), ali i dodatno potvrđuje tezu o potrebi daljnjih istraživanja. Valja naglasiti kako se prevalencija OSA-e bitno razlikuje ovisno o probiru populacije, dijagnostičkim kriterijima OSA-e, kriterijima vrjednovanja i bodovanja, korištenim istraživačkim metodama te pragu AHI indeksa (34). Međutim, zaključno, prema raspoloživim epidemiološkim studijama iz Sjedinjenih Američkih Država (35, 36), Australije (37, 38), Španjolske (39), Kine (40, 41), Indije (42) i Grčke (43) na reprezentativnim uzorcima, da se zaključiti da je prosječna prevalencija OSA-e u žena 2-5%, a u muškaraca 3-7%.

Za nastanak poremećaja disanja tijekom spavanja najvažniji čimbenici su spol, dob i tjelesna masa (30), međutim, uz njih postoje još neki nepromjenjivi (npr. rasa) i promjenjivi čimbenici rizika (npr. uporaba miorelaksansa, hipotireoidizam, konzumacija alkohola, životni stil, kongestija nosa, *kissing* tonzile, endokrini poremećaji, (post)menopauza, pušenje, spavanje na leđima...) (44-46).

U ranije spomenutim studijama spolna distribucija OSA-e je bila 3:1 u korist muškaraca (25, 26), a u populaciji nedijagnosticiranih OSA-a 2:1 u korist muškaraca (44). Muškarci češće oboljevaju od OSA-e zbog funkcijskih i anatomskih razlika u gornjem dišnom putu. Naime, u žena je gornji dišni put kraći, a samim time je njegova sklonost kolabiranju manja. Uz to, muškarci češće oboljevaju od OSA-e zbog androgene distribucije masti (47-49).

Prevalencija OSA-e se značajno linearno povećava porastom dobi, što se jasno može vidjeti na primjeru istraživanja Bixlera i suradnika koji su pokazali da je u ženskih ispitanica u dobi od 20 do 44 godine prevalencija OSA-e (AHI  $\geq$  15) bila 0,6% za razliku od ispitanica starijih od 65 godina gdje je prevalencija OSA-e (AHI  $\geq$  15) bila 7,0% (50).

Isto istraživanje osvrnulo se i na utjecaj tjelesne mase na razvoj OSA-e, pa je tako zaključeno da se u ženskih ispitanica normalne tjelesne težine OSA dijagnosticirala u 0,4% slučajeva, a u pretilih ispitanica (BMI  $\geq$  32,3 kg/m<sup>2</sup>) u 4,8%, dok se u muških ispitanika normalne tjelesne težine OSA dijagnosticirala u 2,0%, a u pretilih (BMI  $\geq$  31.1 kg/m<sup>2</sup>) u 13,8% slučajeva (50). Davies i suradnici su zaključili da su opseg ženskog vrata veći od 37 cm i muškog vrata veći od 43 cm povezani s razvojem OSA-e, što pokazuje da je opseg vrata vrijedan alat u predikciji OSA-e (51).

Logistička regresijska analiza u studiji koju su proveli Ancoli-Israel i suradnici na afro-američkoj populaciji pokazala je dvostruko veću učestalost OSA-e nego u bjelačkoj populaciji (52), međutim, druge studije su pokazale kako je u crne rase tek blago povišen rizik umjerene i teške OSA-e u odnosu na bijelu rasu (30).

Uz navedene činitelje rizika, valja spomenuti i utjecaj nasljeđa. Neke studije pokazuju kako pozitivna obiteljska anamneza povećava rizik od nastanka OSA-e za 2 do 4 puta (44, 53). Osobito važni rizični faktori su kraniofacijalne nepravilnosti koje utječu na funkcionalnu anatomiju gornjeg dišnog puta (54). Primjerice, pacijenti s brahicefalijom, dolihocefalijom, retrognatizmom maksile i/ili mandibule, hipoplazijom maksile i/ili mandibule, rascjepom usne i nepca, kao i s brojnim drugim kraniofacijalnim nepravilnostima uočenima kefalometrijskim analizama imaju značajno veći izgled za razvoj OSA-e (55-60). Za napomenuti je i signifikantno povećanu šansu razvoja opstruktivske apneje tijekom spavanja u pacijenata sa sindromskim oboljenjima kao što su Pierre Robinov sindrom, Downov sindrom, Marfanov sindrom, Prader-Willyjev sindrom i drugi (61-67).

### **1.4.3. Procjena težine poremećaja disanja tijekom spavanja**

Opstruktivska apneja tijekom spavanja karakterizirana je ponavljajućim epizodama opstrukcije gornjih dišnih puteva koji rezultiraju ili potpunim prestankom ili smanjenjem protoka zraka tijekom spavanja. Ako se radi o potpunom prestanku protoka, govorimo o apneji, a ukoliko

je riječ o smanjenom protoku zraka, govorimo o hipopneji. Stupanj težine OSA-e najčešće se definira indeksom AHI (engl. *Apnea-Hypopnea Index*). AHI indeks, tj. broj apneja i hipopneja po satu sna, mjerenih polisomnografijom, ključni je dijagnostički kriterij OSA-e (68). AHI indeks manji od 5/sat predstavlja uredan nalaz,  $AHI \geq 5/\text{sat}$  i manji od 15/sat predstavlja blagu OSA-u,  $AHI \geq 15/\text{sat}$  i manji od 30/sat predstavlja umjereno tešku OSA-u, dok  $AHI \geq 30/\text{sat}$  predstavlja tešku OSA-u (69-71). Ovisno o studiji, AHI indeks se kao dijagnostički kriterij OSA-e može interpretirati kao  $AHI \geq 15/\text{sat}$  ili  $AHI \geq 5/\text{sat}$  udružen s barem jednim kliničkim simptomom (pretjerana pospanost tijekom dana, loša kvaliteta sna, pojačan umor, nesanica, gušenje tijekom spavanja, glasno hrkanje ili komorbiditeti). OSA udružena s kliničkim simptomom naziva se apnejički sindrom (engl. *Obstructive Sleep Apnea Syndrome, OSAS*) (11).

Alternativna metoda procjene OSA-e je indeks RDI (engl. *Respiratory Distress Index*) (72). RDI indeks, kao i AHI indeks, bilježi polisomnografijom dokazani apnejički i hipopnejički respiratorni distress tijekom sna, međutim, za razliku od AHI indeksa, RDI indeks u sebi uključuje i tzv. uzbuđenja povezana s respiratornim naporom (engl. *Respiratory Effort Related Arousals, RERAs*) koja se mogu definirati kao uzbuđenja koja ometaju disanje tijekom spavanja i uglavnom dovode do buđenja, ali se ne mogu klasificirati ni kao apneje ni kao hipopneje (73, 74).

Indeks RDI se računa prema formuli:  $RDI = \frac{\text{RERAs} + \text{apneje} + \text{hipopneje} \times 60}{\text{ukupno vrijeme spavanja u minutama}}$ . Vrlo slično kao i u AHI indeksu, vrijednosti RDI indeksa od 5 do 14,9/sat predstavljaju blagu, od 15 do 29,9/sat predstavljaju umjerenu, a vrijednosti iznad 30/sat predstavljaju tešku OSA-u (75-79).

Kako je već naglašeno, AHI i RDI indeksi se računaju temeljem rezultata polisomnografije. Međutim, sve češće se primjenjuje tzv. *out of center sleep testing*, tj. kućno mjerenje, pa je za interpretaciju rezultata kućnih testova ustanovljen i indeks REI (engl. *Respiratory Event Index*) koji se, za razliku od AHI indeksa izračunatog po formuli:  $AHI = \frac{\text{apneje} + \text{hipopneje}}{\text{ukupno vrijeme spavanja}}$ , računa po formuli:  $REI = \frac{\text{apneje} + \text{hipopneje}}{\text{ukupno vrijeme mjerenja}}$  (76).

Uzimajući u obzir to da povremene desaturacije igraju značajnu ulogu u razvoju komplikacija vezanih uz OSA-u, indeks desaturacije kisika (engl. *Oxygen Desaturation Index, ODI*) može se smatrati relevantnim pokazateljem stupnja OSA-e. Taj indeks se odnosi na prosječan broj epizoda desaturacije koji se javljaju po satu sna, pri čemu se epizode desaturacije definiraju kao smanjenje srednje zasićenosti kisika  $\geq 3\%$  u trajanju od najmanje 10 sekundi kroz protekle dvije minute (80).

Kao dodatni vrijedni alati za dopunu procjene rizika OSA-e su i nekolicina osmišljenih upitnika, kao što su Berlinski upitnik (81), STOP-Bang upitnik (82, 83), Epworthova ljestivca pospanosti i slični (76, 84).

#### **1.4.4. Klinička slika OSA-e i bolesti povezane s OSA-om**

Kliničke manifestacije poremećaja spavanja najčešće rezultiraju poremećajem dnevnog funkcioniranja. Pri tome se, u prvom redu, misli na pretjeranu dnevnu pospanost koja se događa u raznim dnevnim situacijama unatoč primjerenom trajanju sna. Navedena pretjerana dnevna pospanost vodeći je simptom pacijenata s OSA-om. Pretjeranu pospanost pacijenti često svladavaju tjelesnim aktivnostima, međutim, čim se nađu u monotonim situacijama kao što su gledanje televizije, vožnja automobila ili čitanje, događa im se nenamjerno uspavljanje ili izražena želja za uspavljanjem (85). Ono što je za liječnika kliničara jako bitno znati jest to da pacijenti termin „pretjerana pospanost“ često zamjenjuju terminima „umor“ i „nedostatak energije“. Studije pokazuju da je u 15% do čak 50% oboljelih od OSA-e prisutna pretjerana dnevna pospanost. Međutim, osim pretjerane pospanosti, pacijenti se liječniku često javljaju i radi nespecifičnih simptoma kao što su poremećaj koncentracije i pamćenja, glavobolja (osobito jutarnja), razdražljivost ili smanjen libido i impotencija, a koji se mogu dovesti u snažnu kliničku korelaciju s OSA-om. Obzirom na postupni nastanak simptoma, vrlo često je ove simptome klinički teško povezati i prepoznati, već ih se u najvećoj mjeri pripisuje starenju. Različite studije pokazuju da je glasno hrkanje, kao jedan od vodećih simptoma OSA-e, prisutno u 44% do 89% pacijenata (86, 87). Studije pokazuju da je u gotovo 30% oboljelih od arterijske hipertenzije nezavisni uzrok nastanka upravo apneja tijekom spavanja. Važno je naglasiti da čak i pacijenti s blagom OSA-om, čiji je AHI indeks 5-15/sat, imaju značajno veću šansu razvoja arterijske hipertenzije (85). Zbog toga se u novodijagnosticiranih pacijenata s arterijskom hipertenzijom preporuča uraditi dijagnostiku poremećaja spavanja, što govori u prilog toga da se hipertenzija može smatrati jednim od manifestnih kliničkih znakova OSA-e. U bolesnika s OSA-om često je prisutna i nikturija. Romero i suradnici su u studiji na 1007 ispitanika zaključili da je nikturija jednako bitan simptom OSA-e kao i hrkanje (88).

Pretili muškarac koji glasno hrče prilikom spavanja, koji se tijekom spavanja guši i nemirno spava, a koji je po danu pospan i umoran te pati od dosta komorbiditeta najčešći je prikaz tipičnog pacijenta oboljelog od apnejičkog sindroma (89).

OSA je nezavisni čimbenik rizika za nastanak brojnih kardiovaskularnih bolesti (90). Bolesti koronarnih arterija, infarkt miokarda, srčano zatajenje, fibrilacija atriya ili cerebrovaskularni inzult samo su neki od primjera u kojima se pokazalo da imaju značajno veću stopu incidencije u oboljelih od OSA-e u usporedbi s općom populacijom (91, 92, 93). Europsko kardiološko društvo je 2016. godine donijelo preporuku po kojoj je pacijentima s fibrilacijom atriya poželjno obaviti dijagnostiku OSA-e, te se liječenje OSA-e treba provesti u sklopu optimizacije liječenja fibrilacije atriya (94). Gotovo 20% bolesnika s OSA-om ima plućnu hipertenziju ili u mirovanju ili nakon izloženosti naporu. U 5-10% slučajeva oboljelih prisutno je zatajenje desnog srca, policitemija te noćne bradikardne aritmije (95). Temeljni mehanizmi povezuju se s intermitentnom hipoksijom tijekom OSA-e te konsektivnom normoksijom, a koji potiču nastanak ROS (engl. *Reactive Oxygen Species*) u sklopu povećanog oksidativnog stresa. Osim ovoga, prisutna je i disregulacija dušikovog oksida (NO) pri kojoj je zamijećeno smanjenje razine derivata NO, a koji je u mnogome bitan za facilitaciju vazodilatacije. Prisutna je i disregulacija vazokonstriktornih puteva koji uključuju endotelin-1, receptor endotelina A i intracelularnu osjetljivost na kalcij (85, 96, 97).

U OSA-i su povećani markeri upale, uključujući C-reaktivni protein, TNF- $\alpha$  te druge citokine, a upala pridonosi oksidativnom stresu. Granulociti, CD4 i CD8 T-stanice pokazuju znakove aktivacije te njihova interakcija s endotelom može potaknuti aterogenezu. Povećane su i razine fibrinogena s posljedičnom povećanom viskoznošću krvi koja može biti faktor vaskularnih komplikacija. Stimulacijom perifernih kemoreceptora hipoksija dovodi do povećane aktivnosti simpatikusa, a posljedična aktivacija sustava renin-angiotenzin-aldosteron doprinosi razvoju hipertenzije (85, 98-101).

Nikturija praćena povećanim izlučivanjem natrija i atrijskog natriuretskog peptida te smanjenim noćnim izlučivanjem renina uzrokovana je povećanom simpatičkom aktivnošću i posljedično povećanom glomerularnom filtracijom. Često komorbiditetno prisutna pretilost i hipertenzija u kombinaciji s glomerularnom hipertrofijom mogu dovesti do oštećenja glomerula opisanih kao fokalna segmentalna glomeruloskleroza. Novije studije sugeriraju da OSA, neovisno

o drugim rizičnim čimbenicima, dovodi do blage albuminurije, što ukazuje na disfunkciju bubrežnog endotela (85, 88).

Osim navednih, prisutni su i brojni drugi komorbiditeti, primjerice gastroezofagealna refluksna bolest, bruksizam s posljedičnom artralgijom i disfunkcijom temporomandibularnog zgloba, periodontitis i brojni drugi. Važno je za naglasiti i postojanje komorbiditeta koji su u dvosmjernom odnosu s OSA-om. U prvom redu tu je metabolički sindrom čija je kompleksna povezanost s OSA-om dvosmjerna (102). Mnogi pacijenti s OSA-om su pretili i smatra se da je pretilost jedan od bitnih čimbenika razvoja OSA-e. Međutim, postoje brojne hipoteze temeljene na patofiziologiji OSA-e, a koje govore u prilog dvosmjernog odnosa. Nakupljena mast u vratu pridonosi suženju gornjih dišnih putova i njihovoj posljedičnoj kolapsibilnosti. Međutim, intermitentna hipoksija karakteristična za OSA-u izaziva protuupalni odgovor u visceralnom masnom tkivu, što posljedično dovodi do inzulinske rezistencije. Borel i suradnici su svojom studijom iz 2012. godine dokazali da pretili muškarci s OSA-om gube manje na težini nakon provođenja jednogodišnjeg plana i programa prehrane i vježbanja u odnosu na pretilu muškarce bez OSA-e, što govori u prilog dvosmjernog odnosa pretilosti i OSA-e (103).

Iako je sve više dokaza da je OSA nezavisni čimbenik rizika za nastanak šećerne bolesti (104), ipak se sve više govori i o dvosmjernom odnosu OSA-e i šećerne bolesti. Povijesna kohortna studija provedena na 8678 odraslih ispitanika pokazala je da su pacijenti s teškom OSA-om imali 30% veći rizik za razvoj dijabetesa od onih bez OSA (105). Studija provedena na 297713 ispitanika pokazala je da je OSA neovisno povezana s povećanim rizikom od dijabetesa, dok je dijabetes ovisan o inzulinu neovisno povezan s većim rizikom od OSA-e, osobito u žena (106).

OSA je čimbenik rizika nastanka cerebrovaskularnog infarkta i pacijenti s OSA-om imaju gotovo dvostruko veću učestalost nego pacijenti bez OSA-e (107). Ranije spominjana studija *Sleep Heart Health* pokazala je nedvojbenu povezanost OSA-e i cerebrovaskularnog infarkta te je naglasila rizik nastanka infarkta u mlađih osoba korelirajući je s AHI indeksom (25), a kohortna studija provedena 1993. godine u Wisconsinu je pokazala povećan rizik od cerebrovaskularnog infarkta u onih s  $AHI \geq 20$  s omjerom izgleda (engl. *odds ratio*, OR) 4,3 (30). Literatura navodi da prisutnost OSA-e značajno povećava rizik od rekurentnog ili ponovljenog moždanog udara (108). No, i u slučaju cerebrovaskularnog infarkta postoji dvosmjerni odnos s OSA-om, osobito zbog toga što arhitektura spavanja nakon moždanog udara može oslabiti mehanizme kontrole disanja na



centralnoj razini, ali može negativno utjecati i na mišićnu funkciju u gornjim dišnim putevima zbog čega se povećava rizik kolapsa dišnog puta (109-111).

Greenberg-Dotan i suradnici su u svojoj studiji iz 2014. provedenoj na 2986 ispitanika zaključili da je, uspoređujući s kontrolnom populacijom, veća prevalencija kronične opstruktivske plućne bolesti i astme u oboljelih od OSA-e (112). Međutim, Zhao i suradnici su u studiji provedenoj 2016. godine na 853 muška ispitanika prosječne dobi 80,7 godina, koji žive u staračkim domovima, pokazali da je prevalencija kronične opstruktivske plućne bolesti bila manja u onih s OSA-om (113). Ovakvi dihotomni podatci navode na potrebu daljnjeg istraživanja međudnosa opstruktivskih plućnih bolesti i OSA-e (102).

Osim somatskih, OSA je povezana i s nekim psihičkim poremećajima. Depresija je najznačajni predstavnik psihičkih poremećaja koji se dovodi u vezu s OSA-om. Studija provedena na 18980 ispitanika pokazala je da je u bolesnika s OSA-om ili s depresijom, čak jedna petina njih imala i drugi poremećaj, što snažno govori u prilog njihovog međusobnog recipročnog suodnosa (114). Između 20% i 40% pacijenata s OSA-om boluje i od depresije, a studije pokazuju kako se pojavnost depresije povećava s težinom OSA-e mjerene AHI indeksom (115). Također, velika je pojavnost komorbidnosti OSA-e i posttraumatskog stresnog poremećaja (116, 117). Novije studije pokazuju moguću povezanost OSA-e s razvojem Alzheimerove bolesti (118).

#### **1.4.5. Metode probira i dijagnostički postupci za OSA-u**

Kako smo već ranije naveli, tipična klinička prezentacija pacijenta s OSA-om je glasno hrkanje, gušenje i hvatanje zraka tijekom spavanja, nikturija, jutarnja suhoća usta, glavobolja (obično jutarnja), pretjerana dnevna pospanost ili umor i nedostatak energije te teškoće upamćivanja i koncentracije (89, 119). Navedeno se najčešće dijagnosticira (hetero)anamnestički, tj. temeljem podataka pacijentovog partnera, a to se naziva osvjedočena apneja (engl. *witnessed apnea*) (120-122).

Osim (hetero)anamnestičkih podataka, u dijagnostici, ali i u metodi probira OSA-e može pomoći fizikalni pregled, iako on nije specifičan za OSA-u. Njime se utvrđuju neki osnovni parametri koji bi mogli biti prediktivni za OSA-u, kao što su Queteletov indeks, tj. indeks tjelesne mase (engl. *Body Mass Index*, BMI) te opseg cirkumferencije vrata. Naime, istraživanja su

pokazala kako su opseg ženskog vrata veći od 37 cm i opseg muškog vrata veći od 43 cm predilektivni za OSA-u (51). Potrebno je pacijentu izmjeriti krvni tlak, obzirom da se vrijednosti tlaka mogu dovesti u snažnu korelaciju s OSA-om (85). Potreban je i pregled nosa prilikom kojeg se mogu uočiti eventualni polipi ili devijacije septuma. Orofaringoskopskim pregledom se u oboljelih od OSA-e često mogu uočiti elongirana i uvećana uvula te mlohavo meko nepce, usko orofaringealno ušće, uvećan jezik i/ili tonzile (ponekad i *kissing* tonzile), obilni ždrijelni sluznični nabori ili, eventualno, neka od kraniofacijalnih deformacija kao što su retrognatizam ili mikrognatizam čeljusti (123). Također se, orofaringoskopskim pregledom, može utvrditi Mallampati klasifikacija, pri čemu su Mallampati III i IV prediktivni čimbenici za nastanak OSA-e (124, 125). Ono što valja naglasiti je da uredni fizikalni nalaz nužno ne isključuje postojanje OSA-e.

U probiru i dijagnostici OSA-e primjenjuju se i brojni upitnici, od kojih su najčešće upotrebljavani STOP upitnik, STOP-Bang upitnik, Berlinski upitnik (engl. *Berlin Questionnaire*), Pitsburški indeks kvalitete spavanja (engl. *Pittsburgh Sleep Quality Index*, PSQI), Indeks kvalitete života pri apneji tijekom spavanja (engl. *Sleep Apnea Quality of Life Index*, SAQLI), Epworthova ljestvica pospanosti (engl. *Epworth Sleepiness Scale*, ESS) i drugi.

STOP upitnik sastoji se od svega četiri pitanja koja se odnose na hrkanje, dnevni umor, zamijećene apneje i povišeni krvni tlak, a naziv mu je akronim početnih slova engleskih riječi koje opisuju što upitnik ispituje (engl. *Snoring, Tiredness during daytime, Observed apnea, high blood Pressure*, STOP) (126). STOP-Bang upitnik se sastoji od osam pitanja, od kojih se prva četiri odnose na istovjetne podatke kao i STOP upitnik, a druga četiri pitanja se odnose na indeks tjelesne mase, dob, cirkumferenciju vrata i spol, a naziv mu je, kao i u STOP upitniku akronim početnih slova engleskih riječi (engl. *Snoring, Tiredness during daytime, Observed apnea, high blood Pressure, Body mass index, Age, Neck circumference, male Gender*, STOP-Bang) (82). STOP i STOP-Bang upitnici su relativno osjetljivi, ali nisu specifični testovi. PSQI su 1988. razvili Buysse i suradnici s ciljem stvaranja standardiziranih mjera o subjektivnoj prirodi navika spavanja. Sastoji se od 19 stavki, mjeri nekoliko aspekata spavanja, a nudi sedam komponentnih i jedan kompozitni rezultat (127, 128). SAQLI je upitnik o kvaliteti života za osobe s apnejom tijekom spavanja koji se sastoji od 84 pitanja. Doduše, ovaj upitnik je primarno dizajniran za praćenje mjera ishoda liječenja OSA-e (129). ESS ljestvica, dizajnirana 1991. godine od Murraya Johnsona u bolnici Epworth u australskom Melbournu, namijenjena je mjerenju prekomjerne dnevne pospanosti. U

upitniku se subjektivno ocjenjuje vjerojatnost da će ispitanik zaspati u nekoj od ponuđenih svakodnevnih životnih situacija. ESS se prvenstveno koristi u OSA-i, ali je pokazala svoju učinkovitost i u otkrivanju narkolepsije i hipersomnije (130, 131). U novije vrijeme predlažu se i neki novi upitnici, poput SANReSP upitnika (engl. *Snoring, Apnea, Nocturia, Rest, Sleepy, Pressure*) (132), DOISNORE50 upitnika (engl. *Diseases, Observed apnea, Insomnia, Snoring, Neck circumference, Obesity, R = are you male, Excessive daytime sleepiness, 50 = age ≥ 50*) (133) i GOAL upitnika (engl. *Gender, Obesity, Age, Loud snoring*) koji uključuje i subjektivne i objektivne varijable (134, 135), međutim, još nisu naišli na širu kliničku upotrebu i još uvijek se procjenjuje njihova valjanost.

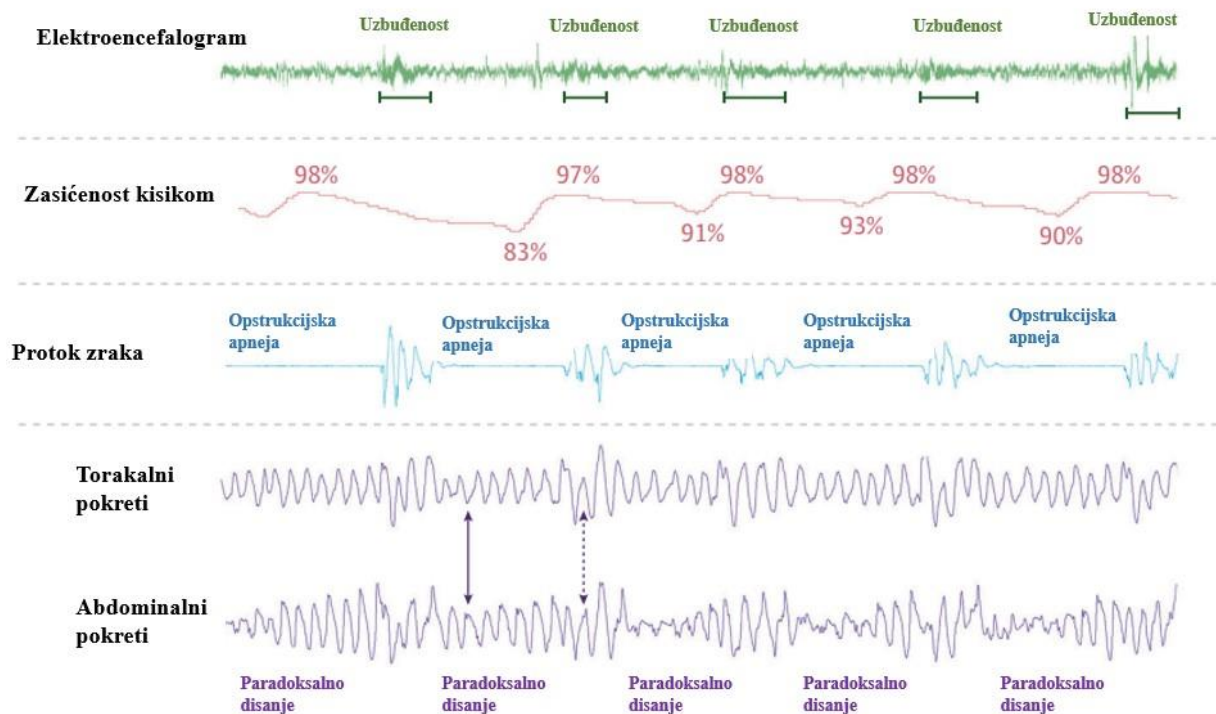
Ukoliko anamneza, fizikalni pregled te subjektivni upitnici ne ukažu na simptomatologiju iz kruga OSA-e, nije preporučena daljnja dijagnostika, osim u slučajevima kada se radi o pacijentima sa specifičnim zanimanjima kao što su piloti ili profesionalni vozači (136, 137, 138) te u pacijenata s rezistentnom arterijskom hipertenzijom (139). Međutim, ukoliko se temeljem osnovnih dijagnostičkih i prediktivnih alata postavi sumnja na postojanje OSA-e, potrebno je uraditi standardnu objektivnu dijagnostiku (139).

Standardni dijagnostički test za OSA-u je cjelonoćna polisomnografija (PSG), tijekom koje se prate parametri spavanja i disanja, a koja se provodi u laboratorijskim uvjetima u centrima za poremećeje spavanja, a što se jasno vidi iz slike 4. Polisomnografija uključuje mjerenje:

1. protoka zraka kroz nos pomoćnu nosne kanile ili protoka zraka kroz nos i usta korištenjem toplinskog senzora,
2. respiracijskog napora pomoću abdominalnih i torakalnih indukcijskih traka,
3. zasićenje krvi (hemoglobina) kisikom pomoću pulsne oksimetrije,
4. hrkanja korištenjem mikrofona nad dušnikom ili filtriranjem niskofrekventnih signala iz nosne kanile,
5. stadija sna pomoću elektroencefalograma (EEG), elektrookulograma (EOG) i elektromiograma (EMG),
6. srčane aktivnosti pomoću elektrokardiograma (EKG) i
7. položaja tijela i pomicanja nogu pomoću elektromiograma (139).

Uz navedene parametre, često je u polisomnografsko testiranje uključen i video-nadzor pacijenta kako bi se zabilježili pokreti, hodanje tijekom spavanja ili epileptični napadaji (85).

Polisomnografija se, osim u svrhu dijagnostike OSA-e, koristi i za praćenje i kontroliranje terapijskih učinaka nakon započete i provedene terapije OSA-e (140).



Slika 4. Preuzeto i prilagođeno prema: Gottlieb DJ, Punjabi NM. Diagnosis and management of obstructive sleep apnea: a review. JAMA. 2020;323:1389-400. (139)

Osim cjelonoćne polisomnografije, u novije vrijeme se sve više upotrebljava poligrafija (PG) ili kućno testiranje na apneju tijekom spavanja (engl. *Home Sleep Testing*, HST). Kućni test na apneju tijekom spavanja ne mjeri sve parametre kao što to mjeri polisomnografija. Kućno testiranje se sastoji od mjerenja protoka zraka, respiracijskog napora i zasićenosti hemoglobina kisikom, ali izostavlja elektroencefalogramske, elektrookulogramske, elektromiogramske i elektrokardiogramske zapise koji su uključeni u mjerenje pri polisomnografskom testiranju. HST ima i visoku osjetljivost (79% [95% CI, 71%-86%]) i visoku specifičnost (79% [95% CI, 63%-89%]). Ipak, u pacijenata koji su metodama probira proglašeni kao visokosuspektni na OSA-u, u 25% do 50% slučajeva HST daje lažno negativne rezultate. Slijedom toga, pacijente koji imaju

visok indeks pretjerane dnevne pospanosti i koji imaju visoku kliničku sumnju na OSA-u, unatoč eventualnom negativnom HST nalazu, treba podvrći cjelonoćnoj polisomnografiji kako bi se sa sigurnošću potvrdilo ili isključilo postojanje OSA-e (139).

Iako je cjelonoćna polisomnografija provedena u laboratorijskom okruženju preciznija metoda vrednovanja OSA-e nego što je to poligrafija, HST se ipak sve više primjenjuje u kliničkoj praksi, i to iz nekoliko razloga. Prvi od tih razloga je što je HST ekonomski povoljniji za više od nekoliko puta negoli PSG. Literatura navodi da je u Sjedinjenim Američkim Državama prosječna cijena PSG oko 700\$, dok je HST oko 250\$ (141). Osim ekonomskog faktora, HST je nekim pacijentima prihvatljiviji obzirom da se test provodi u vlastitom domu za razliku od PSG koja se provodi u centrima za spavanje. Naime, neki pacijenti koji se podvrgavaju PSG mogu osjetiti anksioznost i nelagodu povezanu sa spavanjem van uobičajenog kućnog okruženja (141). Valja spomenuti i to da je HST dostupniji negoli je PSG, pa se uporabom HST može značajno smanjiti lista čekanja na nužne somnološke pretrage (142).

