

Serumske koncentracije katestatina i lipidni status u bolesnika s opstrukcijskom apnejom tijekom spavanja

Borovac, Josip Anđelo

Master's thesis / Diplomski rad

2018

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:171:303179>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-25**



Repository / Repozitorij:

[MEFST Repository](#)



UNIVERSITY OF SPLIT



SVEUČILIŠTE U SPLITU

MEDICINSKI FAKULTET

Josip Anđelo Borovac

**SERUMSKE KONCENTRACIJE KATESTATINA I LIPIDNI STATUS U
BOLESNIKA S OPSTRUKCIJSKOM APNEJOM TIJEKOM SPAVANJA**

Diplomski rad

Akadska godina:

2017./2018.

Mentor:

Doc. dr. sc. Joško Božić, dr. med.

Split, lipanj 2018.

SVEUČILIŠTE U SPLITU

MEDICINSKI FAKULTET

Josip Anđelo Borovac

**SERUMSKE KONCENTRACIJE KATESTATINA I LIPIDNI STATUS U
BOLESNIKA S OPSTRUKCIJSKOM APNEJOM TIJEKOM SPAVANJA**

Diplomski rad

Akadska godina:

2017./2018.

Mentor:

Doc. dr. sc. Joško Božić, dr. med.

Split, lipanj 2018.

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. Definicija, epidemiologija i rizični čimbenici za opstruktivnu apneju tijekom spavanja (OSA)	2
1.2. Dijagnostika OSA-e	6
1.3. Patofiziologija i liječenje OSA-e	11
1.4. OSA i komorbiditeti	16
1.5. OSA i metabolizam lipida	18
1.6. Katestatin – pleiotropni neuroendokrini peptid	20
2. CILJ ISTRAŽIVANJA	37
3. ISPITANICI I METODE	39
3.1. Ustroj istraživanja	40
3.2. Ispitanici	40
3.3. Antropometrijska mjerenja	41
3.4. Cjelonoćno laboratorijsko polisomnografsko ispitivanje	42
3.5. Uzorkovanje periferne krvi i laboratorijska analiza	42
3.6. Statistička analiza	43
4. REZULTATI	45
5. RASPRAVA	61
6. ZAKLJUČCI	69
7. POPIS CITIRANE LITERATURE	71
8. SAŽETAK	95
9. SUMMARY	97
10. ŽIVOTOPIS	99

„Work hard, play hard.“

Nepoznati autor

Zahvaljujem svom mentoru, ali prije svega dragom prijatelju, doc. dr. sc. Jošku Božiću na pomoći tijekom izrade ovog diplomskog rada, ali i na svemu ostalom što smo zajedno doživjeli tijekom mog medicinskog obrazovanja. One and only – Joško!

Hvala mojoj obitelji, majci Gogi i ocu Miljenku te bratu Lovri i sestri Miri na svojoj podršci.

Hvala mojim „Žajčićima“, punici Slavki, puncu Anti i Nikoli što su uvijek bili tu.

Hvala mome kumu Hrvoju na brojnim savjetima, podršci i vjernom praćenju mog životnog puta i obrazovanja.

Na kraju, najveća zahvala ide mojoj supruzi Ivi i mojoj kćeri Pauli što su mi bile i ostale najveći oslonac i potpora u svim trenucima mog puta te upravo njima posvećujem ovaj rad.

1.1. Definicija, epidemiologija i rizični čimbenici za opstruktivsku apneju tijekom spavanja (OSA)

Opstruktivska apneja tijekom spavanja (engl. *obstructive sleep apnea*, OSA) je kompleksan i kroničan poremećaj disanja za vrijeme spavanja karakteriziran repetitivnim epizodama djelomične ili potpune opstrukcije gornjih dišnih puteva što dovodi do perioda potpunog (apneja) ili djelomičnog (hipopneja) prestanka disanja iako je aktivnost dišne muskulature očuvana (1, 2). Posljedično, OSA ima značajan učinak na kvalitetu noćnog spavanja što rezultira umorom, nedostatkom energije i prekomjernom dnevnom pospanošću, što je čini nezanemarivim fenomenom u kvaliteti svakodnevnog života. Valja naglasiti da OSA predstavlja samo jedan od ukupno 17 entiteta koji se zbirno klasificiraju kao „poremećaji disanja tijekom spavanja“ (engl. *sleep-disordered breathing*), a koje je definirala Američka Akademija za medicinu spavanja (engl. *American Academy of Sleep Medicine*, AASM) (3). Po navedenoj podjeli, četiri su velike skupine u koje se svrstavaju poremećaji disanja tijekom spavanja:

- 1. Opstruktivska apneja tijekom spavanja (OSA)**
- 2. Centralna apneja tijekom spavanja (CSA)**
- 3. Hipuventilacijski poremećaji tijekom spavanja**
- 4. Hipoksemijski poremećaji**

Epidemiologija

OSA je jedan od najčešćih kroničnih respiracijskih poremećaja, 2 do 3 puta je češća u muškaraca u većini studija, s prevalencijom u općoj populaciji između 3 do 7% dok određene populacijske skupine imaju povišene rizike za razvoj OSA-e (4-6). Seminalna studija u ovom području, *Winsconsin Sleep Cohort Study (WSCS)* iz 1993. godine, pokazala je da je, među općom radnom populacijom muškaraca i žena u dobi između 30 i 60 godina starosti, blagi stupanj poremećaja tijekom spavanja imalo 24% muškaraca i 9% žena (7). Ista studija je procijenila da prevalencije umjerene i teške OSA-e iznose 15% i 5% za muškarce, odnosno 9% i 4% za žene. Kao korelat težine bolesti i metoda stupnjevanja težine bolesti u navedenoj studiji korištena je vrijednost apneja-hipopneja indeksa (AHI), o kojem će biti više rečeno u daljnjem tekstu. Danas se smatra da će se prevalencija OSA-e u svjetskoj populaciji u budućnosti povećavati zbog činjenice da je životni vijek čovjeka sve dulji, uz paralelno povećanje

prevalencije prekomjerne tjelesne težine i pretilosti što su etabrirani rizični čimbenici za nastanak OSA-e (8, 9). Već je sada poznato da je najveća prevalencija OSA-e prisutna u zemljama koje imaju najveću prevalenciju pretilosti te kako se prevalencija pretilosti povećava paralelno se povećava i prevalencija OSA-e (9, 10). To su pokazali i nalazi naknadne (engl. *follow-up*) studije koja je longitudinalno pratila *Winsconsin* kohortu, nedvosmisleno utvrdivši da je prevalencija bolesti značajno porasla u posljednja dva desetljeća i to između 14% do 55%, ovisno o kojoj subpopulaciji je riječ (11). U istraživanju novijeg datuma na velikoj kohorti ispitanika, *HypnoLaus*, utvrđene su i znatno veće stope prevalencije blage OSA-e ($AHI \geq 5$ uz prisutnost simptoma) i umjerene do teške OSA-e ($AHI \geq 15$) nego u referentnoj *WSCS* studiji, ali i u odnosu na Peppardovo istraživanje (12). Što se tiče populacije osoba starije životne dobi, u studiji *SYNAPSE*, provedenoj na francuskoj populaciji zdravih osoba, AHI vrijednost >15 je imalo čak 53% uključenih ispitanika, a od tog broja čak 37% je imalo AHI vrijednost >30 što je po trenutačnoj klasifikaciji teška OSA (13). Među djecom, OSA je generalno niže prevalencije nego u odrasloj populaciji i u većini izvještaja iznosi 1,2 do 5,7% (14).

OSA je kompleksan sindrom *sui generis* čija je patofiziologija multidimenzionalna i u složenom odnosu s ozbiljnim morbiditetima i kroničnim bolestima kao što su arterijska hipertenzija, koronarna bolest srca, moždani udar, dijabetes, metabolički sindrom, kronična opstruktivna plućna bolest (KOPB), pretilost, depresija, a nosi i povišeni rizik za smrtnost (15-18). S druge strane, OSA je najčešće neprepoznata u svakodnevnoj kliničkoj praksi te, ukoliko je neliječena, potiče nastanak i/ili pogoršava već postojeće kardiovaskularne i metaboličke bolesti čime predstavlja važan javno-zdravstveni problem (19). U prilog ovoj tezi govori istraživanje Younga i sur. koje je procijenilo da čak 93% žena i 82% muškaraca s umjerenim do teškim stupnjem sindroma apneje tijekom spavanja nije klinički dijagnosticirano (20). Slični podatci su prikupljeni i u *Sleep Heart Health* studiji Kapura i sur. koja je pokazala da je OSA izrazito poddijagnosticiran sindrom (21). Navedeni problem je od izuzetne važnosti jer je OSA čvrsto povezana s povećanim rizikom za brojne ozbiljne morbiditete i skraćeni životni vijek dok je, ukoliko se pravovremeno dijagnosticira, liječenje neškodljivo i učinkovito u smanjenju tih rizika i simptoma (17). Spolne razlike u prevalenciji i dijagnozi OSA-e su također izražene. U uzorku opće nedijagnosticirane populacije u kojoj je kasnije verificirana OSA, omjer muškaraca prema ženama iznosio je 2:1 dok je u populaciji pacijenata koji imaju dijagnozu OSA-e i već se liječe taj omjer narastao na čak 8:1 u korist muškaraca, što govori da su žene izrazito poddijagnosticirane i nedovoljno klinički obrađivane u smislu otkrivanja poremećaja

tijekom spavanja (22). Također, bolesnice s OSA-om imaju lošiju prognozu u odnosu na muške OSA bolesnike (22, 23).

Rizični čimbenici za OSA-u

Postoji čitav niz istraživanih rizičnih čimbenika i komorbiditeta koji u većem ili manjem stupnju povećavaju vjerojatnost za obolijevanje od sindroma OSA-e. Neki od njih poput pretilosti (lat. *obesitas*) i muškog spola su najčvršće i epidemiološki robustno dokazani (4, 9, 24). Poznat je podatak da porast tjelesne mase od 10% šesterostruko povećava rizik za OSA-u, dok smanjenje tjelesne mase za 10% dovodi do smanjenja AHI vrijednosti za oko 30% (25). Pretilost je značajan rizični faktor za OSA-u, kako anatomski, tako i fiziološki, prvenstveno iz razloga što uzrokuje povećanje mekotkivnih struktura unutar i oko gornjih dišnih puteva što uzrokuje suženje ždrijelnih dišnih puteva (26, 27). Rizik za OSA-u linearno se povećava s dobi, sve do razdoblja starosti između 60 i 65 godina kada prevalencija bolesti doživljava plato (7, 22).

Od ostalih rizičnih čimbenika vrijedi izdvojiti povećani opseg vrata i/ili struka, povećani omjer opsega struka i bokova (engl. *waist-to-hip ratio*, WHR), pozitivnu obiteljsku anamnezu na poremećaje disanja tijekom spavanja, menopauzu, kraniofacijalne (mikrognatija, retrognatija, makroglosija, široka baza lubanje) i anatomske abnormalnosti gornjih dišnih puteva, hipertrofiju tonzila, cerebrovaskularne bolesti, izostanak fiziološkog pada arterijskog krvnog tlaka noću (engl. *non-dipping pattern*), različite kronične bolesti poput arterijske hipertenzije, kronične bubrežne bolesti, dijabetesa, KOPB-a, te štetne životne navike poput pušenja i zlorabe alkohola (4, 28-32). Jedna studija je pokazala da čak 69% bolesnika koji boluju od KOPB-a ili kronične hipoksemije istodobno imaju i OSA-u (33). Također, psihički i psihološki komorbiditeti povećavaju rizik za OSA-u, dok sama OSA utječe na kvalitetu socijalnog života, kvalitetu rada i zaposlenja te ukupnu kvalitetu života (34). I različita etnička pripadnost može predisponirati za razvoj OSA-e. Tako su neke studije pokazale da ispitanici crne rase imaju veći rizik za obolijevanje od OSA-e u odnosu na bjelačku populaciju, dok je pretilost bila izraženiji značajan prediktor OSA-e među američkim Indijancima i Latino stanovništvom SAD-a u odnosu na bijelu rasu (17, 35, 36). Ovo se može objasniti činjenicom da je među tom populacijom prisutna veća prevalencija pretilosti. S druge strane, kraniofacijalne karakteristike su važniji čimbenik rizika za razvoj OSA-e kod Azijata u odnosu na bijelo stanovništvo (37). Neka izvješća govore i o implikacijama genetske podloge u nastanku OSA-e (38, 39). Rizični čimbenici za OSA-u prikazani su u Tablici 1.