Uvažavajući činjenicu po kojoj je OSA patofiziološki usko povezana s upalom, endotelnom disfunkcijom, oksidativnim stresom i metaboličkim promjenama, činiteljima koji su odgovorni za neurološke, kardiovaskularne i ine patološke promjene, sve više se radi na istraživanju potencijalnih biomarkera za OSA-u. Recentna literatura tako navodi 30-ak potencijalnih biomarkera (mjerenje razine u serumu, plazmi ili ekspresija gena), čija su preliminarna istraživanja pokazala da bi mogli biti korisni u dijagnostici OSA-e: C-reaktivni protein (CRP), trigliceridi, HDL kolesterol (engl. *High Density Lipoprotein*), LDL kolesterol (engl. *Low Density Lipoprotein*), ALT (alanin-transaminaza), AST (aspartat transaminaza), kortizol, TNF- $\alpha$  (engl. *Tumor Necrosis Factor*), albumin modificiran ishemijom (engl. *Ischemia modified albumin*, IMA), cistatin C, mRNA ADAM29 metalopeptidaza, FLRT2 (engl. *Fibronectin Leucine Rich Transmembrane Protein 2*), SLC18A3 (engl. *Solute Carrier Family 18 Member A3*) u mononuklearnim stanicama periferne krvi (engl. *Peripheral Blood Mononuclear Cell*, PBMC), YKL-40 (poznatiji kao protein-1 sličan hitinazi-3 (engl. *Chitinase-3-like Protein 1*, CHI3L1), endocan (ranije poznat kao ESM-1 (engl. *Endothelial Cell Specific Molecule-1*)), protein toplinskog šoka (engl. *Heat Shock Protein 90*, HSP90), fosfolipaza A2 povezana sa serumskim lipoproteinom (engl. *Lipoprotein-associated Phospholipase A2*, Lp-PLA2), interleukin-6 (IL-6), interleukin-8 (IL-8), vimentin, troponin I, L-arginin, asimetrični dimetilarginin (engl. *Asymmetric Dimethylarginine*, ADMA), 8-izoprostan, homocistein (HCY), ICAM-1 (engl. *Intercellular Adhesion Molecule 1*), VCAM-1 (engl. *Vascular*

*Cell Adhesion Molecule 1*), vaskularni endotelni faktor rasta (engl. *Vascular Endothelial Growth Factor*, VEGF), leptin, malondialdehid (MDA), IGF-1 (engl. *Insulin-like Growth Factor 1*), adiponektin, eritropoetin, HbA1C (glikirani hemoglobin) i drugi (143-149). Sudeći prema rezultatima istraživanja, zasad najizgledniji potencijalni kandidati za biomarkere OSA-e su mRNA ADAM29, FLRT2, SLC18A3 u PBMC, razine endocana i YKL-40 u serumu i razine vimentina u plazmi (144). Navedeni biomarkeri nisu u širokoj kliničkoj uporabi, već su još uvijek predmet znanstvenih istraživanja. Ipak, potreban je oprez u tumačenju nalaza biomarkera, obzirom da su do sad pribavljeni rezultati temeljeni na malim monocentričnim studijama. Svakako, potrebne su daljnje i dublje studije kako bi se s većom vjerojatnošću mogla procijeniti dijagnostičko-prediktivna valjanost ovih potencijalnih biomarkera radeći kohortna istraživanja na raznolikim populacijama (147). Također, istražuju se i potencijalni respiratorni biomarkeri za predikciju opstruktivne apneje tijekom spavanja.

#### **1.4.6. Metode liječenja OSA-e**

Nakon inicijalno obavljenih metoda probira i dijagnostike, potrebno je odabrati odgovarajući oblik terapije. Složene patofiziološke mehanizme nastanka OSA-e te još složenije patofiziološke mehanizme suodnosa s razvojem komorbiditetnih stanja potrebno je promatrati integrativno i individualizirano (150). Obzirom da se OSA smatra kroničnom bolešću, kao takvu je treba doživjeti i u terapijskom smislu, pristupajući joj multidisciplinarno i planirajući dugoročnu terapiju. Terapija ove podmukle i nedovoljno dijagnosticirane bolesti je vrlo bitna i to ne samo radi pojedinca i njegovog morbiditeta i mortaliteta, već i zbog društva u cjelini obzirom da je financijski teret posljedica ove bolesti ogroman (151). Iako je u liječenju OSA-e zlatni standard primjena CPAP uređaja (engl. *Continuous Positive Airway Pressure*), ne treba zanemariti i ostale terapijske modalitete kao što su udlage, medikamentozna terapija, bihevioralna, ali i kirurška terapija (152). Prije započinjanja terapije OSA-e potrebno je odrediti početni status pacijenta (engl. *baseline*), kako bi se mogla uraditi korelacija učinkovitosti primijenjene terapije u kontrolnom intervalu. Cilj svake terapije OSA-e je smanjenje simptomatologije iz kruga OSA-e s poboljšanjem kvalitete života i sna, normalizacija AHI indeksa i uredna oksigenacija krvi, a posljedično i prevencija komorbiditeta koji se uklapaju u dugoročnu kliničku sliku OSA-e (153).

Kao neovisni terapijski faktor u oboljelih od OSA-e s koegzistirajućom pretilošću savjetuje se mršavljenje i promjena stila života. Američka akademija za medicinu spavanja (engl. *American Academy of Sleep Medicine*, AASM) preporuča mršavljenje i tjelovježbu kao mogući terapijski suport za oboljele od OSA-e. Ipak, neke studije pokazuju da su dobrobiti prehrane s niskim udjelom ugljikohidrata ili mediteranska prehrana u osoba s pretilošću bitnije od same dobrobiti smanjenja tjelesne težine. Tjelovježba, pak, osim učinka mršavljenja ima i nezavisan učinak na kardiovaskularno zdravlje te može pomoći u smanjenju u OSA-i prisutnog oksidativnog stresa, upale i simpatičke aktivacije (85, 154). Uz ovo, savjetuju se i neke druge promjene u stilu života, kao što su izbjegavanje alkohola i sedativa, izbjegavanje spavanja na leđima i slično. Sve navedeno se može svesti pod zajednički naziv tzv. bihevioralne terapije OSA-e.

Pri umjerenoj i teškoj OSA-i terapijska metoda izbora je CPAP (engl. *Continuous Positive Airway Pressure*). Predstavlja zlatni standard konzervativne terapije. To je uređaj koji stvara kontinuirani protok zraka, a koji se preko cijevi i mekane (uglavnom silikonske) maske za nos usmjerava u pacijentove dišne putove. Većina suvremenih uređaja ima ugrađenu i komoru za zagrijavanje i vlaženje zraka, a svi su portabilni. Upuhani zrak u gornjem dišnom putu djeluje kao pasivna udlaga i sprječava kolabiranje ždrijelne muskulature te na taj način prevenira opstruktivnu apneju. Tlak zraka kojeg uređaj usmjerava u dišne puteve je podesiv između 3 cm i 20 cm vode, ovisno o individualnoj potrebi procijenjenoj polisomnografskim ispitivanjem. Tlak zraka se podešava sukladno mjeri tlaka pri kojoj dolazi do potpunog nestanka opstruktivske smetnje disanja (85, 155). Nerijetko, gotovo u 20% slučajeva, pacijenti teško podnose konvencionalni CPAP, osobito stoga što se izdisaj protivan pozitivnom tlaku uređaja doživljava kao neugodan (85). Zbog toga su osmišljene tri modifikacije CPAP, i to tzv. dvorazinski pozitivni tlak (engl. *Bi-Level Positive Airway Pressure*, BPAP), proporcionalni pozitivni tlak (engl. *Proportional Positive Airway Pressure*, PPAP) i automatski (kontinuirani) pozitivni tlak (engl. *(Continuous) Automatic Positive Airway Pressure*, APAP ili ACPAP). BPAP primjenjuje viši tlak tijekom udaha, a tijekom izdaha se tlak zraka smanji za 3-5 cm H<sub>2</sub>O. PPAP primjenjuje osnovni tlak koji uspješno sprječava kolaps gornjeg dišnog puta, ali, proporcionalno inspiracijskom naporu pacijenta, tlak se ili povećava ili smanjuje, osobito prilikom izdaha (85, 156). APAP, koji se nekad naziva i automatski titrirajući CPAP, nakon što detektira promjenu u disanju posljedično povećava tlak zraka, a kada otkrije da nema patoloških promjena disanja tlak zraka automatski smanji (85, 157). CPAP i sve njegove modifikacije mogu se primjenjivati nazalno, oralno ili oronazalno, iako je najčešće

primjenjivana metoda uporabom silikonske maske za nos (85, 158). Terapija pozitivnim tlakom pokazala se uspješna u ~ 95% pacijenata. Osnovna simptomatologija OSA-e kao što je pretjerana dnevna pospanost nestaje već nakon nekoliko dana terapije, a prosječni dnevni arterijski tlak se snižava za ~ 10 mmHg (85).

Iako značajno rjeđe, u liječenju OSA-e primjenjuje se i stimulacija hipoglosalnog živca, tj. stimulacija gornjeg dišnog puta. Temeljne ideje poboljšanja prohodnosti gornjih dišnih puteva neurostimulacijom predložili su Guilleminault i suradnici još 1978. godine, međutim, tek su studije 2001. godine potvrdile da je unilateralna neurostimulacija hipoglosalnog živca (engl. *Hypoglossal Nerve Stimulation*, HGNS) izvediva terapijska opcija za OSA-u (159). Ideja neurostimulacije hipoglosalnog živca temelji se na činjenici da stimulacija genioglosalnog mišića, najvećeg mišića dilatatora gornjeg dišnog puta, uzrokuje protruziju jezika, a isti efekt kao i stimulacijom samog mišića postiže se i elektrostimulacijom njegovog motoričkog živca – *nervus hypoglossus*. Ogranci hipoglosalnog živca koji inerviraju *musculus genioglossus* pretežno sadrže motorička vlakna, tako da stimulacija tih grana aktivira mišić uz minimalnu aferentnu (senzornu) povratnu spregu (160). Iako je HGNS potencijalno korisna terapijska metoda, u obzir treba uzeti da se radi o invazivnoj kirurškoj metodi koja je još uvijek počesto i proceduralno i tehnički manjkava (161). Svakako su potrebna daljnja istraživanja kako bi se iznijeli nedvojbeni zaključci o učinkovitosti i primjenjivosti ovakve metode liječenja OSA-e (162, 163).

Osim HGNS kojoj je kirurgija samo posrednik pri postavljanju elektrostimulatora, opisano je što više, a što manje uspješnih 30-ak kirurških metoda liječenja OSA-e. Kirurško liječenje OSA-e se u svojoj najgrubljoj podjeli može svrstati u mekotkivnu kirurgiju i u koštanu kirurgiju, a prema lokalizaciji može se svrstati u kirurgiju na razini nosa, usne šupljine, nazofarinksa, orofarinksa, hipofarinksa i larinksa (164). Ove kirurške zahvate uglavnom izvode kirurzi specijalisti maksilofacijalne kirurgije ili otorinolaringologije. Kao dodatna neizravna moguća kirurška metoda suportivnog liječenja OSA-e je barijatrijska kirurgija čiji je cilj smanjenje BMI, a te zahvate uglavnom provode abdominalni kirurzi (165). Kirurški zahvati na razini nosa uključuju korekciju nosnog septuma, redukciju donje nosne školjke, rekonstrukciju alarne valvule te eventualno kirurško liječenje pridružene sinusogene patologije. Ova vrsta kirurgije poboljšava fiziološki protok zraka, ali poboljšava i adherenciju CPAP uređaja smanjenjem potrebnog tlaka zraka (166). Najčešće primjenjivani kirurški zahvat u liječenju OSA-e je onaj na razini mekih tkiva orofarinksa, i to uvulopalatofaringoplastika. Brojne su kirurške varijacije ovog zahvata prvi put



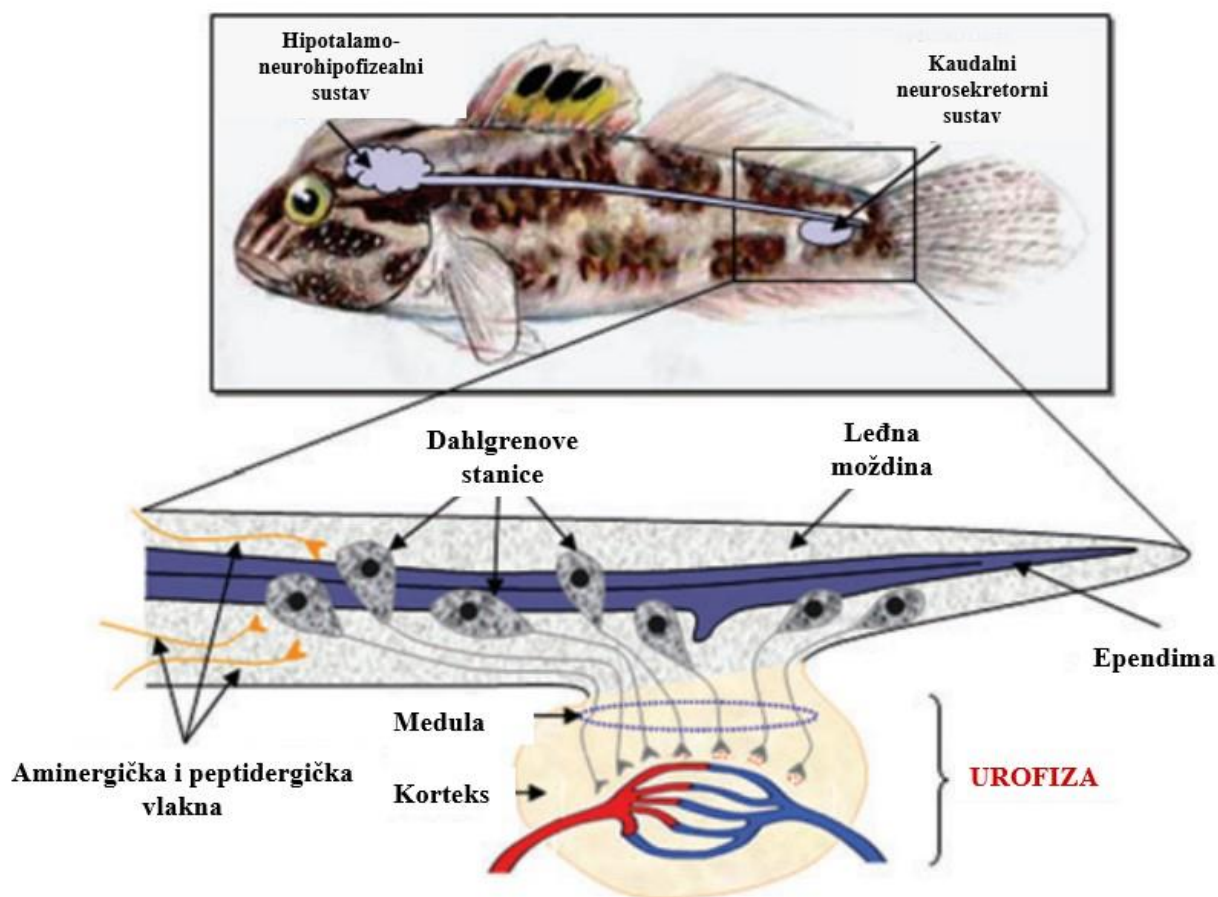
opisanog od Fujite i suradnika 1981. godine, kao što su laserska uvulopalatoplastika, radiofrekventna ablacija mekog nepca, ugradnja poliesterskih implantata u meko nepce i slično. Kirurgija jezika u smislu liječenja OSA-e sastoji se u redukciji tkiva jezika ili u suspenziji genioglosalnog mišića. Stražnja središnja parcijalna glosektomija ima varijabilnu stopu uspješnosti od 25% do 83%, ovisno o studiji. S uspješnošću od 38% provodi se i radiofrekventna ablacija jezika. Provode se i kirurški zahvati suspenzije baze jezika u cilju prevencije kolapsa tijekom spavanja, s uspješnošću od 33%, kao i suspenzija hioidne kosti kojom se postiže anteriorni pomak epiglotisa (164). Osim opisane mekotkivne kirurgije, relativno često se primjenjuje i koštana kraniomaksilofacijalna kirurgija, koja u prvom redu najčešće obuhvaća kirurgiju čeljusnih deformiteta, tzv. maksilomandibularni *advancement* (MMA). Ova vrsta kirurgije ima visoku stopu uspješnosti, i to od 86% do 90%, i to je svrstava u kirurgiju s najvećom stopom kirurške efikasnosti. Ova kirurška terapija je u nekih pacijenata s vidljivim deformitetima indicirana kao inicijalna metoda liječenja, dok je za ostale pacijente rezervirana tek kao jedna od posljednjih metoda (167). Mogući su i kombinirani kirurški zahvati na više razina, tzv. *multi-level surgery*. Kao jedna od najefikasnijih kirurških metoda liječenja OSA-e je traheotomija, obzirom da se tim kirurškim zahvatom premoštavaju kolabirani gornji dišni putevi te se osigurava neopstruirano disanje. Ipak, ovaj kirurški zahvat je rezerviran samo za rijetke pacijente sa striktnim, uglavnom vitalno ugrožavajućim indikacijama (168). U novije vrijeme sve se više spominje i transoralna robotska kirurgija (engl. *Transoral Robotic Surgery*, TORS) za liječenje OSA-e, a čiji je glavni cilj, u usporedbi s klasičnom kirurgijom, smanjiti kirurški morbiditet i komplikacije liječenja. Ipak, ta vrsta kirurgije još uvijek nije široka rasprostranjena i potrebna su daljnja istraživanja u procjeni njene valjanosti liječenja OSA-e (169).

Osim navedenih metoda, u praksi se rabe još neke konzervativne metode liječenja kao što su primjena oralnih sukucija i oralnih udlaga. U praksi se oralne udlage koriste puno češće nego oralne sukucije, a najprihvaćeniji i najčešće upotrebljavni predstavnik oralnih udlaga je mandibularna udlaga ili mandibularni splint (engl. *Mandibular Advancement Splint*, MAS) (170). Osim mandibularnog splinta, u praksi se koriste i uređaj za repoziciju mandibule (engl. *Mandibular Repositioning Appliance*, MRA) te udlaga za povlačenje jezika (engl. *Tongue Reatining Device*, TRD). MRA pomiče donju čeljust u anteriorni položaj u odnosu na početni položaj, a TRD zadržava jezik u protruziji, bez impakta na poziciju donje čeljusti (171, 172). Iako su udlage u nekim terapijskim aspektima učinkovite, ipak nisu ni izbliza učinkovite kao terapija

CPAP uređajem. Zbog toga se upotrebljavaju samo u terapiji blage OSA-e ili umjerene OSA-e u pacijenata koji ne mogu tolerirati CPAP (173, 174).

## 1.5. Urotenzini

Kaudalni neurosekretorni sustav u riba teleosta (prave koštunjače koje čine nadred u razredu zrakoperki - *Actinopterygii*) sastoji se od Dahlgrenovih stanica, tj. magnocelularnih neurona raspoređenih u ventralnom dijelu leđne moždine, a koji projiciraju svoje aksone u urofizu, lobularni organ prisutan samo u teleosta (175), kojeg je prvi put opisao Weber 1827. godine (176). Shematski prikaz kaudalnog neurosekretornog sustava i njegove krvožilne povezanosti s urofizom u teleost riba prikazan je na slici 5. Obzirom na zapažanja da ekstrakti urofize teleosta imaju značajan miotropni učinak, i to ne samo u teleosta, nego i u nekih skupina kralježnjaka, započela je serija istraživanja identifikacije regulatornih tvari odgovornih za takve farmakološke učinke (175). Slijedom toga dokazano je da je urofiza visoko vaskularna neuroendokrina struktura koja sadrži velike količine acetilkolina, što je magnocelularne neurone svrstalo u podskup kolinergičnih neurona sličnih motoneuronima. Osim acetilkolina, iz urofize riba *Chanos chanos* (bangus riba, engl. *milkfish*) i *Oncorhynchus mykiss* (kalifornijska pastrva, sinonim *Salmo gairdneri*, engl. *rainbow trout*) izoliran je još jedan biološki peptid koji se nije mogao razlikovati od arginin-vazotocina, oligopeptidnog homologa oksitocina i vazopresina, prisutnog u svih kralježnjaka koji nisu sisavci (uključujući ptice, ribe i vodozemce) te možda u sisavaca tijekom fetalnog razvoja (177). Osim navedenog, iz urofize su izolirani i biološki aktivni peptidi nazvani urotenzini (175). Dvije odvojene istraživačke skupine pod vodstvom Karla Lederisa sa britanskog Sveučilišta u Bristolu (kasnije je prešao na kanadsko Sveučilište u Calgaryju) i Howarda Berna sa kalifornijskog sveučilišta u Berkeleyju izolirale su, pročistile i okarakterizirale dva regulatorna neuropeptida iz skupine urotenzina, i to urotenzin I i urotenzin II (178). Urotenzin I prvotno je izoliran iz urofize slatkovodne cipriniformne ribe *Catostomus commersonii* (bijeli sisač, engl. *white sucker*) i opisan kao peptid od 41 aminokiseline s amidiranim C-krajem. Istraživanja su pokazala da je urotenzin I paralog kortikotropin-oslobađajućeg hormona (179, 180).



Slika 5. Preuzeto i prilagođeno prema: Vaudry H, Do Rego JC, Le Mevel JC, Chatenet D, Tostivint H, Fournier A i sur. Urotensin II, from fish to human. *Ann N Y Acad Sci.* 2010;1200:53-66. (175)

Za razliku od urotenzina I, urotenzin II izoliran je 1967. godine iz urofize morske ribe *Gillichthys mirabilis* iz porodice *Gobiidae* (glavoči, engl. *goby fish*) i opisan je kao ciklički peptid od 12 aminokiselina koji pokazuje strukturalne sekvencijske sličnosti sa somatostatinom-14. Iako je identitet nukleotidnog slijeda gena koji kodiraju oba peptida vrlo nizak, kromosomska lokalizacija u nekih vrsta ukazuje na to da peptidi povezani s urotenzinom II i somatostatinom vjerojatno pripadaju istoj superobitelji (181).

Inicijalno, neko vrijeme su se u obitelji urotenzina spominjali i urotenzin III i urotenzin IV. Međutim, pokazalo se da je ono za što se mislilo da je urotenzin III zapravo sinergistički učinak

urotenzina I i urotenzina II, dok je urotenzin IV krivo interpretirana aktivnost koja zapravo pripada ranije spomenutom arginin-vazotocinu. Stoga su nazivi urotenzin III i urotenzin IV iščezli iz upotrebe (182).

### **1.5.1. Urotenzin II (UII)**

#### **1.5.1.1. Urotenzin II u teleosta**

Nakon otkrića urotenzina II u urofizi ribe *Gillichthys mirabilis* te posljedične dostupnosti urotenzina II u čistom obliku, započela su brojna sustavna istraživanja njegovih bioloških svojstava. Tako je dokazano da je ovaj dodekapeptid sposoban izazvati brojne reakcije, kao što su povećanje tlaka s povećanom diurezom i tahikardijom u jegulje, stimulacija prijenosa iona preko mokraćnog mjehura, inhibicija aktivnog efluksa aktivnog klorida u kožu i kontrakcija sjemenovoda u glavoča te kontrakcija rektuma i mjehura u pastrve (182).

Imunohistokemijske studije opovrgle su dugogodišnje uvriježeno stajalište da je urotenzin II ekskluzivni proizvod urofize teleosta. Naime, primijećena su antitijela na urotenzin II u neuronskoj populaciji koja je u kontaktu sa cerebrosposinalnom tekućinom, a koja se nalazi ventralno od središnjeg kanala duž cijele leđne moždine i medule. Temeljem istraživanja na kalifornijskoj pastrvi nedvojbeno je dokazano da je urotenzin II prisutan u središnjem živčanom sustavu teleosta (182). Ipak, neka istraživanja su dokazala da se urotenzin II peptidi nalaze i u kaudalnim neurosekretornim sustavima ili središnjem živčanom sustavu u vrsta kao što su *Elasmobranchii* (prečnouste hrskavičnjače), *Chondrostoma* (rod zračnih riba iz obitelji *Cyprinidae*) i *Agnatha* (besčeljusnjače), a koje su evolucijski nazadnije od teleosta, što, pak, govori u prilog tomu da je UII gen filogenetski drevan i da je postao davno prije teleosta (182, 183).

#### **1.5.1.2. Urotenzin II u ne-teleost riba**

Uporabom antiseruma protiv UII iz glavoča, u nekoliko su vrsta morskih pasa i raža dokazane neurosekretorne stanice i aksonski putovi. Tako su, primjerice, u *Triakis scyllia* (trakasti morski pas hrt, engl. *banded houndshark*) i *Scyliorhinus torazame* (oblačna mačka, engl. *cloudy*

*catshark*) sve neurosekretorne stanice reagirale s antiserumom UII, kao i u *Protopterus annectens* (afrički plućnjak, engl. *Tana lungfish*) iz razreda *Dipnoi*, *Lepisosteus platyrhincus* (floridski gar, engl. *Florida gar*) iz reda *Lepisosteiformes* te u *Amia calva* (gola muljarica, engl. *Bowfin*) iz reda *Amiiformes*, a u kojih su pronađene urotenzin II imunoreaktivne neuronske strukture u leđnoj moždini (182). U difuznom kaudalnom neurosekretornom sustavu te iz ekstrakcija kaudalne leđne moždine brojnih drugih neteleost-ribljih vrsta dokazani su peptidi gotovo identični urotenzinu II iz urofize teleosta. Ovakvi nalazi istraživanja upućuju da je gen koji kodira urotenzin II nastao rano u evoluciji kralježnjaka te da je ciklička domena molekule u cijelosti očuvana tijekom evolucije. Također, istraživanja su zaključila i to da je kodirajući gen za urotenzin II vjerojatno izražen u svim klasama kralježnjaka. U ranom istraživanju farmakoloških učinaka urotenzina II, niske doze injiciranog UII u *Scyliorhinus canicula* (mačka bljedica, engl. *small-spotted catshark* ili *sandy dogfish*) proizvele su značajno povećanje krvnog tlaka i povećanje pulsa, a takva pojava djelomično je objašnjena otpuštanjem katekolamina. Također, na istraživanju izoliranih prstenova arterije ribe *Scyliorhinus canicula* dokazana je o dozi urotenzina II ovisna kontrakcija vaskularne muskulature (184).

### 1.5.1.3. Urotenzin II u tetrapoda

U nadrazred *Tetrapoda* (četveronošci), prema biološkoj sistematici, spadaju razredi gmazova (*Reptilia*), vodozemaca (*Amphibia*), ptica (*Aves*) i sisavaca (*Mammalia*). Potonji razred, *Mammalia*, uključuje i čovjeka (185).

Primjena urotenzina II izoliranog iz ribe glavoč na membranama aorte štakora pokazala je složeni kontraktilno-relaksacijski učinak (vazorelaksacija ovisna o endotelu i vazokonstrikcija neovisna o endotelu). Također, primjena urotenzina II dovela je do opuštanja anokokcigealnog mišića u miševa (186). Sve te spoznaje sugerirale su mogućnost da se urotenzin II ili srodni peptidi mogu naći i u tkivima sisavaca. Međutim, prva nedvosmislena demonstracija prisutnosti urotenzina II u tetrapoda dokazana je u ekstraktu mozga žabe *Pelophylax ridibundus* (europska zelena žaba, ranije korišteni znanstveni naziv bio je *Rana ridibunda*, engl. *European green frog*) (175). Za razliku od ribljeg UII peptida koji je dodekapeptid, žablji UII obuhvaća 13 aminokiselinskih ostataka, tj. komplementarnu DNK (cDNA) žabljeg urotenzina II kodira prekursorski protein od 127 aminokiselina, a koji uključuje signalni peptid od 16 aminokiselina,

bočni peptid od 98 aminokiselina i UII peptid, smješten na C-kraju molekule, sastavljen od 13 aminokiselina. Za razliku od ribljeg, žablji UII peptid sadrži jedan dodatni aminokiselinski ostatak (187). Imunohistokemijska neuroistraživanja žaba identificirala su neurone koje sadrže UII u jezgri živca hipoglosusa smještenoj u produženoj moždini, odgovornog za poprečno-prugastu muskulaturu jezika. Također, nađeni su i UII motoneuroni u kaudalnom dijelu leđne moždine žaba. Mreže živčanih vlakana bogate UII pronađene su i u tektumu, talamusu, tegmentumu i granularnom sloju malog mozga žabe. Neuronski sustav leđne moždine žaba sličan je onom teleost cipriniformne ribe *Catostomus commersonii*, tj. i u jedne i u druge vrste imunoreaktivna živčana vlakna dolaze u kontakt sa središnjim kanalom i uzdižu se prema mozgu, što sugerira da neurosekretorni mehanizam otpuštanja peptida u cerebrospinalnu tekućinu omogućuje da peptid sudjeluje u prijenosu signala između leđne moždine i mozga (175). Istraživanja bolusne primjene žabljeg urotenzina II na anesteziranoj sjevernoameričkoj žabi bukači (*Lithobates catesbeianus*, raniji naziv *Rana catesbeiana*, engl. *American bullfrog*) pokazala su da je UII proizveo brzo i trajno smanjenje srčanog minutnog volumena s povećanjem sistemnog žilnog otpora. Istraživanja učinka UII na izoliranim prstenovima žablje aorte pokazala su snažne kontrakcije vaskularnog glatkog mišićja ovisne o dozi primijenjenog urotenzina II. Također, nakon primjene izoliranog žabljeg UII primijećene su i snažne kontrakcije mokraćnog mjehura žabe kvalitativno vrlo slične kontrakcijama mjehura pastrve nakon primjene urotenzina II izoliranog iz urofize teleost ribe *Gillichthys mirabilis*, kao i spazam ileuma žabe kvalitativno vrlo sličan spazmu rektuma pastrve nakon primjene urotenzina II također izoliranog iz glavoča (188).

Vodeći se idejom temeljenom na prethodnim istraživanjima koji sugeriraju da bi se peptidi povezani s urotenzinom mogli naći i u sisavaca, Coulouarn i suradnici su 1998. godine objavili karakteristike cDNA koje kodiraju prekursore urotenzina II u čovjeka. Kao i u žabljem, tako i u ljudskom urotenzinu II organizacija prekursora slična je organizaciji UII prohormona u ribe šarana, tj. svi prekursorski proteini sastavljeni su od N-terminalne signalno-peptidne sekvence, N-terminalnog bočnog peptida i UII sekvence smještene na C-kraju svakog prekursora. N-krajevi prekursora ribljeg, žabljeg i ljudskog UII ne pokazuju sekvencijske sličnosti, dok C-krajevi u riba, žaba i ljudi pokazuju značajnu identičnost aminokiselinske sekvence pri čemu se razlikuju samo po broju aminokiselinskih ostataka (189). Naime, riblji UII sastoji se od 12 aminokiselinskih ostataka, žablji od 13, a ljudski od 11 aminokiselinskih ostataka. Ono što je nedvosmisleno zaključeno je da je ciklički heptapeptid odgovoran za biološku aktivnost urotenzina II, sastavljen

od aminokiselinskog niza cistein-fenilalanin-triptofan-lizin-tirozin-cistein-valin (Cys-Phe-Trp-Lys-Tyr-Cys-Val), u potpunosti evolucijski očuvan u svih istraživanih vrsta (175, 189). Usporedba primarne strukture (aminokiselinskih sekvenci) urotenzina II (UII) te peptida srodnog urotenzinu II (URP) u raznih vrsta, uključujući čovjeka shematski je prikazan na slici 6.

| Species            | Origin                           | Sequence  |
|--------------------|----------------------------------|---|
| <b>U-II</b>        |                                  |   |
| Lamprey            | brain                            | H-Asn-Asn-Phe-Ser-Asp-Cys-Phe-Trp-Lys-Tyr-Cys-Val-OH                    |
| Fugu               | spinal cord cDNA                 | H-Thr-Gly-Asn-Asn-Glu-Cys-Phe-Trp-Lys-Tyr-Cys-Val-OH                    |
| Skate              | brain                            | H-Asn-Asn-Phe-Ser-Asp-Cys-Phe-Trp-Lys-Tyr-Cys-Val-OH                    |
| Dogfish            | spinal cord                      | H-Asn-Asn-Phe-Ser-Asp-Cys-Phe-Trp-Lys-Tyr-Cys-Val-OH                    |
| Sturgeon           | spinal cord                      | H-Gly-Ser-Thr-Ser-Glu-Cys-Phe-Trp-Lys-Tyr-Cys-Val-OH                    |
| Paddlefish         | spinal cord                      | H-Gly-Ser-Thr-Ser-Glu-Cys-Phe-Trp-Lys-Tyr-Cys-Val-OH                    |
| Goby               | urophysis                        | H-Ala-Gly-Thr-Ala-Asp-Cys-Phe-Trp-Lys-Tyr-Cys-Val-OH                    |
| Zebrafish $\alpha$ | urophysis cDNA, spinal cord cDNA | H-Gly-Gly-Gly-Ala-Asp-Cys-Phe-Trp-Lys-Tyr-Cys-Val-OH                    |
| Zebrafish $\beta$  | urophysis cDNA, spinal cord cDNA | H-Gly-Ser-Asn-Thr-Glu-Cys-Phe-Trp-Lys-Tyr-Cys-Val-OH                    |
| Sucker A           | urophysis                        | H-Gly-Ser-Gly-Ala-Asp-Cys-Phe-Trp-Lys-Tyr-Cys-Val-OH                    |
| Sucker B           | urophysis                        | H-Gly-Ser-Asn-Thr-Glu-Cys-Phe-Trp-Lys-Tyr-Cys-Val-OH                    |
| Carp $\alpha$      | urophysis, spinal cord cDNA      | H-Gly-Gly-Gly-Ala-Asp-Cys-Phe-Trp-Lys-Tyr-Cys-Val-OH                    |
| Carp $\beta 1$     | urophysis                        | H-Gly-Gly-Asn-Thr-Glu-Cys-Phe-Trp-Lys-Tyr-Cys-Val-OH                    |
| Carp $\beta 2$     | urophysis                        | H-Gly-Ser-Asn-Thr-Glu-Cys-Phe-Trp-Lys-Tyr-Cys-Val-OH                    |
| Carp $\gamma$      | urophysis, spinal cord cDNA      | H-Gly-Gly-Gly-Ala-Asp-Cys-Phe-Trp-Lys-Tyr-Cys-Ile-OH                    |
| Flounder           | urophysis, urophysis cDNA        | H-Ala-Gly-Thr-Thr-Glu-Cys-Phe-Trp-Lys-Tyr-Cys-Val-OH                    |
| Trout              | brain                            | H-Gly-Gly-Asn-Ser-Glu-Cys-Phe-Trp-Lys-Tyr-Cys-Val-OH                    |
| Grouper            | cDNA                             | H-Ala-Gly-Asn-Ser-Glu-Cys-Phe-Trp-Lys-Tyr-Cys-Val-OH                    |
| Frog               | brain, spinal cord cDNA          | H-Ala-Gly-Asn-Leu-Ser-Glu-Cys-Phe-Trp-Lys-Tyr-Cys-Val-OH                |
| Chicken            | cDNA                             | H-Gly-Asn-Leu-Ser-Glu-Cys-Phe-Trp-Lys-Tyr-Cys-Val-OH                    |
| Zebra finch        | predicted                        | H-Gly-Asn-Leu-Ser-Glu-Cys-Phe-Trp-Lys-Tyr-Cys-Val-OH                    |
| Mouse              | spinal cord cDNA                 | <Gln-His-Lys-Gln-His-Gly-Ala-Ala-Pro-Glu-Cys-Phe-Trp-Lys-Tyr-Cys-Ile-OH |
| Rat                | spinal cord cDNA                 | <Gln-His-Gly-Thr-Ala-Pro-Glu-Cys-Phe-Trp-Lys-Tyr-Cys-Ile-OH             |
| Porcine A          | spinal cord                      | H-Gly-Pro-Thr-Ser-Glu-Cys-Phe-Trp-Lys-Tyr-Cys-Val-OH                    |
| Porcine B          | spinal cord                      | H-Gly-Pro-Pro-Ser-Glu-Cys-Phe-Trp-Lys-Tyr-Cys-Val-OH                    |
| Cattle             | predicted                        | H-Gly-Pro-Ser-Ser-Glu-Cys-Phe-Trp-Lys-Tyr-Cys-Val-OH                    |
| Monkey             | spinal cord cDNA                 | H-Glu-Thr-Pro-Asp-Cys-Phe-Trp-Lys-Tyr-Cys-Val-OH                        |
| Chimpanzee         | cDNA                             | H-Glu-Thr-Pro-Asp-Cys-Phe-Trp-Lys-Tyr-Cys-Val-OH                        |
| Human              | spinal cord cDNA                 | H-Glu-Thr-Pro-Asp-Cys-Phe-Trp-Lys-Tyr-Cys-Val-OH                        |
| <b>URP</b>         |                                  |   |
| Zebrafish          | cDNA                             | H-Val-Cys-Phe-Trp-Lys-Tyr-Cys-Ser-Gln-Asn-OH                            |
| Chicken            | spinal cord cDNA                 | H-Ala-Cys-Phe-Trp-Lys-Tyr-Cys-Ile-OH                                    |
| Mouse              | brain cDNA                       | H-Ala-Cys-Phe-Trp-Lys-Tyr-Cys-Val-OH                                    |
| Rat                | brain cDNA                       | H-Ala-Cys-Phe-Trp-Lys-Tyr-Cys-Val-OH                                    |
| Horse              | predicted                        | H-Ala-Cys-Phe-Trp-Lys-Tyr-Cys-Val-OH                                    |
| Chimpanzee         | predicted                        | H-Ala-Cys-Phe-Trp-Lys-Tyr-Cys-Val-OH                                    |
| Human              | brain cDNA                       | H-Ala-Cys-Phe-Trp-Lys-Tyr-Cys-Val-OH                                    |

Slika 6. Preuzeto i prilagođeno prema: Vaudry H, Do Rego JC, Le Mevel JC, Chatenet D, Tostivint H, Fournier A i sur. Urotensin II, from fish to human. Ann N Y Acad Sci. 2010;1200:53-66. (175)

Upravo ta činjenica da je, unatoč evoluciji, sačuvana sekvenca biološki aktivne regije UII na C-kraju ukazuje na to da urotensin II ima značajnu biofiziološku funkciju. Iako se inicijalno urotensin II prema svojoj sličnosti dovodio u vezu sa somatostatinom, neka istraživanja su

pokazala da geni koji kodiraju urotenzin II i prekursori somatostatina ne potječu od zajedničkog pretka. Spomenuto Coulouarnovo istraživanje je zaključilo da je najveća koncentracija mRNA UII u čovjeka u leđnoj moždini, što je istovjetno i u žaba. Dodatnim RT-PCR (engl. *Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction*) i *dot blot* analizama prisutnost mRNA UII dokazana je i u produljenoj moždini, dok su *in situ* hibridizacijske studije pokazale da je UII gen specifično izražen u populaciji motoneurona leđne moždine (189). Već tada je zaključeno da bi UII mogao imati široki raspon bioloških aktivnosti, dapače, u čovjeka širi nego u drugih kralježnjaka. Otkrićem UII u žabe i čovjeka započete su brojne studije na drugim vrstama koje su također potvrdile prisutnost UII i u čimpanza, makaki majmuna, miševa, štakora, svinja, kokoši, ali i u ptice zebraste zebe te drugih, čime je potvrđena prisutnost UII u svim razredima tetrapoda (190-194).

#### 1.5.1.4. Urotenzin II receptor

Godine 1999., godinu dana nakon prve identifikacije humanog urotenzina II, identificiran je urotenzin II receptor, G-protein vezani receptor siročće (engl. *orphan receptor*) s alfa podjedinicom  $G\alpha_{q11}$ , poznatiji kao GPR14 koji pripada klasi A rodopsinu sličnih GPCR (G-protein vezani receptor, engl. *G-protein coupled receptor*), a koji se sastoji od 389 aminokiselinskih rezidua (195-198). G-protein vezani receptori su inače transmembranski receptori koji reagiraju na ligande iz vanstanične okoline koji svojim vezanjem izazivaju konformacijsku promjenu receptora i posljedično aktiviraju signalizirajuću kaskadu prilikom koje dolazi do specifičnog staničnog odgovora (199). Uzgred budi spomenuto, uloga G-protein vezanih receptora povezuje se s brojnim psihosomatskim oboljenjima, zbog čega su meta mnogih suvremenoj medicini dostupnih lijekova.

Pokazalo se da urotenzin II receptor (UTS2R) posjeduje značajnu sličnost sekvence somatostatinskih receptora, a za UTS2R gen se smatra da je nastao lokalnom duplikacijom iz zajedničkog genskog pretka (200). Naime, UTS2R gen je smješten na kromosomu 17q23 i fizički je blizak sa SSTR2 genom koji kodira somatostatinski receptor, a koji se nalazi na kromosomu 17q25 (201). Strukturne karakteristike receptora uključuju dva potencijalna mjesta N-glikozilacije u N-terminalnoj domeni i dva cisteinska ostatka u prvoj i drugoj izvanstaničnoj petlji (202). Osim sličnosti sa somatostatinskim receptorom, UTS2R ima oko 25% sličnosti u aminokiselinskom



identitetu i s opioidnim receptorima ( $\kappa$ ,  $\delta$  i  $\mu$  receptorima) te s G-protein vezanim receptorom za neuropeptid galanin (203).

U studiji koju su Ames i suradnici proveli 1999. godine, koristeći HEK-293 stanice (ljudske embrionalne bubrežne 293 stanice, engl. *Human embryonic kidney 293 cells*), tj. koristeći specifične besmrtno stanične linije izvedene iz ljudskih embrionalnih stanica bubrega koje su inače široko primjenjivane u istraživanjima stanične biologije, a na kojima je inicijalno i eksprimiran GPR14 receptor, pokazali su da je primjena urotenzina II izoliranog iz ribe glavoč selektivno povisila  $\text{Ca}^{2+}$  i putem ljudskog GPR14 receptora (195), a kasnije je naknadno taj isti učinak potvrđen i na štakorskom GPR14 (198).

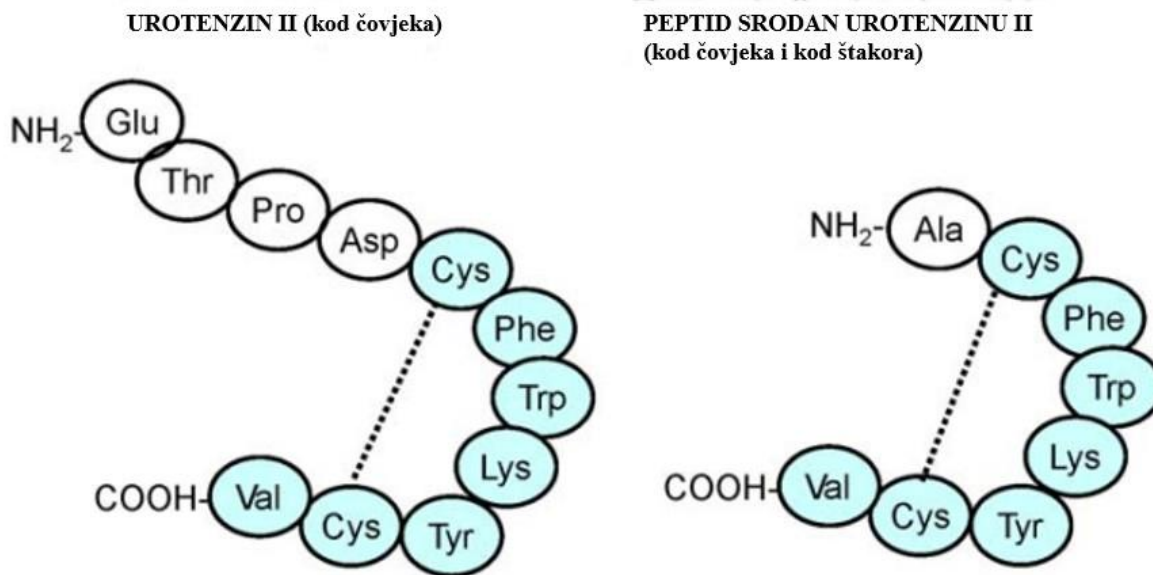
UTS2R prisutan je u čovjeka u različitim tkivima, osobito u kardiovaskularnom sustavu te središnjem živčanom sustavu. Osim toga, njegova ekspresija nije zanemariva ni u bubregu, skeletnim mišićima, slezeni, gušterači, timusu, tankom crijevu, nadbubrežnoj žlijezdi, prostati i mjehuru. U kardiovaskularnom sustavu je najviše izražen u lijevom atrijsu i ventrikulu, koronarnim arterijama i aorti. U središnjem živčanom sustavu je široko prisutan najviše u telencefalonu i to u entorinalnom i piriformnom korteksu, amigdali, hipokampusu, potom u supraoptičkim i suprahijazmatskim jezgrama diencefalona, prednjem hipotalamičkom području i cirkumventrikularnim organima (*eminencia mediana, neurohypophysis, glandula pinealis, organum vasculosum laminae terminalis, organum subfornicale, organum subcommissurale, area postrema, plexus choroideus*), zatim u interpedunkularnim, crvenim i pontinim jezgrama te u crnoj tvari (lat. *substantia nigra*) mezencefalona, u *locus coeruleus* i tegmentalnim jezgrama rombencefalona, u Purkinjeovim stanicama i znatnim stanicama malog mozga, u motornim jezgrama, jezgrama rafe (lat. *nuclei raphe*), dorzalnoj jezgri živca vagusa, jezgri solitarnog trakta te u dvojnoj jezgri (lat. *nucleus ambiguus*) produljene moždine te u leđnoj moždini (204).

Nakon identifikacije i lokalizacije UTS2R, provedene su studije čiji je cilj bio ispitati mehanizam receptorskog djelovanja. Tako su provedene brojne studije na GPR14-transfektiranim stanicama, kao i na izoliranoj zečjoj torakalnoj aorti i kultiviranim štakorskim glijalnim stanicama. Te studije su pokazale više puteva preko kojih urotenzin II aktivira UTS2R, od kojih je primarni fosfolipaza C/protein kinaza C put u kojem urotenzin II stimulira inozitol trifosfat te izaziva mobilizaciju uskladištenog intracelularnog  $\text{Ca}^{2+}$ . Međutim, studije su pokazale da UTS2R može aktivirati i neke druge signalne putove kao što su putevi tirozin kinaze,  $\text{Ca}^{2+}$ -kalmodulin/MLC kinaze, p38 mitogen aktivirane protein kinaze, kinaze regulirane ekstracelularnim signalom

(ERK), RhoA/Rho kinaze, puteve sintaze dušikovog oksida (engl. *NO synthase*) te put fosfolipaze A2 (PLA2) koja je inače ključni signalni sudionik upalnog odgovora (175).

#### **1.5.1.5. Peptid srodan urotenzinu II**

Desetak godina nakon prvog opisa tetrapodnog urotenzina II u mozgu europske zelene žabe *Pelophylax ridibundus*, iz mozga štakora izoliran je paralogni ciklički neuropeptid koji je nazvan peptid srodan urotenzinu II (engl. *Urotensin II Related Peptide*, URP). Otkriven je slučajno prilikom istraživanja lokusa urotenzina II i opisan je kao ciklički oktapeptid sličnih karakteristika urotenzinu II, cikličkom undekapeptidu (205). Očigledno, URP peptid manji je od UII peptida. Uspoređujući C-terminalnu regiju, URP se u svojoj sekvenci razlikuje samo za jednu aminokiselinu u odnosu na C-terminalnu regiju UII. Primarna struktura URP je identična u vertikalnoj liniji od glodavaca do čovjeka, uz iznimku kokošnjeg URP gdje je pronađena jedna aminokiselinska supstitucija na C-terminalnom kraju, tj. aminokiselina valin zamijenjena je izoleucinom (200). Peptidna sekvenca humanog URP je alanin-cistein-fenilalanin-triptofan-lizin-tirozin-cistein-valin. URP ima identični heksapeptidni prsten premošten cisteinom sa sekvencom CFWKYC, što je inače poznato kao glavno mjesto djelovanja na peptid i po tomu je identičan UII. S druge, pak, strane, N-kraj URP se može modificirati bez posljedične promjene farmakološke aktivnosti, što sugerira da taj amino-kraj ne sadrži nikakve relevantne informacije. Dok je kromosomska lokacija UII gena na 1p36-p32 i u neposrednoj je blizini gena za kortistatin koji se nalazi na 1p36, URP gen je smješten na 3q28 i u neposrednoj je blizini gena za somatostatin. Takva kromosomska pozicija sugerira da su i jedan i drugi par gena nastali tandemskom duplikacijom i daje naslutiti da su UII i URP potekli od istog genskog pretka kao i kortistatin i somatostatin. Sličnost sekvenci UII/URP i kortistatin/somatostatin ipak navode na zaključak da svi pripadaju istoj superobitelji (200), iako su ranije studije opovrgavale tu mogućnost. Usporedba aminokiselinskih sekvenci urotenzina II te peptida srodnog urotenzinu II u čovjeka prikazana je na slici 7.



Slika 7. Preuzeto i prilagođeno prema: Takahashi K, Hirose T, Mori N, Morimoto R, Kohzuki M, Imai Y i sur. The renin-angiotensin system, adrenomedullins and urotensin II in the kidney: possible renoprotection via the kidney peptide systems. *Peptides*. 2009;30:1575-85. (206)

Preteča zrelog URP, prepro-URP, identificirana je u različitim tkivima u ljudskom tijelu, ponajprije u frontalnom režnju i hipotalamusu mozga te u perifernim tkivima kao što su jajnici, testisi, placenta, pluća, srce i bubrezi. Zapravo, moglo bi se reći da je distribucija URP i UII slična, osim u leđnoj moždini, gdje je ekspresija UII dominantna nad ekspresijom URP. Za razliku od čovjeka, u miševa je situacija invertna, tj. ekspresija URP u leđnoj moždini dominantna je nad ekspresijom UII (175, 207).

Valja naglasiti da je URP agonist UTS2R i na jednak način kao i UII aktivira put fosfolipaza C/protein kinaza C, s istim posljedicama aktivacije intracelularnog  $Ca^{2+}$ . Navedeno dovodi do zaključka da UII i URP ispoljavaju komplementarne aktivnosti. Dapače, provedena istraživanja na UII i URP ligandima pokazala su da URP zapravo ima veći afinitet na UTS2R. Referirajući se još jednom na filogenetski suodnos UII/URP i kortistatina/somatostatina, zanimljivo je napomenuti da UII i URP mogu djelomično aktivirati somatostatinske receptore 2 i 5 (208), a to vrijedi i obrnuto, tj. kortistatin i somatostatin u određenoj mjeri mogu stimulirati UTS2R (196).

### 1.5.1.6. Biološke funkcije urotenzina II

Kao što anatomske lokalizacije ekspresije UTII i UTS2R mogu sugerirati, urotenzin II je polipeptid s višestrukim fiziološkim i patofiziološkim učincima u brojnim organskim sustavima, međutim, svoje najznačajnije učinke ima u kardiovaskularnom, bubrežnom i živčanom sustavu.

U humanom kardiovaskularnom sustavu najznačajniji učinak ima na koronarnim, mamarnim i radijalnim arterijama, kao i na veni safeni i pupčanoj veni. Ono što je bitno naglasiti je da je urotenzin iznimno snažan vazokonstriktor, dapače, prema dosadašnjim spoznajama napotentniji je do sad poznati vazokonstriktor. Uzrokuje gotovo 50 puta snažniju arterijsku vazokonstrikciju negoli to radi endotelin-1. Kontraktilni učinak urotenzina II počinje sporo, ali djeluje značajno duže nego u nekih drugih vazokonstriktivnih tvari poput angiotenzina II, noradrenalina ili kalijevog klorida (209). Glavni činitelj različitog učinka na različite krvne žile je gustoća UTS2R. Tako, primjerice, UII ima snažni kontraktilni učinak na torakalnu aortu štakora, dok je taj učinak značajno slabiji na štakorskoj abdominalnoj aorti. Objašnjenje takvog dihotomnog učinka leži upravo u gustoći i distribuciji UTS2R, koja je značajno izraženija u torakalnoj, negoli u abdominalnoj aorti štakora (210, 211). Na jednak način može se objasniti zašto je vazokonstriktivni učinak na ljudske koronarne arterije nešto blaži nego na koronarne artrijske štakora. Jedno od mogućih objašnjenja snažnog vazokonstriktivnog djelovanja je u endotelnoj disfunkciji u kojoj je proizvodnja dušikovog oksida, snažnog vazodilatatora, oslabljena. S druge, pak, strane primjećen je i vazodilatacijski učinak urotenzina II, koja se objašnjava time što UII pojačava endotelnu sintazu dušikovog oksida. To je dokazano na štakorskoj bubrežnoj arteriji u kojoj je, u netaknutom endotelu, humani urotenzin II inducirao sintezu NO (211). UII ima i kardiostimulirajuće učinke. Primjerice, u čovjeka povećava kontraktilnu silu bez promjene trajanja kontrakcija. U kardiovaskularnom sustavu, dakle, urotenzin II pokazuje dvofazni hemodinamski odgovor. Na studiji provedenoj na štakorima, bolusno primijenjeni urotenzin II je u svom početnom odgovoru izazvao vazodilataciju s posljedičnom tahikardijom i sniženjem krvog tlaka. Međutim, nakon početnog farmakološkog odgovora, nakon 30 minuta od primjene UII, primijećen je odgovor druge faze koji se očitovao tahikardijom i porastom krvnog tlaka (212). Provedene su i studije na anesteziranim majmunima na kojima je dokazan o dozi ovisan učinak UII. Tako su niske doze UII uzrokovale povećanje srčanog minutnog volumena i smanjenje perifernog otpora, dok su više doze uzrokovale smanjenje miokardne funkcije i srčanog minutnog volumena,

smanjenje udarnog volumena i pulsa i smanjenje karotidnog i koronarnog protoka krvi, ali sa značajnim povećanjem vaskularnog otpora koji je kulminirao teškom plućnom hipertenzijom i cirkulacijskim kolapsom (213). Obzirom da izolirane mačje arterije iznimno reagiraju na UII, iskorištene su za daljnje studije koje su pokazale da UII uzrokuje udvostručenje sistemskog vaskularnog otpora i krvnog tlaka, ali bez reperkusija na puls ili srčani minutni volumen (214). Konačno, studije provedene na ljudima također su pokazale različite rezultate, ovisno o studiji. Neke studiju su pokazale uzrokovanje snažne vazokonstrukcije sa smanjenjem krvnog protoka (215), dok su druge studije pokazale da urotenzin II nije imao impakt na tlak ili periferni otpor (216). Objašnjenje ovakvih rezultata leži u činjenici da UII može uzrokovati o endotelu neovisnu vazokonstrukciju kao i o endotelu ovisnu vazodilataciju, zbog čega ukupni učinak urotenzina II može biti varijabilan i ovisi o balansu vazokonstrukcije i vazodilatacije. Drugim riječima vazodilatacijski učinak UII može maskirati njegov vazokonstrukcijski učinak, što dovodi do suprotstavljenih rezultata u različitim studijama (216).

U bubrežnom sustavu urotenzin II ima svoju zapaženu ulogu, što se indirektno može zaključiti i po tomu što su urinske koncentracije UII tri puta veće od plazmatske koncentracije (217). Tako UII u riba značajno utječe na metabolizam glukoze i lipida, kao i na transport natrija. Putem tubuloglomerularne povratne sprege UII regulira GFR (engl. *glomerular filtration rate*). U bubregu UII ima vazodilatatorski i natriuretski učinak (218). Studije provedene na bubrežnim arterijama anesteziranih štakora pokazala su da UII izaziva povećanje bubrežnog protoka te povećanje GFR, međutim, taj se učinak u potpunosti mogao zaustaviti inhibitorom sinataze dušikovog oksida (219). Studije na zdravom humanom bubregu identificirale su UII s dominantnom ekspresijom u sabirnim kanalićima, zavijenim tubulima i tubuloepitelim stanicama. Kao i ekspresija UII, sa sličnom distribucijom, dokazana je i ekspresija UTS2R. Upravo ovaj podatak o identifikaciji relativno visokog broja bubrežnih lokusa ekspresije UTS2R, kao i ranije spomenuti podatak da je koncentracija UII značajno veća u urinu nego u serumu, ukazuju na lokalnu proizvodnju čineći bubreg izvorom cirkulirajuće proizvodnje UTII (220). Isto ukazuje i na autokrini i parakrini način djelovanja UII u bubrežima, prilikom kojeg je UII čimbenik rasta bubrežnih epitelih stanica putem aktivacije puta protein C kinaze (PKC) i puta kinaze regulirane izvanstaničnim signalom (ERK 1/2), kao i aktivacijom influksa  $Ca^{2+}$  putem  $Ca^{2+}$  o naponu ovisnih kanala (220). Studija koju je 2006. godine na štakorima proveo Dai sa suradnicima pokazala je da je UII povećao proliferativni potencijal bubrežnih adventicijskih fibroblasta sa spontanom

hipertenzijom, ali na način da je učinak ovisan o primijenjenoj dozi, kao i da se učinak može inhibirati antagonistom UII urantidom (221).

U središnjem živčanom sustavu su i UTII i UTS2 široko rasprostranjeni. Na animalnim modelima, primjerice na modelu žaba, dokazano je da UTII stimulira sponatno oslobađanje neurotransmitera u motoričkim živcima (222). Kada je u štakora intracerebroventrikularno primijenjen UII, uzrokovao je povećanje motoričke aktivnosti, ali i razine tireotropnog hormona (engl. *thyroid stimulating hormone*, TSH) i prolaktina, bez promjene razine serotonina i dopamina. To je bio dokaz da UII, osim bihevioralnih, ima i endokrine učinke u središnjem živčanom sustavu (223). UII primijenjen intracerebroventrikularno uzrokovao je i presorski i tahikardijski odgovor vjerojatno posredovan aktivacijom simpatikusa. Mikroinjekcije UII u A<sub>1</sub> grupu stanica štakorske produljene moždine uzrokovale su o dozi ovisni hipotenzivno-bradikardijski odgovor, dok su mikroinjekcije UII u hipotalamički *nucleus arcuatus* i *nucleus paraventricularis* (koji su povezani s centralnom kontrolom krvnog tlaka) izazvale prolazno povišenje arterijskog tlaka i tahikardiju (224). UII je u *nucleus arcuatus* utjecao na inhibicijske neurone, a kod *nucleus paraventricularis* na ekscitacijske neurone (224). Studije provedene na ovcama u kojima je također UII primjenjivan intracerebroventrikularno pokazale su da UII stimulira izlučivanje kortikotropin-oslobađajućeg hormona s posljedicom povišenog oslobađanja adenokortikotropnog hormona (ACTH) kao i adrenalina posredstvom hipotalamo-hipofizno-nadbubrežne osi te stimulacijom simpato-adrenalnog puta. Povećanje lučenja ACTH i adrenalina posljedično je praćeno povišenim arterijskim tlakom, perifernom vazodilatacijom, povećanjem minutnog srčanog volumena i hiperglikemijom. Za razliku od intracerebroventrikularne primjene, intravenska primjena UII uzrokovala je pozitivni kronotropni učinak (225). UII u vaskularno glatko mišićje potiče priljev intracelularnog Ca<sup>2+</sup> putem L-Ca<sup>2+</sup> kanala posredstvom protein kinaze C, dok se priljev Ca<sup>2+</sup> u neurone leđne moždine događa posredstvom N-Ca<sup>2+</sup> kanala posredstvom protein kinaze A (226). Nadalje, pak, UII djeluje na bihevioralne i lokomotorne aktivnosti. Istraživanja su pokazala da je potrebno primijeniti 10 puta nižu dozu UII za izazivanje učinaka u motoričkoj aktivnosti, negoli što je potrebno za izazivanje utjecaja na ventilaciju ili otkucaje srca, pa se smatra da je snažni evolucijski pritisak prezervacijski djelovao na odnos UII i kretanje kralježnjaka, a može se reći da su učinci UII protektivno djelovali na preživljenje vrsta (227). Fiziološka uloga urotenzinergičkog sustava u kontroli uzbuđenja i lokomocije snažno je potvrđena prisutnošću UII imunoreaktivnosti u motoneuronima leđne moždine i moždanog debla, kao i prisutnošću UII proteina u područjima

mozga odgovornima za lokomociju i uzbuđenje (227). Za naglasiti je i da se prema raspodjeli UTS2R u mozgu, osobito u diencefalonu, hipotalamusu, supraoptičkoj jezgri i u moždanom deblu, može zaključiti, a što su potvrdile *in vivo* studije na miševima, da UII, ali i URP, sudjeluju u kontroli apetita i konzumacije hrane (227). Osim navednog, još je jedna vrlo zanimljiva uloga UII u središnjem živčanom sustavu, tj. u regulaciji spavanja. Naime, studija koju su na štakorima proveli Huitron-Resendiz i suradnici pokazala je da primjena niskih doza UII u pedunkulopontinu tegmentalnu jezgru značajno povećala broj REM epizoda spavanja, kao i ukupno trajanje REM faze, ali nije utjecala na kortikalni protok krvi (228). Ovakav učinak UII na REM spavanje objašnjava se urotenzinom II uzrokovanom selektivnom stimulacijom stabala kolinergičkih neurona pedunkulopontine tegmentalne jezgre, čemu govori u prilog da na susjedne nekolinergetičke neurone UII nema utjecaj. Intracerebroventrikularna primjena UII daje slične rezultate po pitanju REM faze spavanja, međutim, jednako tako stimulira budnost i smanjuje sporovalno spavanje (SWS), a povećava i cerebralni protok krvi što se može pripisati ili izravnom djelovanju na vaskulaturu ili djelovanju na centre uključene u kardiovaskularnu regulaciju (228). Kao neuralna meta središnjeg kardiovaskularnog djelovanja UII identificirano je noradrenergetičko A<sub>1</sub> područje smješteno u produljenoj moždini, a taj zaključak se prvenstveno temelji na UII-mikroinjekcijskim istraživanjima na anestetiziranim štakorima (224, 229).

#### **1.5.1.7. Uloga i izražaj urotenzina II u somatskim oboljenjima**

Cirkulirajuće koncentracije UII u ljudskoj plazmi povišene su u brojnim oboljenjima, međutim, najznačajnija povišenja koncentracije se iskazuju u renalnoj insuficijenciji, šećernoj bolesti, portalnoj hipertenziji uzrokovanoj cirozom jetre, pulmonarnoj hipertenziji, aterosklerozi, ishemijskoj bolesti srca, srčanom zatajenju i arterijskoj hipertenziji.

Koncentracija plazmatskog UII je, u usporedbi sa zdravim osobama, dvostruko veća u bolesnika s bubrežnom insuficijencijom u kojih nije potrebna hemodijaliza, te trostruko veća u bolesnika s bubrežnom insuficijencijom u kojih je potrebna hemodijaliza. Izražaj koncentracije urotenzina II u urinu je povišen u bolesnika s glomerularnom bolešću udruženom s hipertenzijom i u bolesnika s bolestima bubrežnih tubula, međutim, nije povišen u bolesnika s glomerularnom bolešću koji imaju uredne vrijednosti krvnog tlaka (230). Značajna imunoreaktivnost slična UII uočena je u pacijenata s karcinomom svijetlih stanica bubrega. U pacijenata oboljelih od šećerne

bolesti s razvijenom posljedičnom dijabetičkom nefropatijom uočene su veće vrijednosti UII i u plazmi i u urinu negoli u pacijenata s dijabetesom u kojih je očuvana bubrežna funkcija (230, 231). To se može objasniti povećanom proizvodnjom UII u stanicama oštećenih bubrežnih tubula. Značajno povećanje ekspresije UII kao i UTS2R primijećeno je u tubularnim epitelnim stanicama bubrega u dijabetičkoj nefropatiji (231). Dapače, neke studije sugeriraju da UII ima ulogu u samom razvoju dijabetičke nefropatije zbog visoke razine oksidativnog stresa (232).

U pacijenata s dijabetesom primijećeno je povećanje razine cirkulirajućeg UII neovisno o razini glukoze u krvi. Istraživanja na štakorskom animalnom modelu su pokazala da je UII sposoban inhibirati lučenje inzulina u pankreasu kao odgovor na glukozu i arginin (230). Nekoliko istraživanja je pokazalo da je nukleotidni polimorfizam UTII gena usko povezan s razvojem dijabetesa tipa II i to mehanizmom inzulinske rezistencije (233). Također, polimorfizam UII gena, osobito gena rs228648, povezan je i s razvojem dijabetičkih komplikacija poput dijabetičke retinopatije, karotidne ateroskleroze i ranije spomenute dijabetičke nefropatije (233, 234). Studije su također pokazale da su povišene vrijednosti UII povezane s inzulinskom rezistencijom u žena s gestacijskim dijabetesom (235).