Tablica 1. Rizični čimbenici za nastanak sindroma opstruktivske apneje tijekom spavanja

- **Starija životna dob** (prosječna dob je između 40 i 50 godina, plato je oko 65. godine)
- **Muški spol** (OSA je 2 do 3 puta učestalija kod muškaraca)
- **Pretilost** (posebice gornjeg dijela tijela, tzv. *upper body obesity*)
- **Antropometrijske karakteristike** (↑ povišen indeks tjelesne mase, ↑ povećan opseg vrata, ↑ povećan omjer opsega struka i bokova)
- **Suženje gornjih respiracijskih puteva** (kraniofacijalne i anatomske abnormalnosti, posebice mandibule i maksile, kao i abnormalnosti mekih tkiva, hipertrofija tonzila)
- **Genetske predispozicije** (pozitivna obiteljska anamneza)
- **Pušenje** (u Winsconsin kohorti je pušenje bilo povezano s 3 puta većim rizikom za nastanak OSA-e u odnosu na ispitanike koji nisu pušili ili su bili bivši pušači)
- **Nazalna kongestija** (različite etiologije: sezonski alergijski rinitis, akutna infekcija gornjeg respiratornog trakta ili anatomske anomalije)
- **Menopauza, postmenopauza**
- **Postojeća medicinska stanja i komorbiditeti koji uključuju:**
 - Arterijska hipertenzija
 - Fibrilacija atrijske
 - Kongestivno srčano zatajenje
 - Dijabetes
 - Marfanov sindrom
 - Akromegalija
 - Hipotireoidizam
 - Terminalni stadij bubrežnog zatajenja
 - Kronična opstruktivna plućna bolest (KOPB)
 - Gastroeozofagealna refluksna bolest (GERB)
 - Sindrom policističkih jajnika (PCOS)
 - Metabolički sindrom
 - Neurološki poremećaji
 - Cerebrovaskularna bolest
 - Trudnoća
- **Lijekovi i zloraba alkohola, benzodiazepina i narkotika**

Prilagođeno prema: Lévy P, Kohler M, McNicholas WT, Barbé F, McEvoy RD, Somers VK i sur. Obstructive sleep apnoea syndrome. Nat Rev Dis Primers. 2015;1:15015.

1.2. Dijagnostika OSA-e

Young i suradnici su naglasili važnost potrebe da kliničari prihvate činjenicu da svi potencijalni OSA bolesnici ne pripadaju nužno u tzv. „*Pickwick*“ fenotip koji je definiran osnovnim značajkama kao što su muški spol, pretilost, pospanost, hrkanje i srednja životna dob (40). Naprotiv, takav stereotip je prisutan samo iz razloga jer su upravo takvi bolesnici uključivani u prve studije koje su se bavile OSA-om te su činili visoko selekcioniranu skupinu bolesnika koja nužno ne predstavlja čitav spektar OSA bolesnika iz opće populacije. Liječnici iz primarne zdravstvene zaštite danas se educiraju za prepoznavanje osnovnih i najčešćih simptoma OSA-e kao što su učestalo disruptivno hrkanje tijekom spavanja (ono koje prekida spavanje), stanke u disanju tijekom spavanja i prekomjerna dnevna pospanost. O prva dva simptoma se najčešće saznaje heteroanamnestički od ukućana ili partnera, dok se na posljednje najčešće požali sam pacijent (41-43). Noviji sustavni pregled Myersa i sur. pokazao je da su ispitanici nad kojima je izvršen dijagnostički probir za OSA-u, a koji su na kraju i klinički dijagnosticirani s OSA-om, imali značajno veći Quetelov indeks, tj. indeks tjelesne mase (ITM, odnosno, engl. *body mass index*, BMI) u odnosu na ispitanike kojima OSA u istoj studiji nije dokazana, a anamnestički podatak o noćnom gušenju je bio visoko povezan s prisutnošću klinički značajne OSA-e (44). Isto istraživanje je pokazalo visoku prevalenciju simptoma hrkanja u OSA bolesnika, no ono nije imalo visoku dijagnostičku vrijednost. Na kraju, autori su zaključili da ispitanici koji imaju simptome blažeg hrkanja i indeks tjelesne mase (ITM) $<26 \text{ kg/m}^2$ imaju malu vjerojatnost da boluju od umjerene ili teške OSA-e (s definiranom graničnom vrijednosti $\text{AHI} \geq 15$ događaja/sat).

U literaturi se kao najčešći simptomi OSA-e spominju pretjerana dnevna pospanost, osvjedočene epizode gušenja ili „borbe za zrak“ tijekom spavanja, hrkanje, buđenje sa suhim ustima ili grlom, grlobolja, dugotrajna nesanica, jutarnje glavobolje (posebice bifrontalne, bez popratnih fenomena poput fotofobije, fonofobije ili mučnine), smanjena koncentracija tijekom dana, poremećaji pamćenja, subjektivni dojam neokrepljujućeg sna, promjene raspoloženja i ponašanja, depresija, iritabilnost, nikturija, smanjenje seksualnog nagona i impotencija (45, 46). Kao što je ranije navedeno, većina ovih simptoma nemaju dovoljnu specifičnost za OSA-u pa se ne mogu izolirano koristiti za postavljanje dijagnoze (44).

Diferencijalno-dijagnostički OSA-u je potrebno razlikovati od ostalih patoloških stanja s kojima dijeli sličnu simptomatologiju i kliničku sliku. U tu skupinu spadaju centralna apneja tijekom spavanja (uključujući Cheyne-Stokesovo disanje), poremećaji periodičnog pokretanja

udova (engl. *periodic limb movement disorder*), sindrom hipoventilacije u pretilih, hipotireoidizam, narkolepsija, noćna epilepsija, plućne bolesti, gastroezofagealna refluksna bolest (GERB), poremećaji cirkadijanog ritma, hipersomnija zbog korištenja droga i/ili lijekova te psihijatrijski poremećaji.

Dijagnostika OSA-e se sastoji od uzimanja detaljne anamneze, fizikalnog pregleda i kliničke slike, no najrelevantnija i klinički najobjektivnija metoda za postavljanje dijagnoze je snimanje arhitekture i obrasca spavanja posredstvom cjelonoćne laboratorijske polisomnografije (47). Respiracijska poligrafija kao alternativna metoda uključuje snimanje većine parametara, kao i polisomnografija no ne uključuje snimanje elektroencefalograma, elektrookulograma i elektromiograma pa je samim time ograničenija dijagnostička metoda koja ne spada u zlatni standard dijagnostike OSA-e, ali se može koristiti (48). Ostali modaliteti dijagnostike su izvanbolničko monitoriranje spavanja (engl. *out of center sleep testing*, OCST) koje koristi iste kriterija kao i polisomnografija, ali su isti vrednovani po mjernoj jedinici sata monitoriranja (49). Postoji još i polunoćna polisomnografija (engl. *split-night in-laboratory polysomnography*) koja je po vrijednosti istovjetna cjelonoćnoj polisomnografiji, a izvodi se na način da se bolesniku postavi definitivna dijagnoza OSA-e tijekom prve polovice noći dok mu se u drugom dijelu noći titrira i administrira terapija kontinuiranim pozitivnim tlakom zraka (engl. *Continuous Positive Airway Pressure*, CPAP). Prijenosni monitoring pacijenata u dijagnostici OSA-e, tzv. *portable monitoring* i nove tehnologije koje će biti dostupnije i manje skupe/kompleksne u odnosu na polisomnografiju će postati i već jesu nužnost u svakodnevnoj kliničkoj praksi obzirom na sve veći broj oboljelih od metaboličkog sindroma i/ili pretilosti u kojih je OSA još uvijek visoko poddijagnosticirana, a koji nemaju mogućnost polisomnografskog ispitivanja koje iziskuje materijalne i ljudske, tj. stručne resurse (49, 50).

Parametri cjelonoćne laboratorijske polisomnografije

Polisomnografija je dokazani zlatni standard za dijagnostiku OSA-e, a sastoji se od mjerenja nekoliko važnih fizioloških funkcija i signala tijekom spavanja: elektrokardiografija, elektroencefalografija, elektrookulografija, elektromiografija goljeničnog (lat. *musculus tibialis*) i mišića brade (lat. *musculus mentalis*), pulsna oksimetrija, ezofagealna manometrija, mjerenje nosnog protoka zraka, jačina hrkanja te, konačno, praćenje pokreta prsnog koša i abdomena (47, 51). Nakon završetka snimanja snimljeni signali se digitalno obrađuju na računalnom sustavu i kvantificiraju od strane akreditiranih stručnjaka za medicinu spavanja (52). Važno je naglasiti da negativan nalaz polisomnografije u pacijenata s visokom kliničkom