Brojni su dokazi koji uspostavljaju korelaciju između UII i URP te razvoja ateroskleroze, osobito u karotidnim arterijama i aorti. Primijećena je UII imunoreaktivnost u glatkim mišićima opterećenima lipidima te u aterosklerotskim plakovima, osobito u regijama bogatima makrofazima, što sugerira ulogu UII u razvoju ateroskleroze (230). Proliferacija vaskularne glatke muskulature inducirana je UII. Proliferacija vaskularne glatke muskulature u hipertenzivnoj arterijskoj bolesti može pridonijeti brzom razvoju ateroskleroze. UII u aterosklerotskim plakovima može stimulirati proliferaciju glatkog mišićja (230). Međutim, studije pokazuju da je ekspresija UII značajno veća u nestabilnim plakovima nego u stabilnim, a nestabilnost arterijskog plaka je povezana s razgradnjom proteina izvanstaničnog matriksa, povećanom angiogenezom, ali i s povećanom upalom. UII može dovesti do indukcije aktivnosti alkalne fosfataze te do translokacije  $\beta$ -katenina funkcijski uključenog u regulaciju i koordinaciju stanične adhezije (236). Također, UII može posredovati u osteogenoj transdiferencijaciji i u ektopičnom taloženju kalcija u vaskularnoj glatkoj muskulaturi, osobito u aorti. Dakle, UII doprinosi vaskularnoj kalcifikaciji, ali zbog kontinuiranog otpuštanja UII može uzrokovati nestabilnost aterosklerotskog plaka (236). Slični zaključci potvrđeni su *in vivo* istraživanjima na zečjem animalnom modelu, gdje je utvrđeno da je infuzija UII povećala veličinu arterijskog plaka u karotidnim i subklavijskim arterijama zeca, te je



povećala veličinu plaka i stenozu lumena u koronarnim arterijama. Infuzijska primjena UII u zečeva uzrokovala je i značajno povećanje ekspresije nikotinamid-adenin-dinukleotid fosfat oksidaze (Nox2) te HIF-1 $\alpha$ /VEGF (engl. *Hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$ -vascular endothelial growth factor*) praćeno povećanjem reaktivnog kisika u makrofazima (237). Također, primijenjeni UII je značajno umanjio regresiju aterosklerotskog plaka, a nađen je i proangiogeni učinak UII u endotelnim stanicama. Učinak UII je djelomično uspješno inhibiran primjenom UII antagonista urantida (237).

Iako su inicijalne studije UII u pacijenata s miokardnom ishemijom govornile, doduše ne potpuno jasno, o negativnoj ulozi UII u toj bolesti, recentne studije, pak, donose suprotne zaključke. Ipak, ni danas nije do kraja razjašnjeno ima li UII protektivni ili štetni učinak nakon akutnog infarka miokarda (238). Ono u čemu su gotovo sve studije suglasne je da su razine UII povišene u bolesnika s akutnim koronarnim sindromom, osobito neposredno nakon nastanka bolesti. Moguća je uloga UII u kardijalnoj homeostazi, a snižene razine plazmatskog UII u pacijenata s akutnim koronarnim sindromom mogu upućivati na veći stupanj miokardnog oštećenja (239). Ipak, neke studije sugeriraju da UII može imati ulogu u razvoju hipertrofične kardiomiopatije, što se osobito pokazalo na štakorskom modelu gdje je uočena hipertrofija i fibroza kardiomiocita pri prekomjernoj ekspresiji UTS2R (240). U kongestivnom srčanom zatajenju UII je jedan od neurohormonalnih sustava koji se aktiviraju, a ekspresija UII je pri srčanom zatajenju pojačano izražena u vaskulatomnom glatkom mišićju, endotelnim stanicama i kardiomiocitima. Izražaj UII u subendokardijalnim miocitima sugerira na ulogu u kontraktilnosti miokarda, zbog čega može doći do UII posredovane povećane kontraktilnosti srca i perifernog vaskularnog tonusa, a što dugoročno može dovesti do nepovoljne remodelacije miokarda (230). Ono što je zanimljivo za spomenuti je da UII uzrokuje vazokonstrikciju kožnih krvnih žila u pacijenata sa srčanim zatajenjem, dok u zdravih pacijenata uzrokuje vazodilataciju kožnih krvnih žila, što se može objasniti endotelnom disfunkcijom prisutnom u srčanom zatajenju (230).

Osnovni patofiziološki mehanizmi nastanka plućne arterijske hipertenzije su proliferacija glatkih mišićnih stanica plućnog krvožilja te upalni odgovor. Eksperimentalni modeli su pokazali da je ekspresija UII i UTS2R značajno povišena u plućnoj arterijskoj hipertenziji, a to su potvrdile i studije na ljudima oboljelima od te bolesti. UII povećava proliferaciju glatkog vaskularnog mišićja plućnih krvnih žila, ali povećava i upalni odgovor, što odgovara učinku na ključne patofiziološke mehanizme vezane za nastanak plućne hipertenzije. Najveću potvrdu još uvijek do

kraja neistražene uloge UII u plućnoj hipertenziji donijela je studija na štakorskom modelu. Naime, na tom životinjskom modelu farmakološki je izazvana plućna hipertenzija, a naknadno su sve životinje farmakološki tretirane s KR36676, antagonistom UII, koji je doveo do učinkovitog smanjenja sistoličkog tlaka desne klijetke, hipertrofije i fibroze, kao i do smanjenja proliferacije plućnih vaskularnih stanica, smanjenja debljine stijenke plućnih arteriola, ali i do smanjenja upalnog odgovora (241). Uz ovo, u nastanku i napredovanju plućne hipertenzije ulogu ima i endotelna disfunkcija, pri kojoj je zabilježeno vazokonstriktorsko djelovanje UII na plućnu arteriju (230).

Iako uloga UII nije do kraja razjašnjena u karcinogenezi, ipak, UII se smatra autokrinim i parakrinim faktorom stimulacije rasta više epitelijalnih tumora kao što su karcinom dojke, mjehura, prostate, kolorektalni karcinom, ali i glioblastom, što ga čini jednim od potencijalnih prognostičkih, ali i terapijskih meta (242). UII povišeno je izražen i u feokromocitomu i adenomu nadbubrežne žlijezde (243).

Nakon otkrića i inicijalnih studija, vrlo brzo je na animalnim modelima dokazano da je UII snažan vazokonstriktor. Daljnje studije su pokazale oprečne rezultate koji su govorili u prilog toga da UII može biti i vazodilatator. Takvi dihotomni rezultati doveli su do zaključka da učinak UII ovisi o tipu urotenzina II, primijenjenom životinjskom modelu, ali i o korištenoj anatomskej krvnoj žili (243). Međutim, kada se govori o humanom UII, generalni stav je da je on snažni vazokonstriktor, daleko snažniji od primjerice endotelina ili noradrenalina, a da je vazodilatacijsko djelovanje UII uzrokovano otpuštanjem dušikavog oksida (NO) i prostaglandina E iz endotela, koje se može prevladati povećanjem koncentracije UII (209). *In vivo* studije na zdravim ljudima su se u početku koncentrirale na mjerenje hemodinamike i krutosti arterija podlaktice, a rezultati su govorili u prilog toga da, unatoč značajnom povišenju koncentracije UII u plazmi, UII nije proizveo nikakav učinak na krvne žile podlaktice. Međutim, jedna studija je pokazala da se primjenom UII događa značajno smanjenje protoka krvi kroz podlakticu, što je objašnjeno kao posljedica snažne vazokonstrukcije (243). Daljnje vaskularne studije provedene su na žilama kože. U zdravih pacijenata primjena UII dovela je do vazodilatacije žila u koži, dok je u onih oboljelih od arterijske hipertenzije i u onih oboljelih od kongestivnog srčanog zatajanje dovela do vazokonstrukcije (230, 243). Ono što je nedvojbeno je da su plazmatske koncentracije UII višestruko povišene u onih s arterijskom hipertenzijom. Hipertenzija povećava turbulentni tijek krvi, što posljedično može dovesti do oštećenja endotela i endotelne disfunkcije, a što dodatno

ugrožava arterijski sustav i čini ga podložnim za nastanak i razvoj aterosklerotske bolesti (244). Neke studije nedvosmileno potvrđuju da bi UII mogao biti neovisni čimbenik rizika za nastanak arterijske hipertenzije (245).

#### **1.5.1.8. Urotenzin II u opstruktivskoj apneji tijekom spavanja**

OSA je složeni patofiziološki mehanizam povezan s brojnim pridruženim oboljenjima, među kojima su i arterijska hipertenzija i povećani upalni odgovor. Mehanizmi nastanka arterijske hipertenzije povezane s OSA-om nisu do kraja razjašnjeni. Međutim, dosadašnja istraživanja govore u prilog tomu da je hipoksija koja je prisutna u OSA-i najvažniji prohipertenzivni čimbenik. Aktivacija simpatičkog živčanog sustava i renin-angiotenzin sustava može biti su uzroci povišenog krvnog tlaka u oboljelih od OSA-e. Neke studije su pokazale značajno povećanje vrijednosti angiotenzina II, ali i endotelina-1 (246). Obzirom da je poznat snažan vazokonstriktorski učinak urotenzina II, značajno snažniji od endotelina-1, moguće je da postoji uloga UII u nastanku arterijske hipertenzije pridružene OSA-i i to sličnim patofiziološkim mehanizmima kao i u angiotenzinu II i endotelinu-1. Dodatno na ovo, hipoksija koja je prisutna u OSA-i, a koja je snažni čimbenik razvoja arterijske hipertenzije, može uzrokovati i hipertrofiju kardiomocita posredovanu učinkom urotenzina II. Vazokonstrikcija dovodi do aktivacije simpatičkog živčanog sustava, pa su i na toj razini moguće korelacije UII i OSA-e. Također, u OSA-i su izraženi upalni odgovori, a poznato je da UII sudjeluje u upalnom odgovoru. Slijedom dodirnih točaka OSA-e i UII, za zaključiti je da je vrlo vjerojatan suodnos OSA-e i UII, iako takve patofiziološke relacije, koliko je vidljivo iz dostupne literature, do sada nisu istraživane.

## **2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA**

## **2.1. Ciljevi istraživanja**

Glavni cilj istraživanja:

1. Ispitati serumske koncentracije urotenzina II u OSA pacijenata, te ih usporediti s kontrolnom skupinom.

Sporedni ciljevi istraživanja:

1. Ispitati povezanost serumske koncentracije urotenzina II i stupnja težine OSA-e.
2. Ispitati povezanost serumske koncentracije s kliničkim, laboratorijskim i antropometrijskim značajkama ispitanika.

## **2.2. Hipoteze**

1. Serumske koncentracije urotenzina II bit će veće u OSA pacijenata u usporedbi s kontrolnom skupinom.
2. Serumska koncentracija urotenzina II pozitivno će korelirati s AHI i ODI indeksom.

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

### 3.1. Dizajn studije

Ovo presječno istraživanje provedeno je u Centru za medicinu spavanja Kliničkog bolničkog centra Split i Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu, u razdoblju od travnja 2018. do travnja 2020. godine. Svi sudionici bili su obaviješteni o postupcima i svrsi ove studije te su svi prije uključivanja u studiju dali svoju privolu potpisivanjem pisanog informiranog pristanka. Ovo istraživanje i svi postupci vezani uz istraživanje odobreni su 30. svibnja 2014. godine od Etičkog povjerenstva Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu (broj: 003-08/14-03/0003), a istraživanje je provedeno sukladno posljednjoj reviziji Helsinške deklaracije.

### 3.2. Ispitanici

Provjerena su 124 ispitanika za uključivanje u ovu studiju. Svi su imali novodijagnosticiranu opstruktivnu apneju tijekom spavanja te su se javili u Centar za medicinu spavanja Kliničkog bolničkog centra Split i Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu. Opstruktivna apneja tijekom spavanja određena je sukladno najnovijim relevantnim kliničkim smjernicama za dijagnosticiranje OSA-e u odraslih (34).

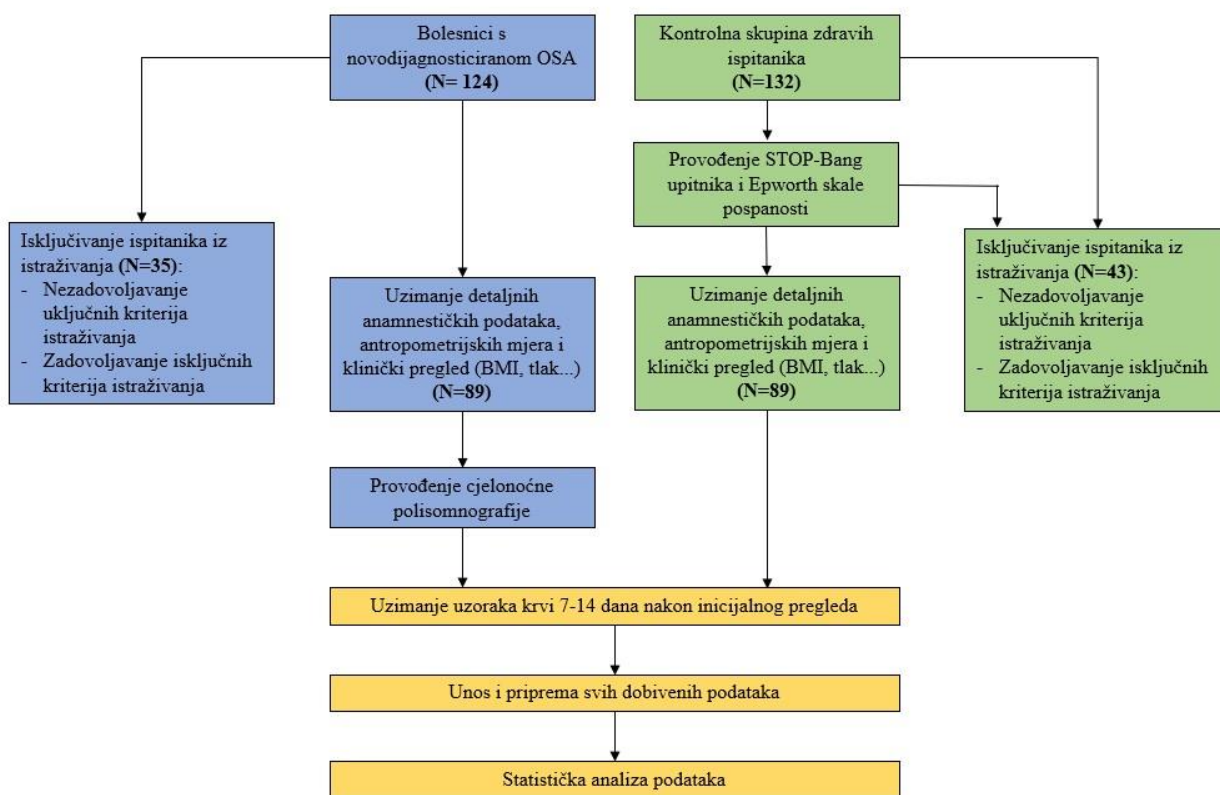
Osim novodijagnosticirane OSA-e, drugi kriteriji uključivanja bila je dob između 18 i 65 godina. Kriteriji isključivanja bili su: šećerna bolest, teške kardiovaskularne, bubrežne, respiratorne, neurološke, psihijatrijske, sistemske autoimune i upalne bolesti, akutna ili kronična imunokompromitiranost, aktivna maligna bolest, upotreba sedativa i/ili narkotika, zloupotreba alkohola i/ili droga te medicinska povijest liječenja opstruktivne apneje tijekom spavanja prije ove studije. Nakon probira, 35 ispitanika nije zadovoljilo uključne kriterije, stoga je istraživanje u konačnici uključilo 89 ispitanika s novodijagnosticiranom OSA-om.

Kontrola grupa se sastojala od dobrovoljaca koji su ispitanicima s novodijagnosticiranom OSA-om odgovarali u dobi, spolu i indeksu tjelesne mase (BMI). Oni su regrutirani preko obitelji, prijatelja, kolega i poznanika. Fizikalni pregled i pregled povijesti bolesti obavljani su na 132 zdrava dobrovoljca, od kojih je 89 uključeno u studiju kao kontrola, a nakon primjene kriterija isključivanja i dobivanja rezultata iz upitnika vezanih uz spavanje, i to STOP-Bang upitnika i Epworthove ljestvice pospanosti. Svi potencijalni ispitanici koji su ostvarili  $\geq 2$  boda na STOP-Bang upitniku, kao i oni koji su imali rezultat  $> 9$  na Epworthovoj ljestvici pospanosti, isključeni

su iz studije. Kontrolna skupina imala je iste kriterije isključenja kao i protokol procjene kao i OSA skupina. Polisomnografsko ispitivanje nije provedeno na kontrolnoj skupini.

### 3.3. Postupci

Slijed postupaka prikazan je na slici 8.



Slika 8. Prikaz hodograma (slijeda postupaka) u provedenom istraživanju.



### 3.3.1. Antropometrijska mjerenja i fizikalni pregled

Nakon detaljne anamneze i fizikalnog pregleda, obavljena su antropometrijska mjerenja za sve uključene sudionike ovog istraživanja. Za mjerenje tjelesne mase i visine korištena je kalibrirana vaga (Seca, Birmingham, Ujedinjeno Kraljevstvo). Potom je svim uključenim sudionicama izračunat indeks tjelesne mase (BMI), i to pomoću formule: tjelesna masa (kg)/visina na kvadrat ( $m^2$ ). Za mjerenje arterijskog krvnog tlaka ispitanicima su, nakon 10 minuta sjedenja, rađena tri uzastopna mjerenja tlakomjerom, nakon čega je izračunata srednja vrijednost.

### 3.3.2. Upitnici

#### STOP-Bang upitnik

STOP-Bang upitnik (engl. *Snoring, Tiredness, Observed apnea, high blood Pressure, Body Mass index, Age, Neck circumference, Gender*) (Privitak 1) sastoji se od 8 pitanja, pri čemu su prva četiri pitanja zatvorenog tipa o hrkanju, umoru, apnejama i povišenom krvnom tlaku s ponuđenim odgovorima DA ili NE, dok su preostala četiri pitanja vezana za indeks tjelesne mase, dob, opseg vrata i spol (82).

Zbog svoje tehničke jednostavnosti, visokog odziva, efikasnosti te visoke osjetljivosti, ovaj upitnik je validiran na brojnim jezicima te je primjenjivan među raznovrsnom populacijom i pacijentima s različitim oboljenjima (83).

Ukupni zbroj bodova na STOP-Bang upitniku može maksimalno biti 8 (od 0 do 8). Oni ispitanici s rezultatom od 0 do 2 imaju nizak rizik za umjerenu do tešku OSA-u. Rezultat od 3 do 8 označava povišen rizik za OSA-u, i to na način da što je veći STOP-Bang rezultat, to je veća vjerojatnost umjerene do teške OSA-e (83).

#### Epworthova ljestvica pospanosti

Epworthova ljestvica pospanosti (Privitak 2) je standardizirani upitnik za procjenu dnevne pospanosti. Pitanja su koncipirana na način da procjenjuju potrebu za spavanjem tijekom osam

rutinskih dnevnih aktivnosti. Potreba za spavanjem u tim aktivnostima se boduje vrijednostima od 0 do 3, pri čemu 0 označava da ispitanik nema potrebu za spavanjem ili drijemanjem, dok 3 označava da ispitanik ima izraženu/neodoljivu potrebu za spavanjem ili drijemanjem. Zbrajanjem bodova iz svih osam upita dobiva se konačni zbroj koji može iznositi od 0 do 24. Najčešća granična točka (engl. *cut-off point*) za određivanje prekomjerne dnevne pospanosti je rezultat  $\geq 9$  (84, 130, 131, 247). Zahvaljujući splitskim znanstvenicima iz Zavoda za neuroznanost Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu te Centra za medicinu spavanja Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu i Kliničkog bolničkog centra Split, Epworthova ljestvica pospanosti je validirana i na hrvatski jezik (248).

### 3.3.3. Polisomnografija

Svi pacijenti s novodijagnosticiranom OSA-om koji su uključeni u studiju povrgnuti su cjelonoćnoj polisomnografiji, u Centru za medicinu spavanja Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu i Kliničkog bolničkog centra Split, tijekom koje su kontinuirano bilježena mjerenja elektrookulografije, elektroencefalografije, mentalne i tibijalne elektromiografije, elektrokardiografije, nazalnog protoka zraka, pulsne oksimetrije, torakalnih i abdominalnih pokreta i intenziteta hrkanja (Alice 5LE, Philips Respironics, Eindhoven, Nizozemska). Postavljanje naprave za polisomnografiju izvršeno je od educirane i ovlaštene osobe, uvijek na istom uređaju. Svi prikupljeni podatci inicijalno su pohranjeni na računalu, a potom su provedene ručne analize u skladu sa smjernicama Američke akademije za medicinu spavanja i Europskog društva za istraživanje spavanja (engl. *European Sleep Research Society*, ESRS) (174).

U skladu s preporukama, apneja je definirana kao potpuni prestanak protoka zraka u trajanju od najmanje 10 sekundi. S druge, pak, strane, hipopneja je definirana kao smanjenje protoka zraka za više od 50% tijekom najmanje 10 sekundi, u kombinaciji sa smanjenjem zasićenosti hemoglobina kisikom za najmanje 3% (174).

Sva polisomnografska mjerenja koja su trajala kraće od 6 sati smatrana su nevažecima te je u tim situacijama ponovljena polisomnografska analiza spavanja. Svim uključenim pacijentima procijenjen je indeks apneje-hipopneje (AHI) i indeks desaturacije kisika (ODI). AHI je validan indeks koji predstavlja ozbiljnost apneje za vrijeme spavanja i izvodi se iz broja događaja apneja i

hipopneja koji se dogode po jednom satu sna. AHI indeks manji od 5/sat predstavlja uredan nalaz, AHI  $\geq$  5/sat i manji od 15/sat predstavlja blagu OSA-u, AHI  $\geq$  15/sat i manji od 30/sat predstavlja umjereno tešku OSA-u, dok AHI  $\geq$  30/sat predstavlja tešku OSA-u (249). ODI je indeks koji predstavlja prosjek broja epizoda desaturacije koje se dogode po jednom satu sna. Epizode desaturacije se definiraju kao smanjenje srednje vrijednosti saturacije kisikom od  $\geq$  3 % tijekom najmanje 10 sekundi kroz protekle dvije minute (80).

### **3.3.4. Uzorkovanje krvi i laboratorijske analize**

Svim uključenim pacijentima uzeta je krv na zakazanoj kontroli 7 do 14 dana nakon provedene cjelonoćne polisomnografije. Između polisomnografskog testiranja i uzorkovanja krvi ni jedan pacijent nije bio na liječenju OSA-e. Uzorci venske krvi su uzimani nakon 10-12 sati gladovanja, pomoću polietilenskog katetera umetnog u kubitalnu venu. Sve analize uzoraka krvi obavio je, kao slijepo ispitivanje, isti biokemijski laboratoriji i isti, vrlo iskusni biokemičar, sukladno standardnim laboratorijskim protokolima.

Razine urotenzina II u serumu su procijenjene korištenjem kita za enzimski imunoset (engl. *Enzyme Immunoassay*, EIA) za ljudski UII (Phoenix Pharmaceuticals, Burlingame, Kalifornija, Sjedinjene Američke Države), a sukladno uputama proizvođača. Koncentracija analiziranog uzorka kontrole kvalitete koji je stigao od proizvođača bila je unutar unaprijed definiranog prihvatljivog odstupanja. Linearni raspon testa bio je 0,06-8,2 ng/mL, a osjetljivost je bila 0,06 ng/mL. CV (koeficijent varijacije) unutar sonde bio je manji od 10%, a između sondi manji od 15%. Lateks turbidimetrijska metoda je korištena za određivanje razine hsCRP-a (Abbot Laboratories, Chicago, Illinois, Sjedinjene Američke Države). Svi ostali parametri su određeni prema standardnoj laboratorijskoj praksi.

### **3.4. Statističke analize**

Svi prikupljeni podatci analizirani su korištenjem statističkog softvera MedCalc za Windows® (verzija 20.110, MedCalc Software, Ostend, Belgija), dok su svi grafički podaci izrađeni korištenjem SigmaPlot za Windows® (verzija 14.0, Systat Software Inc, San Jose,

Kalifornija, Sjedinjene Američke Države). Normalnost distribucije procijenjena je Kolmogorov-Smirnovljevim testom. Sve kategoričke varijable prikazane su kao cijeli broj i postotci, dok su kvantitativne varijable prikazane kao srednja vrijednost  $\pm$  standardna devijacija ako je prikazana normalna distribucija podataka ili medijan (interkvartilni raspon) ako podatci nisu bili normalno raspodijeljeni. Usporedba kategoričkih varijabli između skupina provedena je pomoću  $\chi^2$  testa, dok je usporedba između kvantitativnih varijabli provedena pomoću Student t-testa. Korelacija je procijenjena Pearsonovom korelacijskom metodom. Nadalje, provedena je višestruka linearna regresijska analiza s koncentracijom urotenzina II u serumu kao ovisnom varijablom. Nezavisne varijable prikazane su svojim nestandardiziranim koeficijentom  $\beta$ , standardnom pogreškom, t-vrijednošću i odgovarajućom p-vrijednošću. Usporedba razine urotenzina II između tercila AHI i ODI indeksa procijenjena je jednosmjernom analizom varijance (ANOVA) s *post hoc* Tukey testom. Razina statističke značajnosti postavljena je na  $P < 0,05$ .

## **4. REZULTATI**

Skupina ispitanika s novodijagnosticiranom OSA-om imala je značajno veći opseg vrata u usporedbi s kontrolnom skupinom ( $P < 0,001$ ). Nije bilo drugih značajnih razlika između OSA skupine i kontrolne skupine glede antropometrijskih parametara. Međutim, što se tiče laboratorijskih parametara, postoji značajna statistička razlika u razinama hsCRP-a, gdje je OSA skupina imala višu razinu hsCRP-a u odnosu na kontrolnu skupinu ( $2,87 \pm 0,71$  mg/L prema  $1,52 \pm 0,68$  mg/L;  $P < 0,001$ ). Antropometrijski i laboratorijski parametri u svih ispitanika, kao i u OSA skupine i kontrolne skupine prikazani su u Tablici 1.

**Tablica 1. Antropometrijski i laboratorijski parametri između OSA skupine i kontrolne skupine**

| Varijable                  | Svi ispitanici<br>N = 178 | OSA skupina<br>N = 89 | Kontrolna skupina<br>N = 89 | P        |
|----------------------------|---------------------------|-----------------------|-----------------------------|----------|
| Dob (godine)               | 51,3 ± 8,4                | 52,5 ± 8,8            | 50,1 ± 7,9                  | 0,056*   |
| Muški spol (N, %)          | 130 (73,0)                | 66 (74,2)             | 64 (71,9)                   | 0,856†   |
| Tjelesna visina (cm)       | 184,1 ± 6,8               | 184,0 ± 7,0           | 184,2 ± 6,8                 | 0,828*   |
| Tjelesna težina (kg)       | 94,2 ± 12,9               | 95,3 ± 14,5           | 93,1 ± 11,2                 | 0,245*   |
| BMI (kg/m <sup>2</sup> )   | 27,7 ± 3,1                | 28,1 ± 3,4            | 27,4 ± 2,7                  | 0,137*   |
| Opseg vrata (cm)           | 40,5 ± 2,6                | 42,7 ± 3,0            | 38,7 ± 2,6                  | < 0,001* |
| SKT (mmHg)                 | 132,0 ± 16,4              | 132,6 ± 15,9          | 131,3 ± 15,1                | 0,577*   |
| DKT (mmHg)                 | 83,8 ± 10,8               | 84,2 ± 9,4            | 83,1 ± 10,9                 | 0,472*   |
| LDL (mmol/L)               | 3,7 ± 0,6                 | 3,8 ± 0,6             | 3,7 ± 0,7                   | 0,517*   |
| HDL (mmol/L)               | 1,39 ± 0,20               | 1,36 ± 0,19           | 1,41 ± 0,21                 | 0,092*   |
| Ukupni kolesterol (mmol/L) | 5,6 ± 1,2                 | 5,6 ± 1,3             | 5,5 ± 1,2                   | 0,732*   |
| Trigliceridi (mmol/L)      | 1,53 ± 0,35               | 1,57 ± 0,34           | 1,50 ± 0,35                 | 0,200*   |
| hsCRP (mg/L)               | 2,19 ± 0,97               | 2,87 ± 0,71           | 1,52 ± 0,68                 | < 0,001* |

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

Kratice: BMI – indeks tjelesne mase; SKT – sistolički krvni tlak; DKT – dijastolički krvni tlak; LDL – lipoproteini niske gustoće; HDL – lipoproteini visoke gustoće; hsCRP – visokoosjetljivi C-reaktivni protein.

\* Studentov t-test; †  $\chi^2$  test.

Medijan vrijednosti apneja-hipopneja indeksa (AHI) u OSA skupini bio je 39,0 (31,4-55,2) događaja po satu, dok je medijan indeksa desaturacije kisikom (ODI) bio 36,8 (27,8-56,1) događaja po satu. Srednja vrijednosti zasićenosti kisikom (SpO<sub>2</sub>) bila je 94,0% (92,3-95,0%), dok je najniži SpO<sub>2</sub> bio 76,4% (71,0-83,7%). Navedeni, ali i ostali polisomnografski parametri prikazani su u Tablici 2.

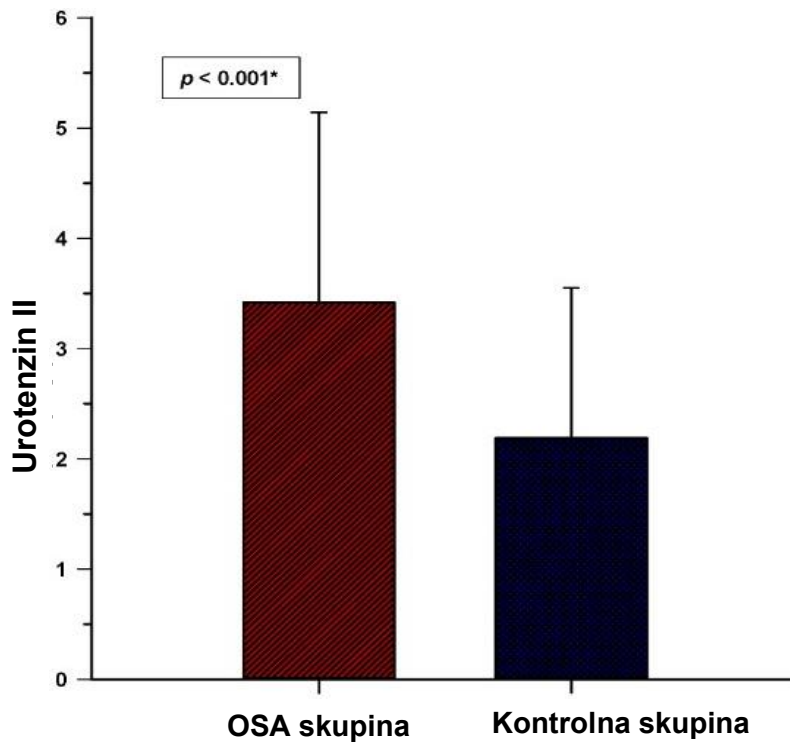
**Tablica 2. Polisomnografski parametri u OSA skupini**

| <b>Varijable</b>                        | <b>OSA skupina<br/>N = 89</b> |
|---|-------------------------------|
| AHI (događanja/sat)                     | 39,0 (31,4-55,2)              |
| Srednji SpO <sub>2</sub> (%)            | 94,0 (92,3-95,0)              |
| Najniži SpO <sub>2</sub> (%)            | 76,4 (71,0-83,7)              |
| ODI (događanja/sat)                     | 36,8 (27,8-56,1)              |
| UVS (sati)                              | 6,3 (5,1-7,3)                 |
| Centralna apneja (ukupno događanja)     | 15,5 (5,0-33,0)               |
| Opstruktivska apneja (ukupno događanja) | 104,5 (47,5-168,5)            |
| Miješana apneja (ukupno događanja)      | 14,5 (6,5-39,5)               |
| Hipopneja (ukupno događanja)            | 92,5 (52,0-142,0)             |

Svi podatci su prikazani kao medijan (interkvartilni raspon).

Kratice: AHI – apneja-hipopneja indeks; SpO<sub>2</sub> – zasićenost kisikom; ODI – indeks desaturacije kisikom; UVS – ukupno vrijeme spavanja.

Uočena je statistički značajna razlika u razina serumskog urotenzina II, pri čemu je OSA skupina imala višu razinu urotenzina II u serumu u usporedbi s kontrolnom skupinom ( $3,41 \pm 1,72$  ng/mL naspram  $2,18 \pm 1,36$  ng/mL;  $P < 0,001$ ). Rezultati su prikazani na slici 9.

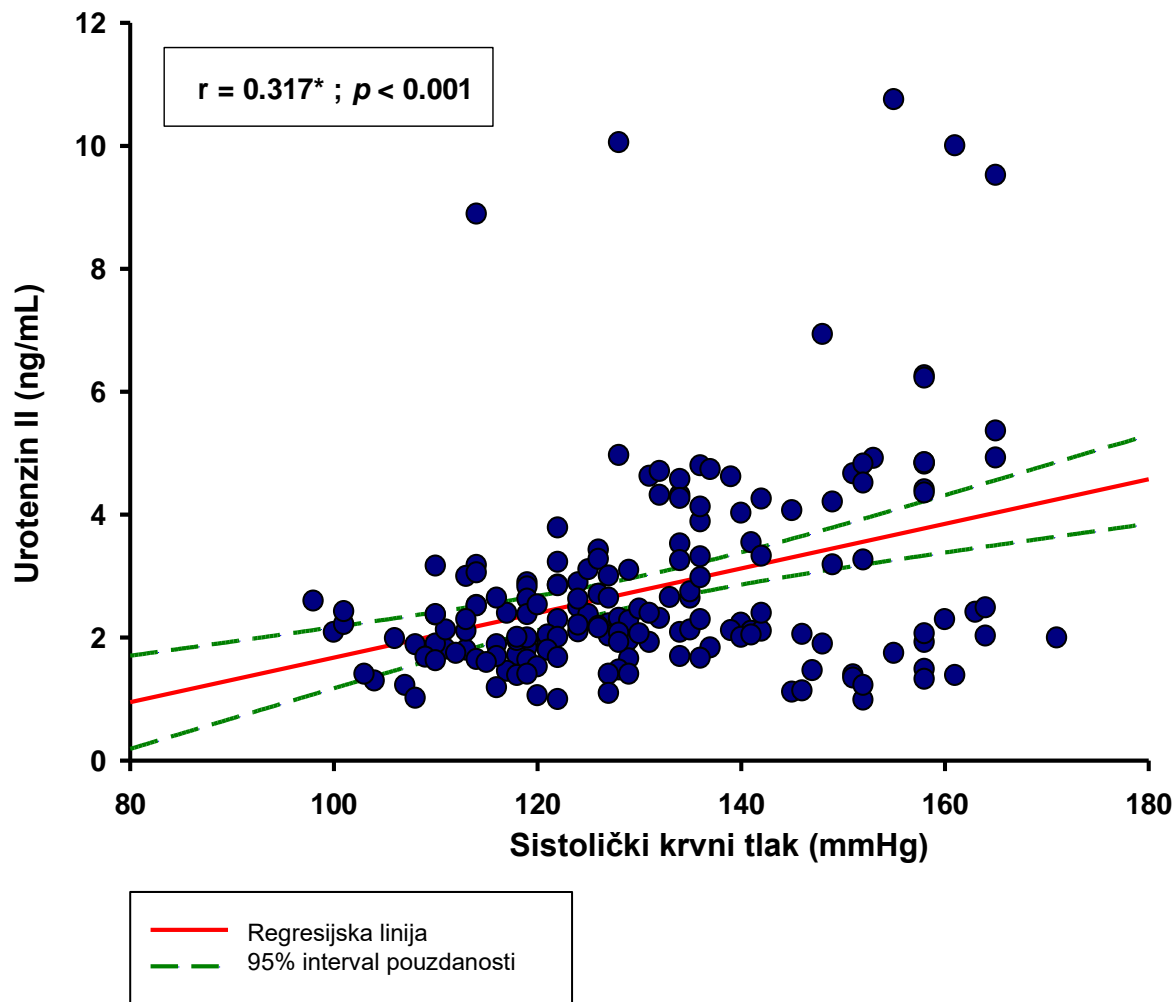


Slika 9. Usporedba serumskih razina urotenzina II između OSA skupine (N=89) i kontrolne skupine (N=89). Podatci su prikazani kao srednja vrijednost ± standardna devijacija. Kratice: OSA – opstruktivska apneja tijekom spavanja. \*Studentov t-test.

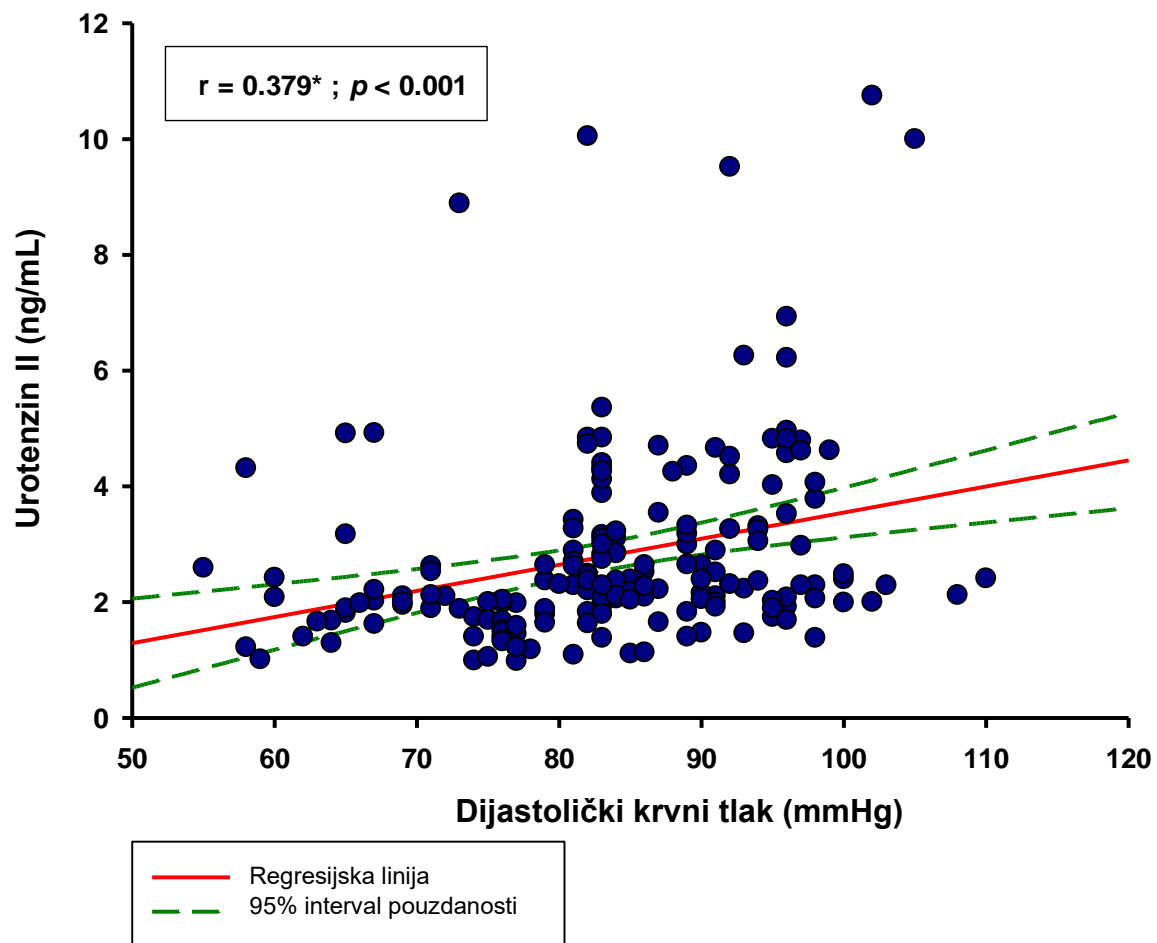
U cijelom ispitivanom uzorku, razine urotenzina II u serumu pokazale su značajnu, ali slabu pozitivnu korelaciju s indeksom tjelesne mase ( $r = 0,176$ ;  $P = 0,019$ ). Također je umjerena pozitivna korelacija pronađena s hsCRP-om ( $r = 0,450$ ;  $P < 0,001$ ), sistoličkim krvnim tlakom ( $r = 0,317$ ;  $P < 0,001$ ), što je prikazano na slici 10 te dijastoličkim krvnim tlakom ( $r = 0,379$ ;  $P < 0,001$ ), a što je prikazano na slici 11. Isto tako, u skupini OSA, razine urotenzina II u serumu imale su značajnu umjerenu pozitivnu korelaciju s razinama hsCRP-a ( $r = 0,413$ ;  $P < 0,001$ ). Korelacije urotenzina II s antropometrijskim i laboratorijskim parametrima u OSA skupine, kao i u kontrole skupine prikazane su u Tablici 3. Na slici 12 prikazana je umjerena pozitivna korelacija serumskog urotenzina II s indeksom ODI ( $r = 0,433$ ;  $P < 0,001$ ), dok je na slici 13 prikazana umjerena pozitivna korelacija serumskog urotenzina II i AHI ( $r = 0,454$ ;  $P < 0,001$ ). S druge, pak, strane, u



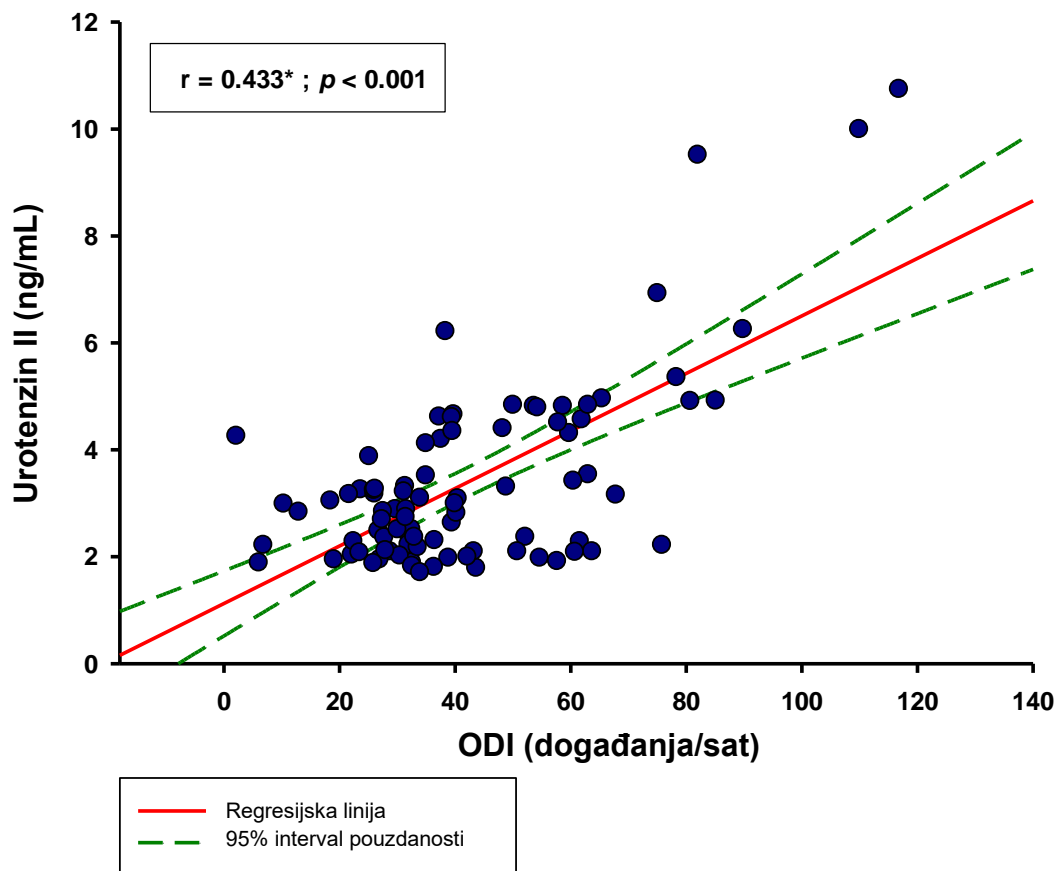
kontrolnoj skupini postoji samo značajna pozitivna korelacija između razine serumskog urotenzina II i razine hsCRP-a ( $r = 0,481$ ;  $P < 0,001$ ).



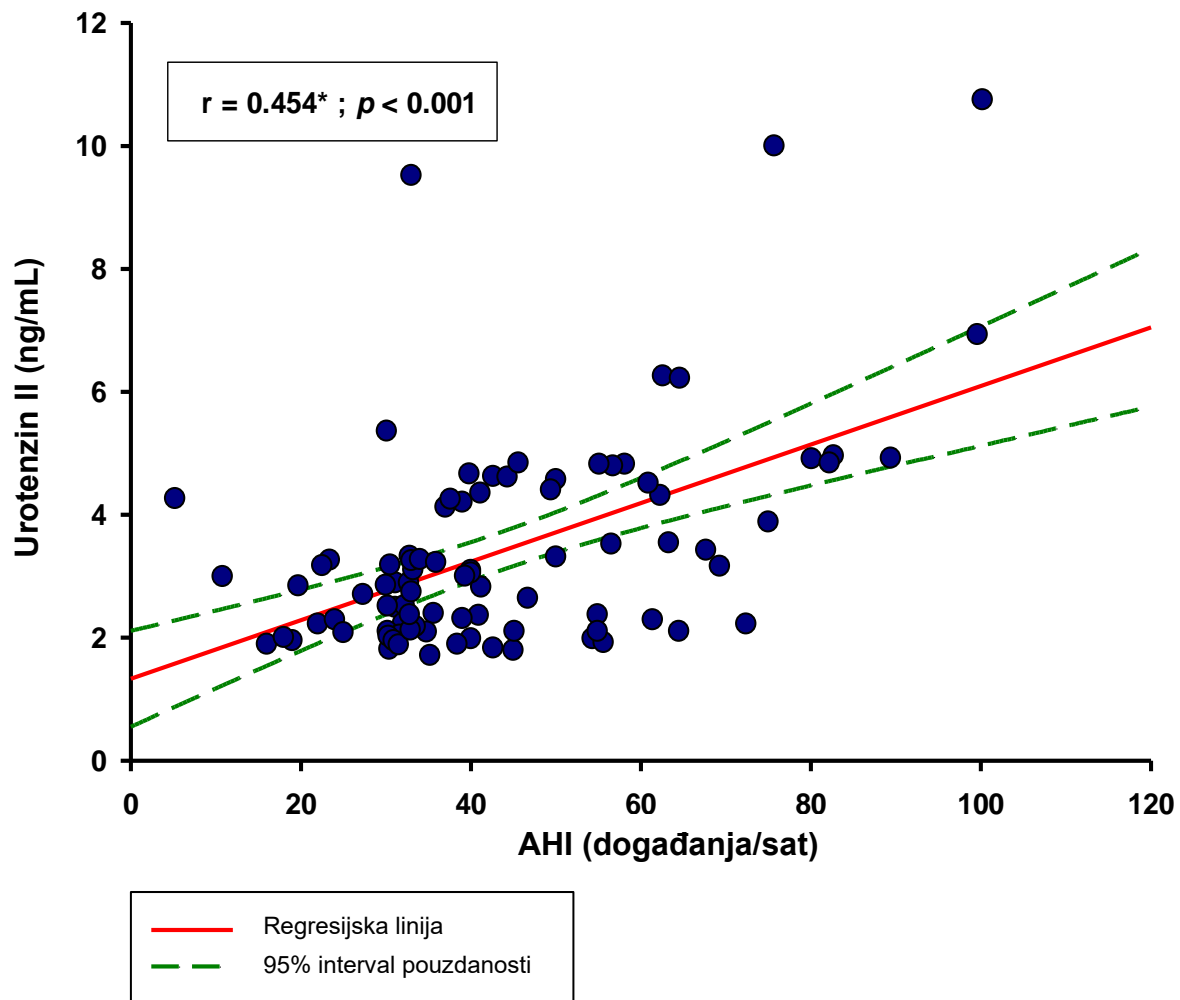
Slika 10. Korelacija urotenzina II sa sistoličkim krvnim tlakom u cijelom ispitivanom uzorku (N= 178). Kratice: OSA–opstruktivska apneja tijekom spavanja. \* Pearsonov koeficijent korelacije.



Slika 11. Korelacija urotenzina II s dijastoličkim krvnim tlakom u cijelom ispitivanom uzorku (N= 178). Kratice: OSA – opstruktivska apneja tijekom spavanja. \* Pearsonov koeficijent korelacije.



Slika 12. Korelacija urotenzina II s ODI u OSA skupini (N= 89). Kratice: ODI – idneks desaturacije kisikom; OSA – opstruktivska apneja tijekom spavanja. \* Pearsonov koeficijent korelacije.



Slika 13. Korelacija urotenzina II s AHI u OSA skupini (N= 89). Kratice: AHI – apneja-hipopneja idneks; OSA – opstruktivska apneja tijekom spavanja. \* Pearsonov koeficijent korelacije.

**Tablica 3. Korelacija urotenzina II s antropometrijskim i laboratorijskim parametrima u OSA skupine i kontrolne skupine**

|                            | Svi ispitanici<br>N = 178 | OSA skupina<br>N = 89 | Kontrolna<br>skupina<br>N = 89 |
|----------------------------|---------------------------|-----------------------|--------------------------------|
| Varijable                  | $r^*$ $P$                 | $r^*$ $P$             | $r^*$ $P$                      |
| Dob (godine)               | 0,087; 0,249              | 0,028; 0,793          | 0,151; 0,157                   |
| BMI (kg/m <sup>2</sup> )   | 0,176; 0,019              | 0,151; 0,156          | 0,192; 0,071                   |
| LDL (mmol/L)               | 0,069; 0,362              | 0,078; 0,463          | 0,060; 0,576                   |
| HDL (mmol/L)               | -0,024; 0,819             | -0,101; 0,180         | -0,009; 0,933                  |
| Ukupni kolesterol (mmol/L) | 0,110; 0,143              | 0,376; < 0,001        | 0,012; 0,911                   |
| Trigliceridi (mmol/L)      | 0,032; 0,669              | 0,021; 0,842          | 0,043; 0,689                   |
| hsCRP (mg/L)               | 0,450; < 0,001            | 0,413; < 0,001        | 0,481; < 0,001                 |

Kratice: BMI – indeks tjelesne mase; LDL – lipoproteini niske gustoće; HDL – lipoproteini visoke gustoće; hsCRP – visokoosjetljivi C-reaktivni protein.

\* Pearsonov koeficijent korelacije.

**Tablica 4. Model višestruke linearne regresije s razinama urotenzina II u serumu kao ovisnom varijablom**

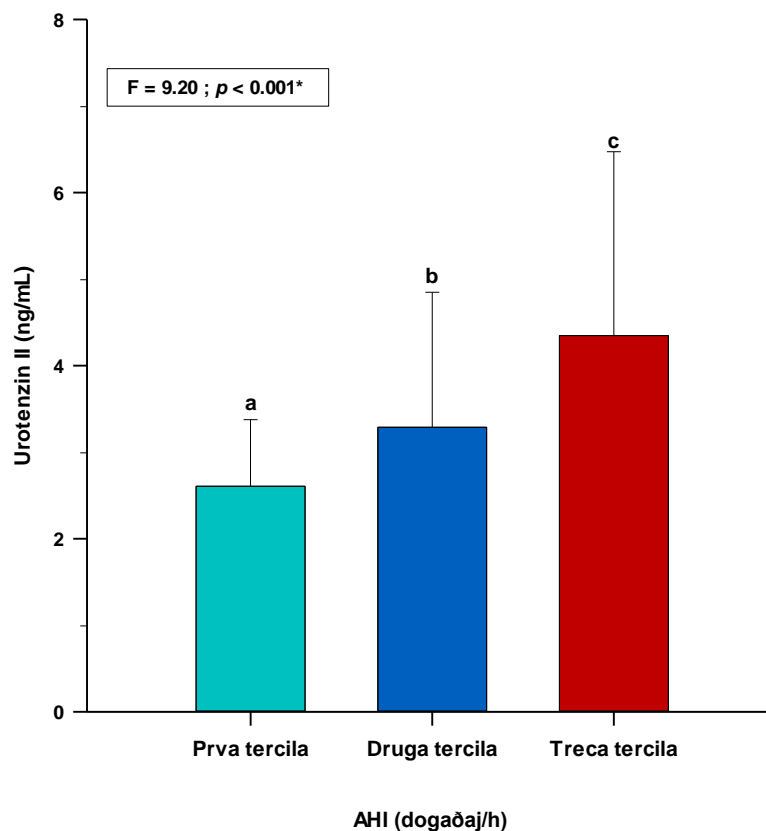
| Varijable                | $\beta^*$ | SP <sup>†</sup> | $t$ vrijednost | $P$     |
|--------------------------|-----------|-----------------|----------------|---------|
| Dob (godine)             | -0,002    | 0,012           | -0,173         | 0,863   |
| BMI (kg/m <sup>2</sup> ) | 0,017     | 0,034           | 0,515          | 0,608   |
| SKT (mmHg)               | 0,052     | 0,008           | 6,305          | < 0,001 |
| hsCRP (mg/L)             | 0,538     | 0,164           | 3,282          | 0,001   |
| AHI (događanja/sat)      | 0,017     | 0,006           | 2,532          | 0,013   |

Kratice: BMI – indeks tjelesne mase; SKT – sistolički krvni tlak; hsCRP – visokoosjetljivi C-reaktivni protein; AHI – apneja-hipopneja indeks.

\* nestandardizirani koeficijent  $\beta$ ; <sup>†</sup> standardna pogreška.

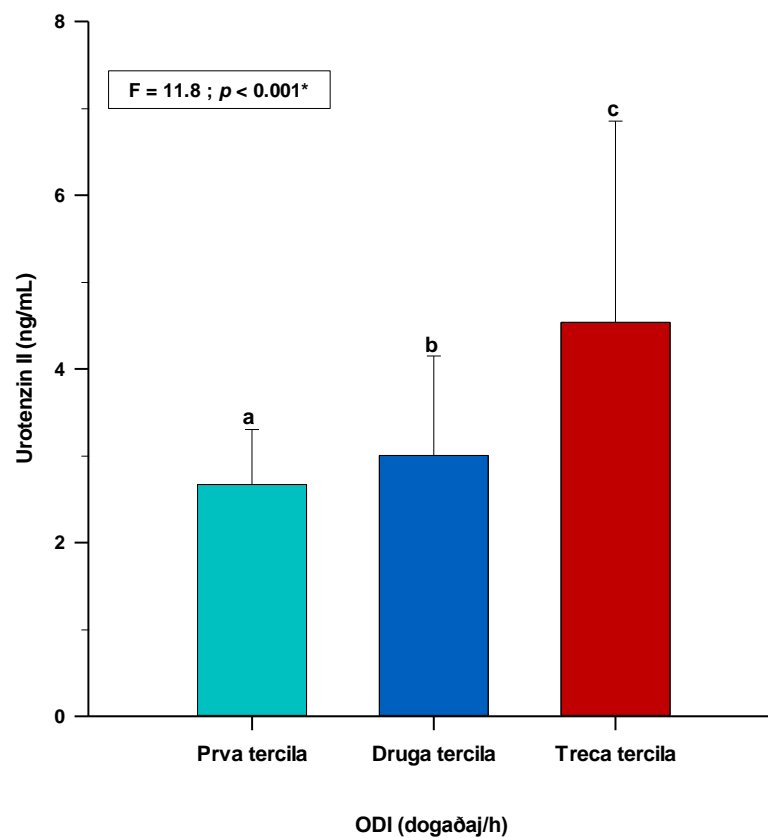
Model višestruke linearne regresije ukupnog uzorka studije (N=178) izračunat je s razinama urotenzina II u serumu kao ovisnom varijablom te dobi, indeksom tjelesne mase, sistoličkim krvnim tlakom, dijastoličkim krvnim tlakom, visokoosjetljivim C-reaktivnim proteinom i apneja-hipopneja indeksom kao neovisnim varijablama, a što je prikazano u Tablici 4. ODI nije uključen u model zbog visoke kolinearnosti AHI i ODI. Model višestruke linearne regresije je pokazao da su sistolički krvi tlak ( $0,052 \pm 0,008$ ;  $P < 0,001$ ), hsCRP ( $0,538 \pm 0,164$ ;  $P < 0,001$ ) te AHI ( $0,017 \pm 0,006$ ;  $P = 0,013$ ) pozitivni prediktori razine urotenzina II u serumu.

Jednosmjernom analizom varijance (ANOVA) s *post hoc* Tukey testom urađena je usporedba razine urotenzina II između tercila AHI indeksa. Tako je u prvoj trecili AHI razina urotenzina II bila  $2.6 \pm 0.7$  ng/mL, u drugoj trecili  $3.2 \pm 1.5$  ng/mL, a u trećoj trecili AHI indeksa urotenzin II iznosio je  $4.3 \pm 2.1$  ng/mL. Ova usporedba prikazana je na slici 14.



Slika 14. Usporedba razine urotenzina II između tercila AHI indeksa. \*Jednosmjerna analiza varijance (ANOVA) s *post hoc* Tukey testom. a vs c; b vs c;  $P < 0.05$ .

Istim statističkim testom urađena je i usporedba razina urotenzina II između tercila ODI indeksa. Tako je u prvoj tercili ODI indeksa vrijednost urotenzina II bila  $2.6 \pm 0.6$  ng/mL, u drugoj tercili  $3.0 \pm 1.1$  ng/mL, a u trećoj tercili  $4.5 \pm 2.3$  ng/mL. Kao i kod usporedbe razine urotenzina II između tercila AHI indeksa, tako i kod usporedbe urotenzina II između tercila ODI indeksa, prikazano je da je prva tercila vs treća tercila; druga tercila vs treća tercila;  $P < 0.05$ . Usporedba je grafički prikazana na slici 15.



Slika 15. Usporedba razine urotenzina II između tercila ODI indeksa. \*Jednosmjerna analiza varijance (ANOVA) s *post hoc* Tukey testom. a vs c; b vs c;  $P < 0.05$ .

## **5. RASPRAVA**



Rezultati ove studije su pokazali da su razine urotenzina II u serumu značajno više u osoba oboljelih od opstruktivne apneje tijekom spavanja u usporedbi sa zdravim osobama iste dobi i spola. Nadalje, studija je pokazala da postoji značajna pozitivna korelacija između razina urotenzina II u serumu s ODI i AHI indeksima. Dodatno, razine urotenzina II imale su značajnu pozitivnu korelaciju s visokoosjetljivim C-reaktivnim proteinom te sistoličkim i dijastoličkim krvnim tlakom. Koliko nam je poznato, ovo je prva studija koja je istraživala razine urotenzina II u pacijenata s OSA-om. Nekoliko studija je pokušalo definirati cirkulirajuće razine urotenzina II u zdravih ispitanika u usporedbi s pacijentima s različitim bolestima. Ove studije su pokazale velike razlike u koncentraciji urotenzina II u cirkulaciji, s vrijednostima u rasponu od 6 pg/mL do 3,6 ng/mL (250-254). Varijacije u razinama serumskog urotenzina II u različitim patološkim stanjima mogu se objasniti i očekivane su, ali je razlika među zdravim subjektima zbunjujuća. Moguće objašnjenje moglo bi ležati u dva uobičajeno korištena formata testa: radioimunotest (engl. *radioimmunoassay*, RIA) i enzimski imunotest (engl. *enzyme-linked immunosorbent assay*, ELISA). Naime, samo neka od antitijela koja se koriste u ovim tehnikama mogu prepoznati zreli protein UII i njegov prekursorski protein ili razne skraćene fragmente urotenzina II (255). Pokazalo se da su razine urotenzina II u serumu povišene u stanjima kao što su zatajenje srca, zatajenje bubrega, bolesti jetre i dijabetes, ali i mnogim drugima (256). Prema preglednom radu Svistunova i suradnika, urotenzin II je važan čimbenik stanične homeostaze, koji je uključen u patofiziologiju mnogih stresnih i adaptivnih reakcija. Urotenzin II igra važnu ulogu u patogenezi akutnih i kroničnih bolesti, stresnih i adaptivnih reakcija tijela, u razvoju kardiovaskularnih patologija, metaboličkog sindroma, upala, ciroze jetre, zatajenja bubrega, dijabetičke nefropatije, reproduktivne disfunkcije, progresije psihosomatskih, psihoendokrinih i psihijatrijskih poremećaja (257). Također, čini se da uloga urotenzina II u biomedicini nije potpuno jasna, osobito uzimajući u obzir studiju Behma i suradnika koja je na animalnom modelu pokazala da delecija urotenzin II receptora u *knock-out* miševa nije utjecala na bazalnu hemodinamiku u usporedbi s *wild-type* miševima (258).

Nadalje, urotenzin II je značajno nadmoćniji od endotelina-1 u smislu vazokonstriktivnog učinka (181, 259). Prema Maguireu i suradnicima humani UII je proglašen „novim endotelinom“ jer su početne studije ukazivale na sličnosti između peptida. U izoliranim arterijama *cynomolgus* majmuna UII je bio snažniji konstriktor od endotelina-1, međutim, učinci UII u krvožilnom tkivu drugih vrsta sisavaca su promjenjivi i s manjim maksimalnim odgovorom od endotelina-1.

Nasuprot tome, kod ljudi se UII prezentira kao sveprisutni konstriktor arterija i vena *in vitro*, a *in vivo* izaziva smanjenje protoka krvi u podlaktici i mikrocirkulaciji kože (181). Uz izravnu vazokonstriktornu aktivnost na receptore glatkih mišića, opažena je i vazodilatacija uzrokovana UII, a posredstvom endotela (181, 259). Poznato je i da angiotenzin II stimulira ekspresiju urotenzina II, proizvodnju reaktivnih kisikovih oblika (eng. *Reactive Oxygen Species*, ROS) i srčanu hipertrofiju (206, 240, 260). Budući je intermitentna hipoksija glavna manifestacija OSA-e, u svojoj su studiji Inamoto i suradnici pokazali da hipoksija u uzgojenim neonatalnim kardiomiocitima štakora inducira ekspresiju angiotenzina II i ROS, a koji posreduju u indukciji ekspresije urotenzina II i posljedičnoj hipertrofiji kardiomiocita, tj. hipoksija u kardiomiocitima povećava ekspresiju UII i kolagena I putem indukcije angiotenzin II, ROS i JNK puta uzrokujući hipertrofiju i fibrozu kardiomiocita (261, 262). Ovaj patofiziološki mehanizam mogao bi biti moguća poveznica za povišene razine urotenzina II i komorbiditete OSA-e.

Prema Prabhakaru i suradnicima, pacijenti s AHI od 5 do 15 događaja na sat i > 15 događaja na sat su 2 do 3 puta izloženiji riziku od razvoja hipertenzije, što odgovara rezultatima naše studije i implicira važnu ulogu urotenzina II u patofiziologiji hipertenzije u opstruktivnoj apneji tijekom spavanja (263). Prema Brownu i suradnicima čak i blaga apneja za vrijeme spavanja povećava rizik za esencijalnu hipertenziju (264). Čak 89% mladih pacijenata u dobi od 18 do 35 godina s esencijalnom hipertenzijom u podlozi ima OSA-u. Stopa noćne desaturacije kisikom u pozitivnoj je korelaciji s težinom esencijalne hipertenzije. OSA i esencijalna hipertenzija su komorbidna stanja s negativno povezanom patofiziologijom uključujući simpatičku hiperaktivnost, disbiozu crijeva, proinflamaciju, oštećenje endotela, faringealni kolaps, intravaskularno zadržavanje tekućine, noćnu potrošnju energije i metaboličke poremećaje (264). Važno je naglasiti da je povezanost između težina OSA-e i hipertenzije neovisna o zbunjujućim čimbenicima kao što su indeks tjelesne mase, dob i spol, što sugerira da je opstruktivna apneja tijekom spavanja nezavisni faktor rizika za nastanak arterijske hipertenzije i kardiovaskularnih bolesti u općoj populaciji (265, 266). Dodatno, moguća veza između OSA-e i urotenzina II mogla bi biti u aktivaciji simpatičkog živčanog sustava i posljedičnom suženju krvnih žila i povišenju krvnog tlaka kroz UII put. Međutim, ovim se pitanjem treba dodatno pozabaviti u budućim studijama.