sumnjom na OSA-u ne isključuje bolest zbog relativno visoke razine varijabilnosti, tehničke pogreške tijekom snimanja i nedostatka standardizacije metoda u pojedinim laboratorijima (53). U tim slučajevima potrebno je ponovno provesti polisomnografsko ispitivanje. U obradi respiracijskih parametara kvantificiraju se događaji kao što su opstruktivska, mješovita ili centralna apneja, hipopneja te buđenja vezana uz respiracijski napor (engl. *respiratory effort-related arousals*, RERA), a zbroj navedenih komponenti naziva se indeks respiracijskih poremećaja (engl. *respiratory disturbance index*, RDI) koji se izražava kao ukupni broj navedenih događaja po jednom satu spavanja (vidi formulu dolje).

RDI (događaji/sat) =

[(Broj RERA-a + broj hipopneja + broj apneja) x 60 / Vrijeme spavanja (min.)]

Epizoda apneje se definira kao period potpunog prestanka protoka zraka kroz gornje dišne puteve koji traje dulje od 10 sekundi dok je hipopneja smanjenje protoka zraka za najmanje 30% od prosječnog protoka zraka u mirovanju, a koja traje dulje od 10 sekundi uz buđenje i/ili konkomitantni pad saturacije arterijske krvi kisikom (SpO₂) za najmanje 3%. S druge strane, RERA se definira kao niz respiracijskih ciklusa karakteriziranih povećanim respiracijskim naporom koji traje dulje od 10 sekundi i dovodi do buđenja, no ne zadovoljava kriterije apneje ili hipopneje. Desaturacijski indeks kisika (engl. *oxygen desaturation index*, ODI) definira se kao prosječni broj događaja hemoglobinske desaturacije kisikom za 3% ili više unutar jednog sata (54, 55). Apneja-hipopneja indeks (engl. *apnea-hypopnea index*, AHI) se definira kao zbroj epizoda apneje i hipopneje po satu spavanja (događaji/sat).

Treba istaknuti da su RDI te AHI osnovni polisomnografski kriteriji kojima se kvantificira i određuje težina same bolesti (56). RDI klasificira težinu OSA-e u 3 stupnja kao i AHI. Danas se po važećim smjernicama i u većini kliničkih istraživanja koja se bave OSA-om kao najčešća mjera i polisomnografski kriterij težine bolesti u odrasloj populaciji koristi AHI vrijednost (57-60). Važno je istaknuti da u pedijatrijskoj populaciji OSA pacijenata vrijede drugačiji kriteriji nego za odrasle bolesnike (61, 62). Do dijagnoze se dolazi kombiniranjem kliničkih kriterija (jednog ili više) i polisomnografskih kriterija (jednog ili više, a oni uključuju barem jednu epizodu opstruktivske, mješovite ili centralne apneje, hipopneje ili opstruktivskog

obrasca hipoventilacije) (63, 64). Osnovne kliničke definicije i relevantne klasifikacije težine OSA-e su prikazane u Tablici 2.

Tablica 2. Osnovne kliničke definicije i klasifikacije opstruktivske apneje tijekom spavanja

• Apneja – potpuni prestanak protoka zraka kroz gornje dišne puteve koji traje >10 sekundi • Hipopneja – epizoda smanjenja protoka zraka za najmanje 30%, a koja traje najmanje 10 sekundi uz buđenje i/ili konkomitantni pad $SpO_2 \geq 3\%$ • RDI – indeks respiracijskih poremećaja (zbroj epizoda opstruktivske, mješovite ili centralne apneje i/ili hipopneje te buđenja vezanih uz respiracijski napor - RERA) ▪ <i>Blaga OSA</i>: RDI 5-14,9 događaja/sat ▪ <i>Umjerena OSA</i>: RDI 15-29,9 događaja/sat ▪ <i>Teška OSA</i>: RDI ≥ 30 događaja/sat • AHI – apneja-hipopneja indeks (zbroj epizoda apneje i hipopneje po satu spavanja) ▪ <i>Blaga OSA</i>: AHI ≥ 5-14,9 događaja/sat ▪ <i>Umjerena OSA</i>: AHI ≥ 15-29,9 događaja/sat ▪ <i>Teška OSA</i>: AHI ≥ 30 događaja/sat • Dijagnoza sindroma OSA-e u odraslih ▪ <i>Asimptomatski bolesnici</i> <i>AHI ≥ 15, s ili bez prisutnih znakova i/ili simptoma bolesti ili postojanje komorbiditeta vezanih uz OSA-u</i> ▪ <i>Simptomatski bolesnici</i> <i>AHI ≥ 5, uz prisutne znakove i/ili simptome bolesti ili postojanje komorbiditeta vezanih uz OSA-u</i>
--