Rezultati našeg istraživanja su pokazali značajnu pozitivnu korelaciju urotenzina II sa sistoličkim i dijastoličkim krvnim tlakom u bolesnika s OSA-om. OSA je dobro poznata po svojoj povezanosti s povećanim rizikom od hipertenzije i kardiovaskularnih bolesti, kao što su ishemijska

bolest srca, moždani udar i aritmije, kao i metaboličkih poremećaja uključujući šećernu bolest, poremećaje lipidnog profila i nealkoholnu bolest jetre (267, 268). Nadalje, pokazalo se da urotenzin II može imati važnu ulogu u središnjim mehanizmima regulacije krvnog tlaka. Pretpostavlja se da urotenzin II sudjeluje u složenoj funkcionalnoj reorganizaciji neuronskih formacija u središnjem živčanom sustavu, što posljedično može dovesti do pojave hipertenzije (269). Studija koju su proveli Aličić i suradnici, kao i nekoliko drugih studija, utvrdile su pozitivnu korelaciju između razine urotenzina II i krvnog tlaka, s vazokonstriktorskim učinkom kao vjerojatnim mehanizmom djelovanja (270). Zanimljivo je da su Debiec i suradnici u svojim studijama ekspresije puta urotenzina II otkrili da uobičajene genetske varijacije u putu U11 vjerojatno ne igraju glavnu ulogu u genetskoj regulaciji krvnog tlaka ili bubrežne funkcije, tako da je ovaj zaključak potrebno dodatno istražiti, osobito uzimajući u obzir da zaključci Debiecovog istraživanja sugeriraju možebitnu evolucijsku promjenu urotenzina II sustava u smjeru gubitka svoje funkcije od divergencije primata naovamo (271).

OSA se smatra kroničnom upalnom bolešću, pri čemu pacijenti s OSA-om imaju više cirkulirajuće razine upalnog markera hsCRP-a, interleukina-6, interleukina-8, TNF- $\alpha$ , međustanične adhezijske molekule-1 (engl. *Intercellular Adhesion Molecule 1*, ICAM-1) i vaskularne stanične adhezijske molekule-1 (engl. *Vascular Cell Adhesion Molecule 1*, VCAM-1). Prema Kheirandish-Gozalu i suradnicima kumulativni dokazi prikupljeni tijekom posljednja dva desetljeća podržavaju konceptualni okvir prema kojem se poremećaje disanja tijekom spavanja općenito, a posebno OSA-u, treba promatrati kao kronične upalne bolesti niskog stupnja. Sukladno tome, pretpostavlja se da je dio fenotipskog potpisa u OSA-i uzročno objašnjen temeljnim upalnim procesima koji induciraju disfunkciju krajnjeg organa (272). Aktivirani upalni putovi mogu biti uzrok ili posljedica OSA-e, a uobičajeni biomarkeri koji ukazuju na sustavnu upalu uključuju C-reaktivni protein i TNF- $\alpha$ , stoga su naširoko proučavani u OSA-i (273). Važno je naglasiti da je sustavna upala povezana s hipertenzijom, aterosklerozom i kardiovaskularnim bolestima, ali pretilost može biti zbunjujući faktor uloge upale u OSA-i (274-276). U svojoj studiji Guler i suradnici jasno navode da su razine urotenzina II, oksidativni stres i upala povećani u hiperenzivnih i rezistentnih hipertenzivnih bolesnika, dok su razine antioksidansa i tiola niže nego u zdravih kontrolnih osoba (277). To pokazuje povezanost urotenzina II s oksidativnim stresom i upalom, što je u skladu s rezultatima naše studije. Eksperimentalna primjena antagonista urotenzina II (KR36676) učinkovito je smanjila povećanje sistoličkog tlaka desne klijetke,

hipertrofiju i fibrozu, a debljina stijenke plućnih arteriola, proliferacija plućnih vaskularnih stanica i upalni odgovor značajno su se smanjili, što je također direktna potvrda uloge urotenzina II u sustavnoj upali i kardiovaskularnom sustavu (241).

Korelacija između urotenzina II i hsCRP-a podudara se s meta-analizom koju su proveli Li i suradnici, a u kojoj su pokazali da su razine hsCRP-a u serumu više u bolesnika s OSA-om u usporedbi s kontrolnom skupinom (278). C-reaktivni protein je prvenstveno pod regulacijom interleukina-6 i široko je povezan s kardiovaskularnim bolestima, budući da više od 20 velikih prospektivnih studija sugerira da bi hsCRP mogao biti prediktor budućih kardiovaskularnih događaja (279). Ipak, bolesnici s OSA-om imaju cijeli niz zbunjujućih faktora, kao što su dijabetes ili pretilost, tako da povećane razine C-reaktivnog proteina povezane s OSA-om treba uzeti s oprezom (280). Nekoliko je studija pokušalo povezati CRP s OSA-om neovisno o pretilosti, uključujući onu Lua i suradnika gdje je sredovječni zdravi muškarac imao povišene vrijednosti CRP-a povezane s OSA-om (281). Štoviše, prema Watanabeu i suradnicima, urotenzin II može imati ključnu ulogu u patogenezi ateroskleroze, i to zajedno kroz hemodinamske učinke i izravna stanična djelovanja na stijenku krvnih žila. U ljudskim endotelnim stanicama UII potiče staničnu proliferaciju i pojačava ekspresiju kolagena tipa 1, a također aktivira nikotinamid adenin dinukleotid fosfat oksidazu i inhibitor aktivatora plazminogena-1 u ljudskim vaskularnim glatkim mišića, te stimulira proliferaciju vaskularne glatke muskulature sa sinergističkim učincima uočenim u kombinaciji s oksidiranim lipoproteinom niske gustoće, lizofosfatidilkolinom, reaktivnim kisikovim vrstama ili serotoninom (282). Ovi nalazi sugeriraju da UII igra ključnu ulogu u ubrzavanju razvoja ateroskleroze stvaranjem masnih pruga, što je početak aterosklerotskih lezija (282). Prema studiji Šimunovića i suradnika, prikupljeni dokazi upućuju na to da je urotenzin II usko povezan i s metaboličkim sindromom (283).

Postoji nekoliko ograničenja ove studije. Prije svega, dizajn presječnog istraživanja ne dopušta bilo kakav uzročno-posljedični zaključak. Veličina uzorka bila je relativno mala, a istraživanje je monocentrično. Nadalje, bilo je nemoguće eliminirati sve zbunjujuće čimbenike koji su mogli utjecati na krajnje rezultate. Na kraju, cijelonoćna polisomnografija nije provedena u kontrolnoj skupini među sudionicima koji su imali nizak rezultat na STOP-Bang ljestvici (<3). Slijedom toga, nemoguće je u potpunosti isključiti da su neki od kontrolnih ispitanika imali neotkrivenu opstruktivnu apneju tijekom spavanja. Međutim, STOP-Bang rezultat > 2 ima

negativnu prediktivnu vrijednost za status OSA-e i dobro je uspostavljen instrument probira, kao što je pokazano u brojnim validacijskim analizama.

## **6. ZAKLJUČCI**

1. Ova studija je pokazala da su razine urotenzina II u serumu značajno više u bolesnika s OSA-om u usporedbi sa zdravim ispitanicima iz kontrole skupine.
2. Postojala je značajna pozitivna korelacija sa sistoličkim i dijastoličkim krvnim tlakom, vrijednostima visokoosjetljivog C-reaktivnog proteina te s indeksima AHI i ODI.
3. Postoji statistički značajna razlika u razini urotenzina II i tercila indeksa AHI i ODI, pri čemu je razina urotenzina II veća pri većoj tercili indeksa AHI i ODI,
4. Stoga, obzirom da su koncentracije urotenzina II u serumu bile povezane s krvnim tlakom, ali i indeksima upale i težinom opstruktivske apneje tijekom spavanja, možemo zaključiti da bi urotenzin II mogao igrati važnu ulogu u složenoj patofiziologiji OSA-e.
5. Ipak, ostaje pitanje odražavaju li razine urotenzina II u serumu metaboličke i vaskularne promjene u OSA-i ili urotenzin II samostalno djeluje kao posrednik u svojoj patofiziologiji.
6. U perspektivi, u budućim istraživanjima, bilo bi važno istražiti interakcije urotenzina II u pacijenata liječenih CPAP-om, kao i utjecaj liječenja na razine urotenzina II u tih pacijenata. Zbog toga su potrebna buduća veća longitudinalna istraživanja za daljnju razradu ove teme.

## **7. LITERATURA**



1. Chokroverty S. Overview of sleep & sleep disorders. *Indian J Med Res.* 2010;131:126-40.
2. Fogel SM, Smith CT. The function of the sleep spindle: a physiological index of intelligence and a mechanism for sleep-dependent memory consolidation. *Neurosci Biobehav Rev.* 2011;35:1154-65.
3. Webster KE, Colrain IM. Multichannel EEG analysis of respiratory evoked-potential components during wakefulness and NREM sleep. *J Appl Physiol* (1985). 1998;85:1727-35.
4. Léger D, Debellemanni E, Rabat A, Bayon V, Benchenane K, Chennaoui M. Slow-wave sleep: From the cell to the clinic. *Sleep Med Rev.* 2018;41:113-32.
5. Halász P. K-complex, a reactive EEG graphoelement of NREM sleep: an old chap in a new garment. *Sleep Med Rev.* 2005;9:391-412.
6. Foulkes D. Dream research: 1953-1993. *Sleep.* 1996;19:609-24.
7. Muntean ML, Trenkwalder C, Walters AS, Mollenhauer B, Sixel-Döring F. REM Sleep Behavioral Events and Dreaming. *J Clin Sleep Med.* 2015;11:537-41.
8. Farooq M, Anjum F. Sleep Paralysis. 2022. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing.
9. Peever J, Fuller PM. The Biology of REM Sleep. *Curr Biol.* 2017;27:1237-48.
10. Polotsky VY, Rubin AE, Balbir A, Dean T, Smith PL, Schwartz AR i sur. Intermittent hypoxia causes REM sleep deficits and decreases EEG delta power in NREM sleep in the C57BL/6J mouse. *Sleep Med.* 2006;7:7-16.
11. Sateia MJ. International classification of sleep disorders-third edition: highlights and modifications. *Chest.* 2014;146:1387-94.
12. Foldvary-Schaefer NR, Waters TE. Sleep-Disordered Breathing. *Continuum (Minneapolis, Minn).* 2017;23:1093-116.
13. May AM, Mehra R. Obstructive sleep apnea: role of intermittent hypoxia and inflammation. *Semin Respir Crit Care Med.* 2014;35:531-44.

14. Casey KR, Tiwari R. The (still) elusive definition of hypopnea. *J Clin Sleep Med*. 2018;14:1971–2.
15. White DP. Sleep apnea. *Proc Am Thorac Soc*. 2006;3:124-8.
16. Schwab RJ, Pasirstein M, Pierson R, Mackley A, Hachadoorian R, Arens R i sur. Identification of upper airway anatomic risk factors for obstructive sleep apnea with volumetric magnetic resonance imaging. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003;168:522-30.
17. White DP. The pathogenesis of obstructive sleep apnea: advances in the past 100 years. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2006;34:1-6.
18. Longobardo GS, Evangelisti CJ, Cherniack NS. Analysis of the interplay between neurochemical control of respiration and upper airway mechanics producing upper airway obstruction during sleep in humans. *Exp Physiol*. 2008;93:271-87.
19. Dempsey JA, Veasey SC, Morgan BJ, O'Donnell CP. Pathophysiology of sleep apnea. *Physiol Rev*. 2010;90:47-112.
20. Gozal D, Kheirandish L. Oxidant stress and inflammation in the snoring child: confluent pathways to upper airway pathogenesis and end-organ morbidity. *Sleep Med Rev*. 2006;10:83-96.
21. Xu W, Chi L, Row BW, Xu R, Ke Y, Xu B i sur. Increased oxidative stress is associated with chronic intermittent hypoxia-mediated brain cortical neuronal cell apoptosis in a mouse model of sleep apnea. *Neuroscience*. 2004;126:313-23.
22. Madani M. Surgical treatment of snoring and mild obstructive sleep apnea. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am*. 2002;14:333-50.
23. Watanabe T, Isono S, Tanaka A, Tanzawa H, Nishino T. Contribution of body habitus and craniofacial characteristics to segmental closing pressures of the passive pharynx in patients with sleep-disordered breathing. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002;165:260-5.
24. Kapur VK. Obstructive sleep apnea: diagnosis, epidemiology, and economics. *Respir Care*. 2010;55:1155-67.
25. Young T, Palta M, Dempsey J, Skatrud J, Weber S, Badr S. The occurrence of sleep-disordered breathing among middle-aged adults. *N Engl J Med*. 1993;328:1230-5.

26. Rundo JV. Obstructive sleep apnea basics. *Cleve Clin J Med*. 2019;86:2-9.
27. Heinzer R, Vat S, Marques-Vidal P, Marti-Soler H, Andries D, Tobback N i sur. Prevalence of sleep-disordered breathing in the general population: the HypnoLaus study. *Lancet Respir Med*. 2015;3:310-8.
28. Mayer A, Mizdrak M, Babić M, Mastelić T, Glavina T, Božić J i sur. Knowledge, attitudes, and screening for obstructive sleep apnea and diabetes mellitus among war veterans seeking treatment of posttraumatic stress disorder. *Healthcare (Basel)*. 2021;9:1698.
29. Acosta-Castro P, Hirotsu C, Marti-Soler H, Marques-Vidal P, Tobback N, Andries D i sur. REM-associated sleep apnoea: prevalence and clinical significance in the HypnoLaus cohort. *Eur Respir J*. 2018;52:1702484.
30. Young T, Shahar E, Nieto FJ, Redline S, Newman AB, Gottlieb DJ i sur. Predictors of sleep-disordered breathing in community-dwelling adults: the Sleep Heart Health Study. *Arch Intern Med*. 2002;162:893-900.
31. Kim J, In K, Kim J, You S, Kang K, Shim J i sur. Prevalence of sleep-disordered breathing in middle-aged Korean men and women. *Am J Respir Crit Care Med*. 2004;170:1108-13.
32. Mirrakhimov AE, Sooronbaev T, Mirrakhimov EM. Prevalence of obstructive sleep apnea in Asian adults: a systematic review of the literature. *BMC Pulm Med*. 2013;13:10.
33. Young T, Evans L, Finn L, Palta M. Estimation of the clinically diagnosed proportion of sleep apnea syndrome in middle-aged men and women. *Sleep*. 1997;20:705-6.
34. Kapur VK, Auckley DH, Chowdhuri S, Kuhlmann DC, Mehra R, Ramar K i sur. Clinical practice guideline for diagnostic testing for adult obstructive sleep apnea: an American academy of sleep medicine clinical practice guideline. *J Clin Sleep Med*. 2017;13:479-504.
35. Pagel JF. Obstructive sleep apnea (OSA) in primary care: evidence-based practice. *J Am Board Fam Med*. 2007;20:392-8.
36. Kapur V, Strohl KP, Redline S, Iber C, O'Connor G, Nieto J. Underdiagnosis of sleep apnea syndrome in U.S. communities. *Sleep Breath*. 2002;6:49-54.

37. Appleton SL, Gill TK, Lang CJ, Taylor AW, McEvoy RD, Stocks NP i sur. Prevalence and comorbidity of sleep conditions in Australian adults: 2016 Sleep Health Foundation national survey. *Sleep Health*. 2018;4:13-9.
38. Bearpark H, Elliott L, Grunstein R, Cullen S, Schneider H, Althaus W i sur. Snoring and sleep apnea. A population study in Australian men. *Am J Respir Crit Care Med*. 1995;151:1459-65.
39. Durán J, Esnaola S, Rubio R, Iztueta A. Obstructive sleep apnea-hypopnea and related clinical features in a population-based sample of subjects aged 30 to 70 yr. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001;163:685-9.
40. Ip MS, Lam B, Lauder IJ, Tsang KW, Chung KF, Mok YW i sur. A community study of sleep-disordered breathing in middle-aged Chinese men in Hong Kong. *Chest*. 2001;119:62-9.
41. Chiu HY, Chou KT, Su KC, Lin FC, Liu YY, Shiao TH i sur. Obstructive sleep apnea in young Asian adults with sleep-related complaints. *Sci Rep*. 2022;12:20582.
42. Udwadia ZF, Doshi AV, Lonkar SG, Singh CI. Prevalence of sleep-disordered breathing and sleep apnea in middle-aged urban Indian men. *Am J Respir Crit Care Med*. 2004;169:168-73.
43. Kassas P, Vavougiou GD, Hatzoglou C, Gourgoulis KI, Zarogiannis SG. Cross sectional study of the community self-reported risk of obstructive sleep apnoea (OSA) and awareness in Thessaly, Greece. *Clocks Sleep*. 2022;4:16-22.
44. Young T, Skatrud J, Peppard PE. Risk factors for obstructive sleep apnea in adults. *JAMA*. 2004;291:2013-6.
45. Yaggi HK, Strohl KP. Adult obstructive sleep apnea/hypopnea syndrome: definitions, risk factors, and pathogenesis. *Clin Chest Med*. 2010;31:179-86.
46. Chang CW, Chang CH, Chuang HY, Cheng HY, Lin CI, Chen HT i sur. What is the association between secondhand smoke (SHS) and possible obstructive sleep apnea: a meta-analysis. *Environ Health*. 2022;21:58.
47. Ehrmann DA. Metabolic dysfunction in pcos: Relationship to obstructive sleep apnea. *Steroids*. 2012;77:290-4.

48. Whittle AT, Marshall I, Mortimore IL, Wraith PK, Sellar RJ, Douglas NJ. Neck soft tissue and fat distribution: comparison between normal men and women by magnetic resonance imaging. *Thorax*. 1999;54:323-8.
49. Mohsenin V. Gender differences in the expression of sleep-disordered breathing: role of upper airway dimensions. *Chest*. 2001;120:1442-7.
50. Bixler EO, Vgontzas AN, Lin HM, Ten Have T, Rein J, Vela-Bueno A i sur. Prevalence of sleep-disordered breathing in women: effects of gender. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001;163:608-13.
51. Davies RJ, Ali NJ, Stradling JR. Neck circumference and other clinical features in the diagnosis of the obstructive sleep apnoea syndrome. *Thorax*. 1992;47:101-5.
52. Ancoli-Israel S, Klauber MR, Stepnowsky C, Estline E, Chinn A, Fell R. Sleep-disordered breathing in African-American elderly. *Am J Respir Crit Care Med*. 1995;152:1946-9.
53. Mukherjee S, Saxena R, Palmer LJ. The genetics of obstructive sleep apnoea. *Respirology*. 2018;23:18-27.
54. Bertuzzi F, Santagostini A, Pollis M, Meola F, Segù M. The interaction of craniofacial morphology and body mass index in obstructive sleep apnea. *Dent J (Basel)*. 2022;10:136.
55. Neelapu BC, Kharbanda OP, Sardana HK, Balachandran R, Sardana V, Kapoor P i sur. Craniofacial and upper airway morphology in adult obstructive sleep apnea patients: A systematic review and meta-analysis of cephalometric studies. *Sleep Med Rev*. 2017;31:79-90.
56. Yu PK, Stenerson M, Ishman SL, Shott SR, Raol N, Soose RJ i sur. Evaluation of upper airway stimulation for adolescents with Down syndrome and obstructive sleep apnea. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg*. 2022;148:522-8.
57. Daboul A, Krüger M, Ivanonvka T, Obst A, Ewert R, Stubbe B i sur. Do brachycephaly and nose size predict the severity of obstructive sleep apnea (OSA)? A sample-based geometric morphometric analysis of craniofacial variation in relation to OSA syndrome and the role of confounding factors. *J Sleep Res*. 2022:e13801.

58. Caron CJ, Pluijmers BI, Joosten KF, Mathijssen IM, van der Schroeff MP, Dunaway DJ i sur. Obstructive sleep apnoea in craniofacial microsomia: a systematic review. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2015;44:592-8.
59. Zhang L, Zhang X, Li YM, Xiang BY, Han T, Wang Y i sur. Association of craniofacial and upper airway morphology with cardiovascular risk in adults with OSA. *Nat Sci Sleep.* 2021;13:1689-700.
60. Cistulli PA. Craniofacial abnormalities in obstructive sleep apnoea: implications for treatment. *Respirology.* 1996;1:167-74.
61. Poets CF, Wiechers C, Koos B, Muzaffar AR, Gozal D. Pierre Robin and breathing: what to do and when? *Pediatr Pulmonol.* 2022;57:1887-96.
62. Lee JJ, Thottam PJ, Ford MD, Jabbour N. Characteristics of sleep apnea in infants with Pierre-Robin sequence: is there improvement with advancing age? *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2015;79:2059-67.
63. Lee CF, Lee CH, Hsueh WY, Lin MT, Kang KT. Prevalence of obstructive sleep apnea in children with Down syndrome: a meta-analysis. *J Clin Sleep Med.* 2018;14:867-75.
64. Militi A, Nucera R, Chirieleison G, Fiorillo L, Cervino G, Portelli M. Down syndrome children with obstructive sleep apnea. *Minerva Dent Oral Sci.* 2022;71:287-92.
65. Gessler N, Wohlmuth P, Anwar O, Debus ES, Eickholt C, Gunawardene MA i sur. Sleep apnea predicts cardiovascular death in patients with Marfan syndrome: a cohort study. *EPMA J.* 2022;13:451-60.
66. Mo L, He Q, Wang Y, Dong B, He J. High prevalence of obstructive sleep apnea in Marfan's syndrome. *Chin Med J (Engl).* 2014;127:3150-5.
67. Rybczynski M, Koschyk D, Karmeier A, Gessler N, Sheikhzadeh S, Bernhardt AM i sur. Frequency of sleep apnea in adults with the Marfan syndrome. *Am J Cardiol.* 2010;105:1836-41.
68. Ruehland WR, Rochford PD, O'Donoghue FJ, Pierce RJ, Singh P, Thornton AT. The new AASM criteria for scoring hypopneas: impact on the apnea hypopnea index. *Sleep.* 2009;32:150-7.

69. Nigro CA, Rhodius EE. Effect of the definition of hypopnea on apnea/hypopnea index. *Medicina (B Aires)*. 2003;63:119-24.
70. Gülbay B, Bulut B, Ayöz S, Acıcan T. Is it important to know the predominant respiratory event in AHI for the management of patients with OSA? *Tuberk Toraks*. 2022;70:187-96.
71. Benedetti D, Olcese U, Bruno S, Barsotti M, Maestri Tassoni M, Bonanni E i sur. Obstructive sleep apnoea syndrome screening through wrist-worn smartbands: a machine-learning approach. *Nat Sci Sleep*. 2022;14:941-56.
72. Watanabe T, Kumano-Go T, Suganuma N, Shigedo Y, Motonishi M, Honda H i sur. The relationship between esophageal pressure and apnea hypopnea index in obstructive sleep apnea-hypopnea syndrome. *Sleep Res Online*. 2000;3:169-72.
73. Redline S, Kapur VK, Sanders MH, Quan SF, Gottlieb DJ, Rapoport DM i sur. Effects of varying approaches for identifying respiratory disturbances on sleep apnea assessment. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000;161:369-74.
74. Ibrahim AS, Almohammed AA, Allangawi MH, A Sattar HA, Mobayed HS, Pannerselvam B i sur. Predictors of obstructive sleep apnea in snorers. *Ann Saudi Med*. 2007;27:421-6.
75. Goyal M, Johnson J. Obstructive sleep apnea diagnosis and management. *Mo Med*. 2017;114:120-4.
76. Medical Advisory Secretariat. Polysomnography in patients with obstructive sleep apnea: an evidence-based analysis. *Ont Health Technol Assess Ser*. 2006;6:1-38.
77. Rossi C, Templier L, Miguez M, De La Cruz J, Curto A, Albaladejo A i sur. Comparison of screening methods for obstructive sleep apnea in the context of dental clinics: a systematic review. *Cranio*. 2023;41:245-263.
78. Malhotra RK. Arousal-based scoring of obstructive hypopneas. *Curr Opin Pulm Med*. 2021;27:491-5.
79. Malhotra RK, Kirsch DB, Kristo DA, Olson EJ, Aurora RN, Carden KA i sur. Polysomnography for obstructive sleep apnea should include arousal-based scoring: an American Academy of sleep medicine position statement. *J Clin Sleep Med*. 2018;14:1245-7.

80. Varghese L, Rebekah G, N P, Oliver A, Kurien R. Oxygen desaturation index as alternative parameter in screening patients with severe obstructive sleep apnea. *Sleep Sci.* 2022;15:224-8.
81. Senaratna CV, Perret JL, Matheson MC, Lodge CJ, Lowe AJ, Cassim R i sur. Validity of the Berlin questionnaire in detecting obstructive sleep apnea: a systematic review and meta-analysis. *Sleep Med Rev.* 2017;36:116-24.
82. Chung F, Abdullah HR, Liao P. STOP-Bang questionnaire: a practical approach to screen for obstructive sleep apnea. *Chest.* 2016;149:631-8.
83. Nagappa M, Liao P, Wong J, Auckley D, Ramachandran SK, Memtsoudis S i sur. Validation of the STOP-Bang questionnaire as a screening tool for obstructive sleep apnea among different populations: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* 2015;10:e0143697.
84. Chiu HY, Chen PY, Chuang LP, Chen NH, Tu YK, Hsieh YJ i sur. Diagnostic accuracy of the Berlin questionnaire, STOP-BANG, STOP, and Epworth sleepiness scale in detecting obstructive sleep apnea: a bivariate meta-analysis. *Sleep Med Rev.* 2017;36:57-70.
85. Kuhlmann U, Bormann FG, Becker HF. Obstructive sleep apnoea: clinical signs, diagnosis and treatment. *Nephrol Dial Transplant.* 2009;24:8-14.
86. Bliwise DL, Nekich JC, Dement WC. Relative validity of self-reported snoring as a symptom of sleep apnea in a sleep clinic population. *Chest.* 1991;99:600-8.
87. Lee NR. Evaluation of the obstructive sleep apnea patient and management of snoring. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am.* 2009;21:377-87.
88. Romero E, Krakow B, Haynes P, Ulibarri V. Nocturia and snoring: predictive symptoms for obstructive sleep apnea. *Sleep Breath.* 2010;14:337-43.
89. McNicholas WT. Sleep-related breathing disorders. In: Bassetti C, Đogaš Z, Peigneux P, editors. *Sleep Medicine Textbook.* Regensburg: European sleep research society; 2014:215-21.
90. Chai-Coetzer CL, Antic NA, McEvoy RD. Ambulatory models of care for obstructive sleep apnoea: Diagnosis and management. *Respirology.* 2013;18:605-15.
91. Bailly S, Destors M, Grillet Y, Richard P, Stach B, Vivodtzev I i sur. Obstructive sleep apnea: a cluster analysis at time of diagnosis. *PLoS One.* 2016;11:e0157318.



92. Oh MS, Bliwise DL, Smith AL, Collop NA, Quyyumi AA, Dedhia RC. Obstructive sleep apnea, sleep symptoms, and their association with cardiovascular disease. *Laryngoscope*. 2020;130:1595-602.
93. Bock J, Covassin N, Somers V. Excessive daytime sleepiness: an emerging marker of cardiovascular risk. *Heart*. 2022;108:1761-6.
94. Desteghe L, Hendriks JML, McEvoy RD, Chai-Coetzer CL, Dendale P, Sanders P i sur. The why, when and how to test for obstructive sleep apnea in patients with atrial fibrillation. *Clin Res Cardiol*. 2018;107:617-31.
95. Ismail K, Roberts K, Manning P, Manley C, Hill NS. OSA and pulmonary hypertension: time for a new look. *Chest*. 2015;147:847-61.
96. Orrù G, Storari M, Scano A, Piras V, Taibi R, Viscuso D. Obstructive Sleep Apnea, oxidative stress, inflammation and endothelial dysfunction - an overview of predictive laboratory biomarkers. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2020;24:6939-48.
97. Božić J, Borovac JA, Galić T, Kurir Tičinović T, Šupe-Domić D, Đogaš Z. Adropin and inflammation biomarker levels in male patients with obstructive sleep apnea: a link with glucose metabolism and sleep parameters. *J Clin Sleep Med*. 2018;14:1109-18.
98. Li K, Zhuo Y, He Y, Lei F, He P, Lang Q i sur. T cell receptor repertoire as a novel indicator for identification and immune surveillance of patients with severe obstructive sleep apnea. *PeerJ*. 2023;11:e15009.
99. Said EA, Al-Abri MA, Al-Saidi I, Al-Balushi MS, Al-Busaidi JZ, Al-Reesi I i sur. Altered blood cytokines, CD4 T cells, NK and neutrophils in patients with obstructive sleep apnea. *Immunol Lett*. 2017;190:272-8.
100. Vicente E, Marin JM, Carrizo SJ, Osuna CS, González R, Marin-Oto M i sur. Upper airway and systemic inflammation in obstructive sleep apnoea. *Eur Respir J*. 2016;48:1108-17.
101. Migacz E, Olejarz W, Głuszko A, Bednarek-Rajewska K, Proczka R, Smith DF i sur. Elevation of CD40/CD40L inflammatory pathway molecules in carotid plaques from moderate-and-severe obstructive sleep apnea patients. *Diagnostics (Basel)*. 2021;11:935.

102. Gleeson M, McNicholas WT. Bidirectional relationships of comorbidity with obstructive sleep apnoea. *Eur Respir Rev.* 2022;31:210256.
103. Borel AL, Leblanc X, Alméras N, Tremblay A, Bergeron J, Poirier P i sur. Sleep apnoea attenuates the effects of a lifestyle intervention programme in men with visceral obesity. *Thorax.* 2012;67:735-41.
104. Reutrakul S, Mokhlesi B. Obstructive sleep apnea and diabetes: a state of the art review. *Chest.* 2017;15:1070-1086.
105. Gabrić K, Matetić A, Vilović M, Tičinović Kurir T, Rušić D, Galić T i sur. Health-related quality of life in type 2 diabetes mellitus patients with different risk for obstructive sleep apnea. *Patient Prefer Adherence.* 2018;12:765-73.
106. Huang T, Lin BM, Stampfer MJ, Tworoger SS, Hu FB, Redline S. A population-based study of the bidirectional association between obstructive sleep apnea and type 2 diabetes in three prospective U.S. cohorts. *Diabetes Care.* 2018;41:2111-9.
107. Li M, Hou WS, Zhang XW, Tang ZY. Obstructive sleep apnea and risk of stroke: a meta-analysis of prospective studies. *Int J Cardiol.* 2014;172:466-9.
108. Johnson KG, Johnson DC. Frequency of sleep apnea in stroke and TIA patients: a meta-analysis. *J Clin Sleep Med.* 2010;6:131-7.
109. Alexiev F, Brill AK, Ott SR, Duss S, Schmidt M, Bassetti CL. Sleep-disordered breathing and stroke: chicken or egg? *J Thorac Dis.* 2018;10:S4244-S52.
110. Bravata DM, Sico J, Vaz Fragoso CA, Miech EJ, Matthias MS, Lampert R i sur. Diagnosing and treating sleep apnea in patients with acute cerebrovascular disease. *J Am Heart Assoc.* 2018;7:e008841.
111. Brill AK, Horvath T, Seiler A, Camilo M, Haynes AG, Ott SR i sur. CPAP as treatment of sleep apnea after stroke: a meta-analysis of randomized trials. *Neurology.* 2018;90:e1222-e30.
112. Greenberg-Dotan S, Reuveni H, Tal A, Oksenberg A, Cohen A, Shaya FT i sur. Increased prevalence of obstructive lung disease in patients with obstructive sleep apnea. *Sleep Breath.* 2014;18:69-75.

113. Zhao YY, Blackwell T, Ensrud KE, Stone KL, Omachi TA, Redline S. Sleep apnea and obstructive airway disease in older men: outcomes of sleep disorders in older men study. *Sleep*. 2016;39:1343-51.
114. Ohayon MM. The effects of breathing-related sleep disorders on mood disturbances in the general population. *J Clin Psychiatry*. 2003;64:1195-200.
115. Peppard PE, Szklo-Coxe M, Hla KM, Young T. Longitudinal association of sleep-related breathing disorder and depression. *Arch Intern Med*. 2006;166:1709-15.
116. Colvonen PJ, Straus LD, Stepnowsky C, McCarthy MJ, Goldstein LA, Norman SB. Recent advancements in treating sleep disorders in co-occurring PTSD. *Curr Psychiatry Rep*. 2018;20:48.
117. Goldstein LA, Colvonen PJ, Sarmiento KF. Advancing treatment of comorbid PTSD and OSA. *J Clin Sleep Med*. 2017;13:843-4.
118. Andrade AG, Bubu OM, Varga AW, Osorio RS. The relationship between obstructive sleep apnea and Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*. 2018;64:S255-70.
119. Stansbury RC, Strollo PJ. Clinical manifestations of sleep apnea. *J Thorac Dis*. 2015;7:E298-310.
120. Wenner JB, Cheema R, Ayas NT. Clinical manifestations and consequences of obstructive sleep apnea. *J Cardiopulm Rehabil Prev*. 2009;29:76-83.
121. Yan X, Wang L, Liang C, Zhang H, Zhao Y, Zhang H i sur. Development and assessment of a risk prediction model for moderate-to-severe obstructive sleep apnea. *Front Neurosci*. 2022;16:936946.
122. Cao X, Gu Y, Fu J, Vu TQC, Zhang Q, Liu L i sur. Excessive daytime sleepiness with snoring or witnessed apnea is associated with handgrip strength: a population-based study. *QJM*. 2019;112:847-53.
123. Myers KA, Mrkobrada M, Simel DL. Does this patient have obstructive sleep apnea?: The rational clinical examination systematic review. *JAMA*. 2013;310:731-41.
124. Yu JL, Rosen I. Utility of the modified Mallampati grade and Friedman tongue position in the assessment of obstructive sleep apnea. *J Clin Sleep Med*. 2020;16:303-8.

125. Athayde RAB, Colonna LLI, Schorr F, Gebrim EMMS, Lorenzi-Filho G, Genta PR. Tongue size matters: revisiting the Mallampati classification system in patients with obstructive sleep apnea. *J Bras Pneumol.* 2023;49:e20220402.
126. Chung F, Yegneswaran B, Liao P, Chung SA, Vairavanathan S, Islam S i sur. STOP questionnaire: a tool to screen patients for obstructive sleep apnea. *Anesthesiology.* 2008;108:812-21.
127. Buysse DJ, Reynolds CF 3rd, Monk TH, Hoch CC, Yeager AL, Kupfer DJ. Quantification of subjective sleep quality in healthy elderly men and women using the Pittsburgh Sleep Quality Index (PSQI). *Sleep.* 1991;14:331-8.
128. Buysse DJ, Reynolds CF 3rd, Monk TH, Berman SR, Kupfer DJ. The Pittsburgh Sleep Quality Index: a new instrument for psychiatric practice and research. *Psychiatry Res.* 1989;28:193-213.
129. Lacasse Y, Godbout C, Sériès F. Independent validation of the Sleep Apnoea Quality of Life Index. *Thorax.* 2002;57:483-8.
130. Walker NA, Sunderram J, Zhang P, Lu SE, Scharf MT. Clinical utility of the Epworth sleepiness scale. *Sleep Breath.* 2020;24:1759-65.
131. Lok R, Zeitzer JM. Physiological correlates of the Epworth Sleepiness Scale reveal different dimensions of daytime sleepiness. *Sleep Adv.* 2021;2:zpab008.
132. Romano S, Lo Bue A, Salvaggio A, Oliveira LVF, Ferini-Strambi L, Insalaco G. SANReSP: a new Italian questionnaire to screen patients for obstructive sleep apnea. *PLoS One.* 2022;17:e0276217.
133. Namen AM, Forest D, Saha AK, Xiang KR, Younger K, Maurer S i sur. DOISNORE50: a perioperative sleep questionnaire predictive of obstructive sleep apnea and postoperative medical emergency team activation. A learning health system approach to sleep questionnaire development and screening. *J Clin Sleep Med.* 2022;18:1909-19.
134. Duarte RL, Magalhães-da-Silveira FJ, Oliveira-E-Sá TS, Silva JA, Mello FC, Gozal D. Obstructive sleep apnea screening with a 4-item instrument, named GOAL questionnaire:

development, validation and comparative study with no-apnea, STOP-Bang, and NoSAS. *Nat Sci Sleep*. 2020;12:57-67.

135. Xing Y, Zhang Z, Yin J, Liu Y, Shuai Z, Liu Z i sur. Utilization of the GOAL questionnaire as a standardized screening tool for obstructive sleep apnea. *Sci Rep*. 2023;13:5489.

136. Schiza SE, Bouloukaki I. Screening for obstructive sleep apnoea in professional drivers. *Breathe (Sheff)*. 2020;16:29364.

137. Baiardi S, Mondini S. Inside the clinical evaluation of sleepiness: subjective and objective tools. *Sleep Breath*. 2020;24:369-77.

138. Xie W, Chakrabarty S, Levine R, Johnson R, Talmage JB. Factors associated with obstructive sleep apnea among commercial motor vehicle drivers. *J Occup Environ Med*. 2011;53:169-73.

139. Gottlieb DJ, Punjabi NM. Diagnosis and management of obstructive sleep apnea: a review. *JAMA*. 2020;323:1389-400.

140. Kumagai H, Sawatari H, Hoshino T, Konishi N, Kiyohara Y, Kawaguchi K i sur. Effects of continuous positive airway pressure therapy on nocturnal blood pressure fluctuation patterns in patients with obstructive sleep apnea. *Int J Environ Res Public Health*. 2022;19:9906.

141. Kapoor M, Greenough G. Home sleep tests for obstructive sleep apnea (OSA). *J Am Board Fam Med*. 2015;28:504-9.

142. Andrade L, Paiva T. Ambulatory versus laboratory polysomnography in obstructive sleep apnea: comparative assessment of quality, clinical efficacy, treatment compliance, and quality of life. *J Clin Sleep Med*. 2018;14:1323-31.

143. Božić J, Galić T, Šupe-Domić D, Ivković N, Tičinović Kurir T, Valić Z i sur. Morning cortisol levels and glucose metabolism parameters in moderate and severe obstructive sleep apnea patients. *Endocrine*. 2016;53:730-9.

144. Gaspar LS, Santos-Carvalho A, Santos B, Carvalhas-Almeida C, Barros-Viegas AT, Oliveiros B i sur. Peripheral biomarkers to diagnose obstructive sleep apnea in adults: a systematic review and meta-analysis. *Sleep Med Rev*. 2022;64:101659.

145. Borovac JA, Đogaš Z, Šupe-Domić D, Galić T, Božić J. Catestatin serum levels are increased in male patients with obstructive sleep apnea. *Sleep Breath*. 2019;23:473-81.
146. Hu Y, Mai L, Luo J, Shi W, Xiang H, Song S i sur. Peripheral blood oxidative stress markers for obstructive sleep apnea-a meta-analysis. *Sleep Breath*. 2022;26:2045-57.
147. Fiedorczuk P, Polecka A, Walasek M, Olszewska E. Potential diagnostic and monitoring biomarkers of obstructive sleep apnea-umbrella review of meta-analyses. *J Clin Med*. 2022;12:60.
148. Meliante PG, Zoccali F, Cascone F, Di Stefano V, Greco A, de Vincentiis M i sur. Molecular pathology, oxidative stress, and biomarkers in obstructive sleep apnea. *Int J Mol Sci*. 2023;24:5478.
149. Imani MM, Sadeghi M, Farokhzadeh F, Khazaie H, Brand S, Dürsteler KM i sur. Evaluation of blood levels of C-reactive protein marker in obstructive sleep apnea: a systematic review, meta-analysis and meta-regression. *Life (Basel)*. 2021;11:362.
150. McNicholas WT, Pevernagie D. Obstructive sleep apnea: transition from pathophysiology to an integrative disease model. *J Sleep Res*. 2022;31:e13616.
151. Evans EC, Sulyman O, Froymovich O. The goals of treating obstructive sleep apnea. *Otolaryngol Clin North Am*. 2020;53:319-28.
152. Sánchez AI, Martínez P, Miró E, Bardwell WA, Buela-Casal G. CPAP and behavioral therapies in patients with obstructive sleep apnea: effects on daytime sleepiness, mood, and cognitive function. *Sleep Med Rev*. 2009;13:223-33.
153. Lee JJ, Sundar KM. Evaluation and management of adults with obstructive sleep apnea syndrome. *Lung*. 2021;199:87-101.
154. Dobrosielski DA, Papandreou C, Patil SP, Salas-Salvadó J. Diet and exercise in the management of obstructive sleep apnoea and cardiovascular disease risk. *Eur Respir Rev*. 2017;26:160110.
155. Hooper RG. CPAP therapeutic options for obstructive sleep apnea. *Pragmat Obs Res*. 2020;11:67-76.

156. Johnson KG. APAP, BPAP, CPAP, and new modes of positive airway pressure therapy. *Adv Exp Med Biol.* 2022;1384:297-330.
157. p S, D'Ambrosio C, Patel K, Obadan N, Kitsios GD, Chung M, Balk EM. Auto-titrating versus fixed continuous positive airway pressure for the treatment of obstructive sleep apnea: a systematic review with meta-analyses. *Syst Rev.* 2012;1:20.
158. Andrade RGS, Viana FM, Nascimento JA, Drager LF, Moffa A, Brunoni AR i sur. Nasal vs oronasal CPAP for OSA treatment: a meta-analysis. *Chest.* 2018;153:665-74.
159. Hong SO, Chen YF, Jung J, Kwon YD, Liu SYC. Hypoglossal nerve stimulation for treatment of obstructive sleep apnea (OSA): a primer for oral and maxillofacial surgeons. *Maxillofac Plast Reconstr Surg.* 2017;39:27.
160. Eastwood PR, Barnes M, Walsh JH, Maddison KJ, Hee G, Schwartz AR i sur. Treating obstructive sleep apnea with hypoglossal nerve stimulation. *Sleep.* 2011;34:1479-86.
161. Mashaqi S, Patel SI, Combs D, Estep L, Helmick S, Machamer J i sur. The hypoglossal nerve stimulation as a novel therapy for treating obstructive sleep apnea-a literature review. *Int J Environ Res Public Health.* 2021;18:1642.
162. Arens P, Hänsel T, Wang Y. Hypoglossal nerve stimulation therapy. *Adv Exp Med Biol.* 2022;1384:351-72.
163. Kompelli AR, Ni JS, Nguyen SA, Lentsch EJ, Neskey DM, Meyer TA. The outcomes of hypoglossal nerve stimulation in the management of OSA: a systematic review and meta-analysis. *World J Otorhinolaryngol Head Neck Surg.* 2018;5:41-8.
164. Carvalho B, Hsia J, Capasso R. Surgical therapy of obstructive sleep apnea: a review. *Neurotherapeutics.* 2012;9:710-6.
165. de Raaff CAL, de Vries N, van Wagenveld BA. Obstructive sleep apnea and bariatric surgical guidelines: summary and update. *Curr Opin Anaesthesiol.* 2018;31:104-9.
166. Ishii L, Roxbury C, Godoy A, Ishman S, Ishii M. Does nasal surgery improve OSA in patients with nasal obstruction and OSA? A meta-analysis. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2015;153:326-33.

167. Zaghi S, Holty JE, Certal V, Abdullatif J, Guilleminault C, Powell NB i sur. Maxillomandibular advancement for treatment of obstructive sleep apnea: a meta-analysis. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg.* 2016;142:58-66.
168. Camacho M, Certal V, Brietzke SE, Holty JE, Guilleminault C, Capasso R. Tracheostomy as treatment for adult obstructive sleep apnea: a systematic review and meta-analysis. *Laryngoscope.* 2014;124:803-11.
169. Lin HC, Friedman M. Transoral robotic OSA surgery. *Auris Nasus Larynx.* 2021;48:339-46.
170. Mohammadih AM, Sutherland K, Chan ASL, Cistulli PA. Mandibular advancement splint therapy. *Adv Exp Med Biol.* 2022;1384:373-85.
171. Chang ET, Fernandez-Salvador C, Giambo J, Nesbitt B, Liu SY, Capasso R i sur. Tongue retaining devices for obstructive sleep apnea: a systematic review and meta-analysis. *Am J Otolaryngol.* 2017;38:272-8.
172. Randerath W, Verbraecken J, de Raaff CAL, Hedner J, Herkenrath S, Hohenhorst W i sur. European respiratory society guideline on non-CPAP therapies for obstructive sleep apnoea. *Eur Respir Rev.* 2021;30:210200.
173. Ilea A, Timuș D, Höpken J, Andrei V, Băbțan AM, Petrescu NB i sur. Oral appliance therapy in obstructive sleep apnea and snoring - systematic review and new directions of development. *Cranio.* 2021;39:472-83.
174. Galić T, Božić J, Ivković N, Gunjača G, Tičinovic Kurir T, Đogaš Z. Effects of mandibular advancement device treatment on arterial stiffness and glucose metabolism in patients with mild to moderate obstructive sleep apnea: a prospective 1 year study. *Sleep Breath.* 2016;20:69-77.
175. Vaudry H, Do Rego JC, Le Mevel JC, Chatenet D, Tostivint H, Fournier A i sur. Urotensin II, from fish to human. *Ann N Y Acad Sci.* 2010;1200:53-66.
176. Bern HA, Takasugi N. The caudal neurosecretory system of fishes. *Gen Comp Endocrinol.* 1962;2:96-110.



177. Le Mével JC, Mimassi N, Lancien F, Mabin D, Conlon JM. Cardiovascular actions of the stress-related neurohormonal peptides, corticotropin-releasing factor and urotensin-I in the trout *Oncorhynchus mykiss*. *Gen Comp Endocrinol*. 2006;146:56-61.
178. Pittman QJ, Hollenberg MD. Urotensin I-CRF-Urocortins: a mermaid's tail. *Gen Comp Endocrinol*. 2009;164:7-14.
179. Lovejoy DA. Structural evolution of urotensin-I: reflections of life before corticotropin releasing factor. *Gen Comp Endocrinol*. 2009;164:15-9.
180. Suda T, Kageyama K, Sakihara S, Nigawara T. Physiological roles of urocortins, human homologues of fish urotensin I, and their receptors. *Peptides*. 2004;25:1689-701.
181. Maguire JJ, Davenport AP. Is urotensin-II the new endothelin? *Br J Pharmacol*. 2002;137:579-88.
182. Conlon JM. Liberation of urotensin II from the teleost urophysis: an historical overview. *Peptides*. 2008;29:651-7.
183. Conlon JM, O'Harte F, Smith DD, Balment RJ, Hazon N. Purification and characterization of urotensin II and parvalbumin from an elasmobranch fish, *Scyliorhinus canicula* (common dogfish). *Neuroendocrinology*. 1992;55:230-5.
184. Hazon N, Bjenning C, Conlon JM. Cardiovascular actions of dogfish urotensin II in the dogfish *Scyliorhinus canicula*. *Am J Physiol*. 1993;265:R573-6.
185. Grattarola F, Botto G, da Rosa I, Gobel N, González EM, González J i sur. Biodiversidata: an open-access biodiversity database for uruguay. *Biodivers Data J*. 2019;7:e36226.
186. Gibson A, Bern HA, Ginsburg M, Botting JH. Neuropeptide-induced contraction and relaxation of the mouse anococcygeus muscle. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1984;81:625-9.
187. Grieco P, Rovero P, Novellino E. Recent structure-activity studies of the peptide hormone urotensin-II, a potent vasoconstrictor. *Curr Med Chem*. 2004;11:969-79.
188. Yano K, Vaudry H, Conlon JM. Spasmogenic actions of frog urotensin II on the bladder and ileum of the frog, *Rana catesbeiana*. *Gen Comp Endocrinol*. 1994;96:412-9.

189. Coulouarn Y, Lihrmann I, Jegou S, Anouar Y, Tostivint H, Beauvillain JC i sur. Cloning of the cDNA encoding the urotensin II precursor in frog and human reveals intense expression of the urotensin II gene in motoneurons of the spinal cord. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998;95:15803-8.
190. Egginger JG, Camus A, Calas A. Urotensin-II expression in the mouse spinal cord. *J Chem Neuroanat*. 2006;31:146-54.
191. Cui L, Lv C, Zhang J, Li J, Wang Y. Characterization of four urotensin II receptors (UTS2Rs) in chickens. *Peptides*. 2021;138:170482.
192. Bell ZW, Lovell P, Mello CV, Yip PK, George JM, Clayton DF. Urotensin-related gene transcripts mark developmental emergence of the male forebrain vocal control system in songbirds. *Sci Rep*. 2019;9:816.
193. Mori M, Fujino M. Urotensin II-related peptide, the endogenous ligand for the urotensin II receptor in the rat brain. *Peptides*. 2004;25:1815-8.
194. Elshourbagy NA, Douglas SA, Shabon U, Harrison S, Duddy G, Sechler JL i sur. Molecular and pharmacological characterizaation of genes encoding urotensin-II peptides and their cognate G-protein-coupled receptors from the mouse and monkey. *Br J Pharmacol*. 2002;136:9-22.
195. Ames RS, Sarau HM, Chambers JK, Willette RN, Aiyar NV, Romanic AM i sur. Human urotensin-II is a potent vasoconstrictor and agonist for the orphan receptor GPR14. *Nature*. 1999;401:282-6.
196. Liu Q, Pong SS, Zeng Z, Zhang Q, Howard AD, Williams DL Jr i sur. Identification of urotensin II as the endogenous ligand for the orphan G-protein-coupled receptor GPR14. *Biochem Biophys Res Commun*. 1999;266:174-8.
197. Mori M, Sugo T, Abe M, Shimomura Y, Kurihara M, Kitada C i sur. Urotensin II is the endogenous ligand of a G-protein-coupled orphan receptor, SENR (GPR14). *Biochem Biophys Res Commun*. 1999;265:123-9.
198. Nothacker HP, Wang Z, McNeill AM, Saito Y, Merten S, O'Dowd B i sur. Identification of the natural ligand of an orphan G-protein-coupled receptor involved in the regulation of vasoconstriction. *Nat Cell Biol*. 1999;1:383-5.

199. Vizurraga A, Adhikari R, Yeung J, Yu M, Tall GG. Mechanisms of adhesion G protein-coupled receptor activation. *J Biol Chem.* 2020;295:14065-83.
200. Tostivint H, Joly L, Lihrmann I, Parmentier C, Lebon A, Morisson M i sur. Comparative genomics provides evidence for close evolutionary relationships between the urotensin II and somatostatin gene families. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006;103:2237-42.
201. Tostivint H, Ocampo Daza D, Bergqvist CA, Quan FB, Bougerol M, Lihrmann I i sur. Molecular evolution of GPCRs: somatostatin/urotensin II receptors. *J Mol Endocrinol.* 2014;52:T61-86.
202. Konno N. Urotensin II. In: Takei Y, Ando H, Tsutsui K, editors. *Handbook of Hormones.* Elsevier Science: The Japan Society for Comparative Endocrinology; 2016:88-90.
203. Douglas SA, Ohlstein EH. Human urotensin-II, the most potent mammalian vasoconstrictor identified to date, as a therapeutic target for the management of cardiovascular disease. *Trends Cardiovasc Med.* 2000;10:229-37.
204. Maguire JJ, Kuc RE, Kleinz MJ, Davenport AP. Immunocytochemical localization of the urotensin-II receptor, UT, to rat and human tissues: relevance to function. *Peptides.* 2008;29:735-42.
205. Sugo T, Murakami Y, Shimomura Y, Harada M, Abe M, Ishibashi Y i sur. Identification of urotensin II-related peptide as the urotensin II-immunoreactive molecule in the rat brain. *Biochem Biophys Res Commun.* 2003;310:860-8.
206. Takahashi K, Hirose T, Mori N, Morimoto R, Kohzuki M, Imai Y i sur. The renin-angiotensin system, adrenomedullins and urotensin II in the kidney: possible renoprotection via the kidney peptide systems. *Peptides.* 2009;30:1575-85.
207. Leprince J, Chatenet D, Dubessy C, Fournier A, Pfeiffer B, Scalbert E i sur. Structure-activity relationships of urotensin II and URP. *Peptides.* 2008;29:658-73.
208. Malagon MM, Molina M, Gahete MD, Duran-Prado M, Martinez-Fuentes AJ, Alcain FJ i sur. Urotensin II and urotensin II-related peptide activate somatostatin receptor subtypes 2 and 5. *Peptides.* 2008;29:711-20.

209. Camarda V, Rizzi A, Calò G, Gendron G, Perron SI, Kostenis E i sur. Effects of human urotensin II in isolated vessels of various species; comparison with other vasoactive agents. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 2002;365:141-9.
210. Gibson A. Complex effects of Gillichthys urotensin II on rat aortic strips. *Br J Pharmacol.* 1987;91:205-12.
211. Itoh H, Itoh Y, Rivier J, Lederis K. Contraction of major artery segments of rat by fish neuropeptide urotensin II. *Am J Physiol.* 1987;252:R361-6.
212. Katano Y, Ishihata A, Aita T, Ogaki T, Horie T. Vasodilator effect of urotensin II, one of the most potent vasoconstricting factors, on rat coronary arteries. *Eur J Pharmacol.* 2000;402:R5-7.
213. Zhu YZ, Wang ZJ, Zhu YC, Zhang L, Oakley RM, Chung CW i sur. Urotensin II causes fatal circulatory collapse in anesthetized monkeys in vivo: a "vasoconstrictor" with a unique hemodynamic profile. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2004;286:H830-6.
214. Behm DJ, Doe CP, Johns DG, Maniscalco K, Stankus GP, Wibberley A i sur. Urotensin-II: a novel systemic hypertensive factor in the cat. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 2004;369:274-80.
215. Böhm F, Pernow J. Urotensin II evokes potent vasoconstriction in humans in vivo. *Br J Pharmacol.* 2002;135:25-7.
216. Affolter JT, Newby DE, Wilkinson IB, Winter MJ, Balment RJ, Webb DJ. No effect on central or peripheral blood pressure of systemic urotensin II infusion in humans. *Br J Clin Pharmacol.* 2002;54:617-21.
217. Matsushita M, Shichiri M, Imai T, Iwashina M, Tanaka H, Takasu N i sur. Co-expression of urotensin II and its receptor (GPR14) in human cardiovascular and renal tissues. *J Hypertens.* 2001;19:2185-90.
218. Shenouda A, Douglas SA, Ohlstein EH, Giaid A. Localization of urotensin-II immunoreactivity in normal human kidneys and renal carcinoma. *J Histochem Cytochem.* 2002;50:885-9.

219. Zhang AY, Chen YF, Zhang DX, Yi FX, Qi J, Andrade-Gordon P i sur. Urotensin II is a nitric oxide-dependent vasodilator and natriuretic peptide in the rat kidney. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2003;285:F792-8.
220. Langham RG, Kelly DJ. Urotensin II and the kidney. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2013;22:107-12.
221. Dai HY, Ge ZM, Li YH. Effect of urotensin II on proliferative potential and phosphorylation of extracellular signal-regulated kinase 1/2 of adventitial fibroblasts from spontaneously hypertensive rat. *Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao.* 2006;28:776-80.
222. Brailoiu E, Brailoiu GC, Miyamoto MD, Dun NJ. The vasoactive peptide urotensin II stimulates spontaneous release from frog motor nerve terminals. *Br J Pharmacol.* 2003;138:1580-8.
223. Gartlon J, Parker F, Harrison DC, Douglas SA, Ashmeade TE, Riley GJ i sur. Central effects of urotensin-II following ICV administration in rats. *Psychopharmacology (Berl).* 2001;155:426-33.
224. Lu Y, Zou CJ, Huang DW, Tang CS. Cardiovascular effects of urotensin II in different brain areas. *Peptides.* 2002;23:1631-5.
225. Watson AM, Lambert GW, Smith KJ, May CN. Urotensin II acts centrally to increase epinephrine and ACTH release and cause potent inotropic and chronotropic actions. *Hypertension.* 2003;42:373-9.
226. Filipeanu CM, Brailoiu E, Le Dun S, Dun NJ. Urotensin-II regulates intracellular calcium in dissociated rat spinal cord neurons. *J Neurochem.* 2002;83:879-84.
227. do Rego JC, Leprince J, Scalbert E, Vaudry H, Costentin J. Behavioral actions of urotensin-II. *Peptides.* 2008;29:838-44.
228. Huitron-Resendiz S, Kristensen MP, Sánchez-Alavez M, Clark SD, Grupke SL, Tyler C i sur. Urotensin II modulates rapid eye movement sleep through activation of brainstem cholinergic neurons. *J Neurosci.* 2005;25:5465-74.

229. Lu Y, Zou CJ, Huang DW, Tang CS. Cardiovascular effects of urotensin II in different brain areas. *Peptides*. 2002;23:1631-5.
230. Ong KL, Lam KS, Cheung BM. Urotensin II: its function in health and its role in disease. *Cardiovasc Drugs Ther*. 2005;19:65-75.
231. Pang XX, Bai Q, Wu F, Chen GJ, Zhang AH, Tang CS. Urotensin II Induces ER stress and EMT and increase extracellular matrix production in renal tubular epithelial cell in early diabetic mice. *Kidney Blood Press Res*. 2016;41:434-49.
232. Tabur S, Korkmaz H, Eren MA, Oğuz E, Sabuncu T, Aksoy N. Urotensin-II level and its association with oxidative stress in early diabetic nephropathy. *J Diabetes Complications*. 2015;29:115-9.
233. Sáez ME, Smani T, Ramírez-Lorca R, Díaz I, Serrano-Ríos M, Ruiz A i sur. Association analysis of urotensin II gene (UTS2) and flanking regions with biochemical parameters related to insulin resistance. *PLoS One*. 2011;6:e19327.
234. Zhao Y, Fang S, Que K, Xu G, Zhang H, Qi C i sur. Urotensin-II gene rs228648 polymorphism associated with the risk of diabetes mellitus. *Biosci Rep*. 2018;38:BSR20181275.
235. Calan M, Arkan T, Kume T, Bayraktar F. The relationship between urotensin II and insulin resistance in women with gestational diabetes mellitus. *Hormones*. 2019;18:91-97.
236. Albanese I, Daskalopoulou SS, Yu B, You Z, Genest J, Alsheikh-Ali A i sur. The urotensin II system and carotid atherosclerosis: a role in vascular calcification. *Front Pharmacol*. 2016;7:149.
237. Yu Q, Wei P, Xu L, Xia C, Li Y, Liu H i sur. Urotensin II Enhances Advanced Aortic Atherosclerosis Formation and Delays Plaque Regression in Hyperlipidemic Rabbits. *Int J Mol Sci*. 2023;24:3819.
238. Zhang X, Ye Y, Yang C, Gong H, Li Y, Zhang G i sur. Clinical significance of increased urotensin II levels in acute myocardial infarction. *Discov Med*. 2018;26:7-20.
239. Babińska M, Holecki M, Prochaczek F, Owczarek A, Kokocińska D, Chudek J i sur. Is plasma urotensin II concentration an indicator of myocardial damage in patients with acute coronary syndrome? *Arch Med Sci*. 2012;8:449-54.

240. Oh KS, Lee JH, Yi KY, Lim CJ, Lee S, Park CH i sur. The orally active urotensin receptor antagonist, KR36676, attenuates cellular and cardiac hypertrophy. *Br J Pharmacol.* 2015;172:2618-33.
241. Lee JH, Park BK, Oh KS, Yi KY, Lim CJ, Seo HW i sur. A urotensin II receptor antagonist, KR36676, decreases vascular remodeling and inflammation in experimental pulmonary hypertension. *Int Immunopharmacol.* 2016;40:196-202.
242. Rex DAB, Suchitha GP, Palollathil A, Kanichery A, Prasad TSK, Dagamajalu S. The network map of urotensin-II mediated signaling pathway in physiological and pathological conditions. *J Cell Commun Signal.* 2022;16:601-608.
243. Ross B, McKendy K, Giaid A. Role of urotensin II in health and disease. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2010;298:R1156-72.
244. Ong KL, Wong LY, Cheung BM. The role of urotensin II in the metabolic syndrome. *Peptides.* 2008;29:859-67.
245. Kumrić M, Dujčić G, Vrdoljak J, Šupe-Domić D, Bilopavlović N, Dolić K i sur. Effects of CBD supplementation on ambulatory blood pressure and serum urotensin-II concentrations in Caucasian patients with essential hypertension: A sub-analysis of the HYPER-H21-4 trial. *Biomed Pharmacother.* 2023;164:115016.
246. Dopp JM, Reichmuth KJ, Morgan BJ. Obstructive sleep apnea and hypertension: mechanisms, evaluation, and management. *Curr Hypertens Rep.* 2007;9:529-34.
247. Sanford SD, Lichstein KL, Durrence HH, Riedel BW, Taylor DJ, Bush AJ. The influence of age, gender, ethnicity, and insomnia on Epworth sleepiness scores: a normative US population. *Sleep Med.* 2006;7:319-26.
248. Pecotic R, Dodig IP, Valic M, Ivkovic N, Dogas Z. The evaluation of the Croatian version of the Epworth sleepiness scale and STOP questionnaire as screening tools for obstructive sleep apnea syndrome. *Sleep Breath.* 2012;16:793-802.
249. Shahar E. Apnea-hypopnea index: time to wake up. *Nat Sci Sleep.* 2014;6:51-6.

250. Totsune K, Takahashi K, Arihara Z, Sone M, Ito S, Murakami O. Increased plasma urotensin II levels in patients with diabetes mellitus. *Clin Sci (Lond)*. 2003;104:1-5.
251. Heller J, Schepke M, Neef M, Woitas R, Rabe C, Sauerbruch T. Increased urotensin II plasma levels in patients with cirrhosis and portal hypertension. *J Hepatol*. 2002;37:767-72.
252. Garoufi A, Drapanioti S, Marmarinos A, Askiti V, Mitsioni AJ, Mila M i sur. Plasma Urotensin II levels in children and adolescents with chronic kidney disease: a single-centre study. *BMC Nephrol*. 2017;18:113.
253. Russell FD, Meyers D, Galbraith AJ, Bett N, Toth I, Kearns P i sur. Elevated plasma levels of human urotensin-II immunoreactivity in congestive heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2003;285:H1576-81.
254. Ban Y, Watanabe T, Suguro T, Matsuyama TA, Iso Y, Sakai T i sur. Increased plasma urotensin-II and carotid atherosclerosis are associated with vascular dementia. *J Atheroscler Thromb*. 2009;16:179-87.
255. Aiyar N, Guida B, Ao Z, Disa J, Naselsky D, Behm DJ i sur. Differential levels of "urotensin-II-like" activity determined by radio-receptor and radioimmuno-assays. *Peptides*. 2004;25:1339-47.
256. McDonald J, Batuwangala M, Lambert DG. Role of urotensin II and its receptor in health and disease. *J Anesth*. 2007;21:378-89.
257. Svistunov AA, Tarasov VV, Shakhmardanova SA, Sologova SS, Bagaturiya ET, Chubarev VN i sur. Urotensin II: molecular mechanisms of biological activity. *Curr Protein Pept Sci*. 2018;19:924-34.
258. Behm DJ, Harrison SM, Ao Z, Maniscalco K, Pickering SJ, Grau EV i sur. Deletion of the UT receptor gene results in the selective loss of urotensin-II contractile activity in aortae isolated from UT receptor knockout mice. *Br J Pharmacol*. 2003;139:464-72.
259. Freeman BD, Machado FS, Tanowitz HB, Desruisseaux MS. Endothelin-1 and its role in the pathogenesis of infectious diseases. *Life Sci*. 2014;118:110-9.



260. Chiu CZ, Wang BW, Shyu KG. Angiotensin II and the JNK pathway mediate urotensin II expression in response to hypoxia in rat cardiomyocytes. *J Endocrinol.* 2014;220:233-46.
261. Inamoto S, Hayashi T, Tazawa N, Mori T, Yamashita C, Nakano D i sur. Angiotensin-II receptor blocker exerts cardioprotection in diabetic rats exposed to hypoxia. *Circ J.* 2006;70:787-92.
262. Shyu KG, Wang BW, Chen WJ, Kuan P, Lin CM. Angiotensin II mediates urotensin II expression by hypoxia in cultured cardiac fibroblast. *Eur J Clin Invest.* 2012;42:17-26.
263. Prabhakar NR, Peng YJ, Nanduri J. Hypoxia-inducible factors and obstructive sleep apnea. *J Clin Invest.* 2020;130:5042-51.
264. Brown J, Yazdi F, Jodari-Karimi M, Owen JG, Reisin E. Obstructive Sleep Apnea and Hypertension: Updates to a Critical Relationship. *Curr Hypertens Rep.* 2022 Jun;24(6):173-184.
265. Logan AG, Perlikowski SM, Mente A, Tisler A, Tkacova R, Niroumand M i sur. High prevalence of unrecognized sleep apnoea in drug-resistant hypertension. *J Hypertens.* 2001;19:2271-7.
266. Peppard PE, Young T, Palta M, Skatrud J. Prospective study of the association between sleep-disordered breathing and hypertension. *N Engl J Med.* 2000;342:1378-84.
267. Dong JY, Zhang YH, Qin LQ. Obstructive sleep apnea and cardiovascular risk: meta-analysis of prospective cohort studies. *Atherosclerosis.* 2013;229:489-95.
268. Salman LA, Shulman R, Cohen JB. Obstructive sleep apnea, hypertension, and cardiovascular risk: epidemiology, pathophysiology, and management. *Curr Cardiol Rep.* 2020;22:6.
269. Avagimyan A, Kajaia A, Gabunia L, Ghambashidze K, Sulashvili N, Ratiani L i sur. Urotensin-II as a promising key-point of cardiovascular disturbances sequel. *Curr Probl Cardiol.* 2022;47:101074.
270. Alicic D, Martinovic D, Rusic D, Zivkovic PM, Tadin Hadjina I, Vilovic M i sur. Urotensin II levels in patients with inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol.* 2021;27:6142-53.
271. Debiec R, Christofidou P, Denniff M, Bloomer LD, Bogdanski P, Wojnar L i sur. Urotensin-II system in genetic control of blood pressure and renal function. *PLoS One.* 2013;8:e83137.

272. Kheirandish-Gozal L, Gozal D. Obstructive sleep apnea and inflammation: proof of concept based on two illustrative cytokines. *Int J Mol Sci.* 2019;20:459.
273. Unnikrishnan D, Jun J, Polotsky V. Inflammation in sleep apnea: an update. *Rev Endocr Metab Disord.* 2015;16:25-34.
274. Nadeem R, Molnar J, Madbouly EM, Nida M, Aggarwal S, Sajid H i sur. Serum inflammatory markers in obstructive sleep apnea: a meta-analysis. *J Clin Sleep Med.* 2013;9:1003-12.
275. Taheri S, Austin D, Lin L, Nieto FJ, Young T, Mignot E. Correlates of serum C-reactive protein (CRP) - no association with sleep duration or sleep disordered breathing. *Sleep.* 2007;30:991-6.
276. Testelmans D, Tamisier R, Barone-Rochette G, Baguet JP, Roux-Lombard P, Pépin JL i sur. Profile of circulating cytokines: impact of OSA, obesity and acute cardiovascular events. *Cytokine.* 2013;62:210-6.
277. Guler EM, Gokce M, Bacaksiz A, Kocyigit A. Urotensin-II, oxidative stress, and inflammation increase in hypertensive and resistant hypertensive patients. *Clin Exp Hypertens.* 2021;43:211-16.
278. Li K, Wei P, Qin Y, Wei Y. Is C-reactive protein a marker of obstructive sleep apnea?: A meta-analysis. *Medicine (Baltimore).* 2017;96:e6850.
279. Castell JV, Gómez-Lechón MJ, David M, Fabra R, Trullenque R, Heinrich PC. Acute-phase response of human hepatocytes: regulation of acute-phase protein synthesis by interleukin-6. *Hepatology.* 1990;12:1179-86.
280. Bouloukaki I, Mermigkis C, Kallergis EM, Moniaki V, Mauroudi E, Schiza SE. Obstructive sleep apnea syndrome and cardiovascular disease: The influence of C-reactive protein. *World J Exp Med.* 2015;5:77-83.
281. Lui MM, Lam JC, Mak HK, Xu A, Ooi C, Lam DC i sur. C-reactive protein is associated with obstructive sleep apnea independent of visceral obesity. *Chest.* 2009;135:950-6.
282. Watanabe T, Kanome T, Miyazaki A, Katagiri T. Human urotensin II as a link between hypertension and coronary artery disease. *Hypertens Res.* 2006;29:375-87.

283. Simunovic M, Jukic A, Paradzik M, Supe-Domic D, Stanisic L, Degoricija M i sur. The role of urotensin-II in obesity and metabolic syndrome in pediatric population. *Children (Basel)*. 2022;9:204.

## **8. SAŽETAK**

**Uvod:** U razvoj OSA-e uključeni su, osim anatomskih varijabli i statičko-dinamički patofiziološki čimbenici zbog kojih dolazi do repetitivne opstrukcije disanja tijekom noći koja rezultira hipoksijom i fagmentacijama spavanja. U probiru i dijagnostici OSA-e primjenjuju se brojni upitnici, od kojih su najčešće upotrebljavani STOP-Bang upitnik i Epworthova ljestvica pospanosti, međutim, standardni dijagnostički test za OSA je cjelonoćna polisomnografija (PSG) tijekom koje se prate parametri spavanja i disanja. AHI, tj. broj apneja i hipopneja po satu spavanja, mjerenih PSG-om, ključni je dijagnostički pokazatelj OSA-e. Međutim, uzimajući u obzir da i povremene desaturacije igraju značajnu ulogu u razvoju komplikacija vezanih uz OSA-u, indeks desaturacije kisika ODI je također relevantni pokazatelj stupnja OSA-e. Kao posljedica OSA-e događaju se brojni akutni i kronični štetni učinci na organizam. Kliničke manifestacije poremećaja spavanja su brojne, a u suvremenoj medicini predstavljaju jedan od značajnih javno-zdravstvenih problema kojemu se sve više pridaje snažni značaj u istraživanju kompleksne patofiziologije, ali i liječenja. Urotenzin II jedan je od najpotentnijih vazokonstriktora koji je inicijalno izoliran iz riblje urofize, međutim, daljnja istraživanja su pokazala i njegovu ekspresiju u čovjeka. UII je polipeptid s višestrukim fiziološkim i patofiziološkim učincima u brojnim organskim sustavima, međutim, svoje najznačajnije učinke ima u kardiovaskularnom, bubrežnom i živčanom sustavu. Cikućirajući UII u ljudskoj plazmi povišen je u brojnim psihosomatskim oboljenjima, osobito uključujući ona usko povezana s OSA-om. Glavni cilj ovog istraživanja bio je ispitati serumske koncentracije UII u OSA pacijenata te ih usporediti s kontrolnom skupinom, a sporedni ciljevi istraživanja bili su ispitati povezanost serumske koncentracije UII i stupnja težine OSA-e te ispitati povezanost serumske koncentracije UII s kliničkim, laboratorijskim i antropometrijskim značajkama ispitanika.

**Ispitanici i postupci:** Ovo presječno istraživanje provedeno je u Centru za medicinu spavanja KBC Split i Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu, u razdoblju od travnja 2018. do travnja 2020. godine. Istraživanje je uključilo 89 ispitanika s novodijagnosticiranom OSA-om, te 89 zdravih ispitanika u kontrolnoj skupini. Ispitanicima s novodijagnosticiranom OSA-om ista je dokazana PSG-om, a na kontrolnoj skupini su primijenjeni isti kriteriji isključivanja kao i kod OSA skupine, s tim da su na kontrolnu skupinu primijenjene i metode probira na OSA-u (STOP-Bang upitnik i Epworthova ljestvica pospanosti). Objema skupinama uzeti su anamnestički podatci, urađena antropometrijska mjerenja i klinički pregled. I OSA skupini i kontrolnoj skupini uzorkovana je krv za laboratorijske pretrage 7-14 dana nakon inicijalnog pregleda. Razine UII u

serumu su procijenjene korištenjem kita za enzimski imunotest za ljudski UII sukladno uputama proizvođača. Lateks turbidimetrijska metoda je korištena za određivanje razine hsCRP-a. Svi ostali parametri su određeni prema standardnoj laboratorijskoj praksi.

**Rezultati:** Dokazana je značajna statistička razlika u razinama hsCRP-a, gdje je OSA skupina imala višu razinu hsCRP-a u odnosu na kontrolnu skupinu ( $P < 0,001$ ). Uočena je statistički značajna razlika u razina serumskog UII, pri čemu je OSA skupina imala višu razinu urotenzina II u serumu u usporedbi s kontrolnom skupinom ( $P < 0,001$ ). Razine UII u serumu pokazale su značajnu, ali slabu pozitivnu korelaciju s indeksom tjelesne mase ( $P = 0,019$ ). Također je uočena umjerena pozitivna korelacija UII s hsCRP-om ( $P < 0,001$ ), sistoličkim krvnim tlakom ( $P < 0,001$ ), te dijastoličkim krvnim tlakom ( $P < 0,001$ ). U OSA skupini razine UII u serumu imale su značajnu umjerenu pozitivnu korelaciju s razinama hsCRP-a ( $P < 0,001$ ). Pronađena je umjerena pozitivna korelacija serumskog UII s indeksom ODI ( $P < 0,001$ ) te umjerena pozitivna korelacija serumskog UII i AHI ( $P < 0,001$ ). Model višestruke linearne regresije je pokazao da su sistolički krvi tlak ( $P < 0,001$ ), hsCRP ( $P < 0,001$ ) te AHI ( $P = 0,013$ ) pozitivni prediktori razine UII u serumu.

**Zaključak:** Utvrđeno je da su razine UII u serumu značajno više u bolesnika s OSA-om u usporedbi sa zdravim ispitanicima iz kontrole skupine. Nađena je značajna pozitivna korelacija sa sistoličkim i dijastoličkim krvnim tlakom, hsCRP-om te s indeksima AHI i ODI. Postoji statistički značajna razlika u razini UII i tercila indeksa AHI i ODI, pri čemu je razina urotenzina II veća pri većoj tercili indeksa AHI i ODI. Obzirom da su koncentracije UII u serumu bile povezane s krvnim tlakom, ali i indeksima upale i težinom OSA-e, možemo zaključiti da bi urotenzin II mogao igrati važnu ulogu u složenoj patofiziologiji OSA-e. Potrebna su veća longitudinalna istraživanja za daljnju razradu ove teme.

## **9. SUMMARY**

**Introduction:** In addition to anatomical variables, the development of OSA includes static-dynamic pathophysiological factors that cause repetitive obstruction of breathing during the night, resulting in hypoxia and sleep fragmentation. Numerous questionnaires are used in the screening and diagnosis of OSA and the most commonly used are the STOP-Bang questionnaire and the Epworth sleepiness scale. However, the standard diagnostic test for OSA is the all-night polysomnography (PSG), during which sleep and breathing parameters are monitored. AHI, i.e. the number of apneas and hypopneas per hour of sleep, measured by PSG, is a key diagnostic indicator of OSA. However, intermittent desaturations also play a significant role in the development of OSA-related complications, so the oxygen desaturation index ODI is also a relevant indicator of the degree of OSA. As a result of OSA, numerous acute and chronic harmful effects on the body occur. The clinical manifestations of sleep disorders are numerous, and in modern medicine they represent one of the significant public health problems, which is increasingly given strong importance in the research of complex pathophysiology, as well as treatment. Urotensin II is one of the most potent vasoconstrictors that was initially isolated from the fish urophysis. However, further research has shown its expression in humans. UII is a polypeptide with multiple physiological and pathophysiological effects in numerous organ systems, however, it has its most significant effects in the cardiovascular, renal and nervous systems. Circulating UII in human plasma is elevated in a number of psychosomatic diseases, particularly including those closely related to OSA. The main goal of this study was to examine the serum concentration of UII in OSA patients and compare them with the control group. The secondary goals of the study were to examine the relationship between the serum concentration of UII and the severity of OSA and to examine the relationship between the serum concentration of UII and clinical, laboratory and anthropometric characteristics of the subjects.

**Subjects and procedures:** This cross-sectional study was conducted at the Center for Sleep Medicine of University hospital Split and the University of Split Faculty of Medicine in the period from April 2018 to April 2020. The study included 89 subjects with newly diagnosed OSA, and 89 healthy subjects in the control group. In OSA group newly diagnosed OSA was confirmed with PSG. The same exclusion criteria as in the OSA group were applied to the control group, with the exception that the OSA screening methods were also applied to the control group (STOP-Bang questionnaire and Epworth sleepiness scale). Anamnestic data, anthropometric measurements and a clinical examination were taken for both groups. Both the OSA group and the control group



had their blood sampled for laboratory tests 7-14 days after the initial examination. Serum UII levels were assessed using an enzyme-linked immunosorbent assay kit for human UII according to the manufacturer's instructions. The latex turbidimetric method was used to determine the level of hsCRP. All other parameters were determined according to standard laboratory practice.

**Results:** A significant statistical difference in hsCRP levels was demonstrated, where the OSA group had a higher level of hsCRP compared to the control group ( $P < 0.001$ ). A statistically significant difference in the level of serum UII was observed, whereby the OSA group had a higher level of urotensin II in the serum compared to the control group ( $P < 0.001$ ). Serum UII levels showed a significant but weak positive correlation with body mass index ( $P = 0.019$ ). A moderate positive correlation of UII with hsCRP ( $P < 0.001$ ), systolic blood pressure ( $P < 0.001$ ), and diastolic blood pressure ( $P < 0.001$ ) was also observed. In the OSA group, UII levels in serum had a significant moderate positive correlation with hsCRP levels ( $P < 0.001$ ). A moderate positive correlation of serum UII with the ODI index ( $P < 0.001$ ) and a moderate positive correlation of serum UII and AHI ( $P < 0.001$ ) were found. The multiple linear regression model showed that systolic blood pressure ( $P < 0.001$ ), hsCRP ( $P < 0.001$ ) and AHI ( $P = 0.013$ ) are positive predictors of UII level in serum.

**Conclusion:** Serum UII levels were found to be significantly higher in patients with OSA compared to healthy control subjects. A significant positive correlation was found with systolic and diastolic blood pressure, hsCRP, and with the AHI and ODI indices. There is a statistically significant difference in the level of UII and the terciles of the AHI and ODI indices, whereby the level of urotensin II is higher at the higher terciles of the AHI and ODI indices. Given that UII concentrations in serum were related to blood pressure, but also to inflammation indices and OSA severity, we can conclude that urotensin II could play an important role in the complex pathophysiology of OSA. Larger longitudinal studies are needed to further elaborate this topic.

## **10. ŽIVOTOPIS**

**Osobni podatci:**

Ime i prezime: Ante Mihovilović

Adresa: Stjepana Radića 8, 21 210 Solin

Mjesto rođenja: Split, Republika Hrvatska

Datum rođenja: 28. srpnja 1987.

Državljanstvo: hrvatsko

Mobitel/telefon: +385 95 552 77 10; +385 21 556 498

Elektronička pošta: ante.mihovilovic@yahoo.com ; amihovilovic@kbsplit.hr

**Obrazovanje:**

1994. – 2002. Osnovna škola „Don Lovre Katić“ – Solin,

2002. – 2006. Nadbiskupijska klasična gimnazija s pravom javnosti „Don Frane Bulić“ – Split,

2006. – 2012. Sveučilište u Splitu, Medicinski fakultet, smjer Doktor medicine – Split,

2011. – Zaštita intelektualnog vlasništva, WIPO – World intellectualy property organization,

2015. – 2019. Sveučilište u Splitu, Medicinski fakultet, poslijediplomski doktorski studij „Translacijska istraživanja u biomedicini“,

2015. – 2021. Specijalističko usavršavanje iz maksilofacijalne kirurgije, Split, Zagreb,

2017. – 2018. Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet, poslijediplomski specijalistički studij „Maksilofacijalna kirurgija“,

2022. – Subspecijalističko usavršavanje iz plastične kirurgije glave i vrata, Split, Zagreb,

2022. – Sveučilište u Splitu, Ekonomski fakultet i Medicinski fakultet, poslijediplomski specijalistički studij „Menadžment zdravstvenih organizacija“.

**Radno iskustvo:**

2011. – 2013. Član uredništva i novinar mjesečnika „Universitas“, podlistka Slobodne Dalmacije,

2013. – 2013. Pripravnički staž u Domu zdravlja Splitsko-dalmatinske županije,

2013. – 2014. Pripravnički staž u Kliničkom bolničkom centru Split,

2014. – 2015. Doktor medicine u Zavodu za hitnu medicinu Dubrovačko-neretvanske županije, ispostave Korčula i Orebić,

2015. – 2021. Doktor medicine specijalizant maksilofacijalne kirurgije u Kliničkom bolničkom centru Split i Kliničkoj bolnici Dubrava, Zagreb,  
2016. – 2023. Vanjski suradnik u nastavi na kolegiju „Maksilofacijalna kirurgija“ na studijima Medicina, Dentalna medicina i Medicina na engleskom jeziku na Medicinskom fakultetu u Splitu,  
2021. – Doktor medicine specijalist maksilofacijalne kirurgije u Kliničkom bolničkom centru Split,  
2022. – Doktor medicine specijalizant iz uže specijalizacije (plastična kirurgija glave i vrata) u Kliničkom bolničkom centru Split i Kliničkoj bolnici Dubrava, Zagreb,  
2023. – Asistent na Katedri za maksilofacijalnu kirurgiju pri Medicinskom fakultetu u Splitu.

### **Povjerenstva, aktivnosti i članstva:**

2006. – 2012. Predsjednik Hrvatske akademske zajednice – podružnica Medicinski fakultet Split,  
2006. – 2011. Član predsjedništva Hrvatske akademske zajednice Sveučilišta u Splitu,  
2007. – 2010. Član Fakultetskog vijeća Medicinskog fakulteta u Splitu (studentski predstavnik),  
2008. – 2010. Član Povjerenstva za nastavu Medicinskog fakulteta u Splitu,  
2009. Član Povjerenstva za samoevaluaciju kvalitete Medicinskog fakulteta u Splitu,  
2009. – 2011. Studentski pravobranitelj na Medicinskom fakultetu u Splitu,  
2010. Član Povjerenstva za donošenje Etičkog i deontološkog kodeksa Medicinskog fakulteta u Splitu,  
2010. – 2012. Član studentske organizacije CroMSCIC (Croatian Medical Student International Committee),  
2010. – 2013. Povjerenik Sveučilišta u Splitu za studente s posebnim potrebama pri Medicinskom fakultetu u Splitu,  
2011. – 2019. Član udruge „Benedikt“,  
2011. – 2012. Član Studentskog zbora Sveučilišta u Splitu,  
2011. Član ISABS odbora (International Society for Applied Biological Sciences),  
2012. – 2017. Stalni član u IPPNW (International Physicians for the Prevention of Nuclear War),  
2014. – Tajnik Muškog pjevačkog zbora „Splitski liječnici pjevači“,  
2020. – Recenzent stručnog časopisa „Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery“,  
2021. – Član Rotary International Cluba – Solin,

2022. – Član Povjerenstva za kontrolu kvalitete Kliničkog bolničkog centra Split.

### **Članstva u profesionalnim organizacijama:**

2012. – Član Hrvatske liječničke komore,

2013. – Član Hrvatskog liječničkog zbora,

2016. – Član Hrvatskog društva za maksilofacijalnu, plastičnu i rekonstrukcijsku kirurgiju glave i vrata,

2021. – Član Europskog društva za kraniomaksilofacijalnu kirurgiju.

### **Nagrade i priznanja:**

2016. Dobitnik godišnje nagrade Hrvatskog društva za maksilofacijalnu, plastičnu i rekonstrukcijsku kirurgiju glave i vrata „Primarijus Mikolji“ (1. mjesto),

2018. Dobitnik godišnje nagrade Hrvatskog društva za maksilofacijalnu, plastičnu i rekonstrukcijsku kirurgiju glave i vrata „Primarijus Mikolji“ (3. mjesto),

2021. Dobitnik diplome internetskog portala „Najdoktor“,

2021. Dobitnik pohvale Rotary International za izvrsnost u poslovnom i profesionalnom životu,

2022. Dobitnik diplome internetskog portala „Najdoktor“,

2023. Dobitnik diplome internetskog portala „Najdoktor“.

### **Jezici:**

- hrvatski jezik (materinski jezik),

- engleski jezik (napredno korištenje u govoru i pisanju),

- talijanski jezik (samostalno korištenje u govoru i pisanju),

- grčki jezik (osnovno korištenje u govoru i pisanju),

- latinski jezik (samostalno korištenje u govoru i pisanju).

### **Izvorni znanstveni radovi:**

1. Marković D, **Mihovilović A**, Radanović A, Božić J, Lukin A, Šimunić M. Effects of a percutaneous coronary intervention or conservative treatment strategy on treatment outcomes in elderly female patients with acute coronary syndrome. *Signa vitae*. 2016;12:96-100.
2. Bušić Nj, **Mihovilović A**, Poljak NK, Macan D. Traumatic displacement of a maxillary primary canine tooth into the middle nasal concha presenting as a chronic facial pain: a case report. *J Oral Facial Pain Headache*. 201;29:203-6.
3. Martinović D, Lupi S, Tokić D, Ušljebrka M, Radoš A, Pojatina A, Kadić S, Puizina E, **Mihovilović A**, Kumrić M, Vilović M, Leskur D, Božić J. Objective skin quality assessment after reconstructive procedures for facial skin defects. *J Clin Med*. 2022;11:4471.
4. **Mihovilović A**, Đogaš Z, Martinović D, Tokić D, Puizina Mladinić E, Kumrić M, Ivković N, Vilović M, Božić J. Serum urotensin II levels are elevated in patients with obstructive sleep apnea. *Biomolecules*. 2023;13:914.
5. **Mihovilović A**, Martinović D, Martinić J, Marković D, Tarle M, Jerković D, Vuk S, Dediol E. Dynamometric outcomes of the donor site leg after vastus lateralis free flap harvest. *J Craniomaxillofac Surg*. 2023;51:755-9.

### **Sažetci i kongresna priopćenja:**

1. Bušić Nj, **Mihovilović A**, Šimundža I. Seagull flap – a wise choice for distal nose segment reconstruction. Abstracts of 9<sup>th</sup> Congress of the Croatian Society for Maxillofacial, Plastic and Reconstructive Head and Neck Surgery, and of 3<sup>rd</sup> Congress of the Croatian Society for Oral Surgery of Croatian Medical Association. *Acta Stomatol Croat*. 2012;46:81-82.
2. Bušić Nj, Šimundža I, **Mihovilović A**. Congenital torticollis. Abstracts of 9<sup>th</sup> Congress of the Croatian Society for Maxillofacial, Plastic and Reconstructive Head and Neck Surgery, and of 3<sup>rd</sup> Congress of the Croatian Society for Oral Surgery of Croatian Medical Association. *Acta Stomatol Croat*. 2012;46:87.
3. Šarić A, Šimunović VJ, **Mihovilović A**, Rakić M. New paradigm of clinical skills teaching as an answer to existing inadequate airway management skills. U: Maldini B, Goranović T, ur. *Knjiga*

sažetaka 1. hrvatskog kongresa za održavanje dišnog puta; 2012 Oct 11-12; Zagreb, Croatia: Hrvatski liječnički zbor, Hrvatsko društvo za zbrinjavanje otežanog dišnog puta; 2012. p. 60.

4. Ercegović S, Bušić Nj, **Mihovilović A**. Maxillofacial trauma in the Clinical hospital center Split in the last quarter century – the discovery and trend analysis. Abstracts of 10<sup>th</sup> Congress of the Croatian Society for Maxillofacial, Plastic and Reconstructive Head and Neck Surgery, and of 4<sup>th</sup> Congress of the Croatian Society for Oral Surgery of Croatian Medical Association. Acta Stomatol Croat. 2013;47:274.

5. Bušić Nj, **Mihovilović A**, Šimundža I. Reconstruction of maxillary alveolar ridge defects with unilateral island nasolabial flap. Abstracts of 10<sup>th</sup> Congress of the Croatian Society for Maxillofacial, Plastic and Reconstructive Head and Neck Surgery, and of 4<sup>th</sup> Congress of the Croatian Society for Oral Surgery of Croatian Medical Association. Acta Stomatol Croat. 2013;47:278-9.

6. Bušić Nj, Badrov J, Brakus I, **Mihovilović A**, Galić I. Primary maxillary canine tooth in the middle nasal turbinate as a cause of perennial facial pain. Abstracts of the 5<sup>th</sup> International Congress of the Croatian Dental Society CMA. Acta Stomatol Croat. 2014;48:70-1.

7. Bušić Nj, **Mihovilović A**, Lupi-Ferandin S, Pavičić I, Ercegović S. Rekonstrukcija orbite nakon egzenteracije uzrokovane uznapredovalim malignomima vjeđa. U: Progomet D., ur. Zbornik sažetaka 2. kongresa Hrvatskog društva za tumore glave i vrata; 2014 Oct 23-25; Zadar, Croatia: p. 11-2.

8. Bušić Nj, **Mihovilović A**, Galić I, Brakus I. Defekt ušne školjke – zar je to uopće problem? U: Progomet D., ur. Zbornik sažetaka 2. kongresa Hrvatskog društva za tumore glave i vrata; 2014 Oct 23-25; Zadar, Croatia: p. 12.

9. Bušić Nj, **Mihovilović A**. Ograničava li incizija po Weber-Fergusonu uporabu nazolabijalnih reznjeva? Abstracts of 11<sup>th</sup> Congress of the Croatian Society for Maxillofacial, Plastic and Reconstructive Head and Neck Surgery, and of 5<sup>th</sup> Congress of the Croatian Society for Oral Surgery of Croatian Medical Association.

10. **Mihovilović A**, Bušić Nj. Rekonstrukcija skalpa skalpom. Abstracts of 12<sup>th</sup> Congress of the Croatian Society for Maxillofacial, Plastic and Reconstructive Head and Neck Surgery, and of 6<sup>th</sup> Congress of the Croatian Society for Oral Surgery of Croatian Medical Association.
11. **Mihovilović A**, Bušić Nj. Centralni gigantocelularni granuloma donje čeljusti – dijagnostika i liječenje. Abstracts of 13<sup>th</sup> Congress of the Croatian Society for Maxillofacial, Plastic and Reconstructive Head and Neck Surgery, and of 7<sup>th</sup> Congress of the Croatian Society for Oral Surgery of Croatian Medical Association.
12. Mihoković J, **Mihovilović A**, Knežević P. Liječenje ranih poslijeoperacijskih komplikacija aktivnim oblogama. Abstracts of 13<sup>th</sup> Congress of the Croatian Society for Maxillofacial, Plastic and Reconstructive Head and Neck Surgery, and of 7<sup>th</sup> Congress of the Croatian Society for Oral Surgery of Croatian Medical Association.
13. Radoš A, Ercegović S, **Mihovilović A**, Pojatina A. Supraklavikularni aksijalni režanj kao metoda rekonstrukcije defekata usne šupljine. Abstracts of 15<sup>th</sup> Congress of the Croatian Society for Maxillofacial, Plastic and Reconstructive Head and Neck Surgery, and of 9<sup>th</sup> Congress of the Croatian Society for Oral Surgery of Croatian Medical Association.
14. Pojatina A, **Mihovilović A**, Ercegović S, Lupi-Ferandin S. Duljina (ni)je bitna?! Režanj s 35 cm dugom peteljkom za rekonstrukciju defekta dna usne šupljine - prikaz slučaja. Abstracts of 15<sup>th</sup> Congress of the Croatian Society for Maxillofacial, Plastic and Reconstructive Head and Neck Surgery, and of 9<sup>th</sup> Congress of the Croatian Society for Oral Surgery of Croatian Medical Association.
15. Čikeš A, Župić I, **Mihovilović A**. Primjena elastin-kolagen matriksa u rekonstrukcijskoj kirurgiji kožnim autotransplantatima. Abstract of 15<sup>th</sup> Congress of the Croatian Society for Maxillofacial, Plastic and Reconstructive Head and Neck Surgery, and of 9<sup>th</sup> Congress of the Croatian Society for Oral Surgery of Croatian Medical Association.
16. Župić I, Čikeš A, **Mihovilović A**. Upotreba medicinskog meda u liječenju kronične rane vlasišta – prikaz slučaja. Abstracts of 15<sup>th</sup> Congress of the Croatian Society for Maxillofacial, Plastic and Reconstructive Head and Neck Surgery, and of 9<sup>th</sup> Congress of the Croatian Society for Oral Surgery of Croatian Medical Association.



### **Poglavlja u knjigama i udžbenicima:**

1. **Mihovilović A.** Napredni postupci oživljavanja. Uvježbavanje uz pomoć simulatora. U Šimunović VJ (urednik ) Temeljne i opće kliničke vještine (Croatian edition). Seattle: CreateSpace Independent Publishing Platform; 2013. ISBN-10;1490396233.
2. **Mihovilović A.** Basic and advanced life support. Virtual reality training. In Simunovic VJ (editor): Basic & General Clinical Skills. Kindle edition. Seattle, Wash.: Amazon; 2013. ASIN: B00D00JG4O.

### **Knjige:**

1. Dužević I, **Mihovilović A.** Monografija: Splitski liječnici pjevači – 25. obljetnica rada i nastupanja. Split: Hrvatski liječnički zbor, 2014. 151 stranica.

### **Ostale kvalifikacije:**

Microsoft Office™ tools (Word™, Excel™ i PowerPoint™) i ostali računalni programi, poznavanje Interneta, EndNote, Adobe Photoshop.

Vozačka dozvola B kategorije.

## **11. PRIVITCI**

## Privitak 1. STOP-Bang upitnik

Upitnik za procjenu rizika za apneju tijekom spavanja

Ime: \_\_\_\_\_ Prezime: \_\_\_\_\_

Spol:            M            Ž

Visina: \_\_\_\_\_ (cm)      Tjelesna masa: \_\_\_\_\_ (kg)      Dob: \_\_\_\_\_ (godine)

Veličina ovratnika košulje: S, M, L, XL, XXL, ili \_\_\_\_\_ (cm)

Opseg vrata: \_\_\_\_\_ (cm), Opseg struka: \_\_\_\_\_ (cm), Opseg bokova: \_\_\_\_\_ (cm)

- Snoring**      **Hrkanje:**  
Hrčete li glasno (glasnije nego što pričate ili dovoljno glasno da Vas se može čuti iza zatvorenih vrata)?  
DA            NE
- Tiredness**      **Umor:**  
Osjećate li se često umorni, zamarate li se ili ste pospani tijekom dana?  
DA            NE
- Observed**      **Zamijećenost:**  
Je li netko zamijetio da ste prestali disati tijekom spavanja?  
DA            NE
- Pressure**      **Imate li ili se liječite od povišenog arterijskog krvnog tlaka (hipertenzije)?**  
DA            NE
- BMI**      **ITM (Indeks Tjelesne Mase) > 35 kg/m<sup>2</sup>?**  
DA            NE
- Age**      **Dob iznad 50 godina?**  
DA            NE
- Neck**      **Opseg vrata za muškarca 43 cm ili više, za žene 41 cm ili više?**  
DA            NE
- Gender**      **Muški spol?**  
DA            NE

## Privitak 2. Epworthova ljestvica pospanosti

Koliko često Vam se događa da osjetite potrebu za spavanjem u niže navedenim situacijama?

U ovim se primjerima radi o uobičajenim dnevnim aktivnostima. Čak i ako se u skoro vrijeme niste našli u nekoj od niže navedenih situacija, pokušajte zamisliti kako biste se osjećali.

Uporabite predložene brojeve kojima ćete najbolje ocijeniti kako se u datom trenutku osjećate.

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

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

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

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

Prilika:

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

Zbroj \_\_\_\_\_