Prilagođeno prema: Myers K, Mrkobrađa M, Simel DL. Does this patient have obstructive sleep apnea? The rational clinical examination systematic review. JAMA. 2013;310:731-41.

Metode probira u OSA-i

Tijekom vremena razvijeno je i osmišljeno nekoliko validiranih upitnika (anketa) čija je glavna uloga iz opće populacije probati one ispitanike koji imaju najveću vjerojatnost i rizik za OSA-u. Treba napomenuti da svi ovi upitnici (u manjoj ili većoj mjeri) imaju ograničenu ulogu u dijagnostici bolesti zbog nedovoljne osjetljivosti i specifičnosti, a najveću vrijednost

imaju upravo u bolesnika koji se sami žale na smetnje disanja i spavanja, odnosno na onu populaciju pacijenata kod kojih je visoka klinička sumnja na OSA-u, tzv. visoka pretestna vjerojatnost (engl. *high pre-test probability*). U najkorištenije upitnike za procjenu rizika OSA-e spadaju Berlinski upitnik te STOP, odnosno STOP-BANG upitnik (engl. *The Snoring, Tiredness, Observed apnea, high blood Pressure-Body mass index, Age, Neck circumference, and Gender*, STOP-BANG questionnaire) (42, 65, 66). Treba naglasiti da posljednja dva upitnika, a posebno STOP-BANG varijanta upitnika postižu veću osjetljivost i specifičnost u odnosu na ostale upitnike (67-69). Ovi upitnici nam govore o tome kolika je vjerojatnost (rizik) da pojedini ispitanik boluje od OSA-e te se oni koji imaju postignuti broj bodova veći od graničnih vrijednosti specificiranih za pojedini upitnik, a posebice oni koji su postigli visoke vrijednosti, upućuju na daljnju dijagnostičku obradu u svrhu eventualnog utvrđivanja definitivne dijagnoze bolesti posredstvom cjelonoćne laboratorijske polisomnografije, kao zlatnog dijagnostičkog standarda. Uvijek treba imati na umu da je primarna uloga probirnog testa definirati rizik za obolijevanje od neke bolesti, a ne dijagnosticirati bolest.

Prema literaturnim navodima, osjetljivost STOP-BANG upitnika u detekciji OSA-e za postignutu vrijednost od 3 ili više bodova iznosi 93% za umjerenu i 100% za tešku OSA-u (68). Najnovija meta-analiza koja je analizirala najčešće upotrebljavane upitnike u probiru za OSA-u preporuča da se u kliničkoj praksi koristi STOP-BANG upitnik koji je u „*head-to-head*“ usporedbi s drugim upitnicima pružio najbolje dijagnostičke performanse (70). Valja napomenuti da smo navedeni upitnik koristili kao probirni test od stratifikacijskog značaja u ovom istraživanju. Slični nalazi o vrijednosti STOP-BANG upitnika potvrđeni su i u ranijim analizama (71, 72). Nadalje, u svakodnevnoj kliničkoj praksi se koristi i Epworthova ljestvica pospanosti (engl. *Epworth Sleepiness Scale*, ESS) koja nema ulogu u procjeni rizika za OSA-u, ali procjenjuje stupanj prekomjerne dnevne pospanosti koja je najčešći popratni simptom OSA-e. U važnoj Johnsovoj studiji koja je po prvi put predstavila ESS upitnik, bolesnici s blagom, umjerenom i teškom OSA-om u prosjeku su imali vrijednosti od $9,5 \pm 1,3$, odnosno $11,5 \pm 4,2$, tj. $16,0 \pm 4,4$ na ESS upitniku dok je kod zdravih ispitanika prosječan zbroj bodova na ESS upitniku iznosio $5,9 \pm 2,2$ uz raspon bodova između 2 do 10 (73).

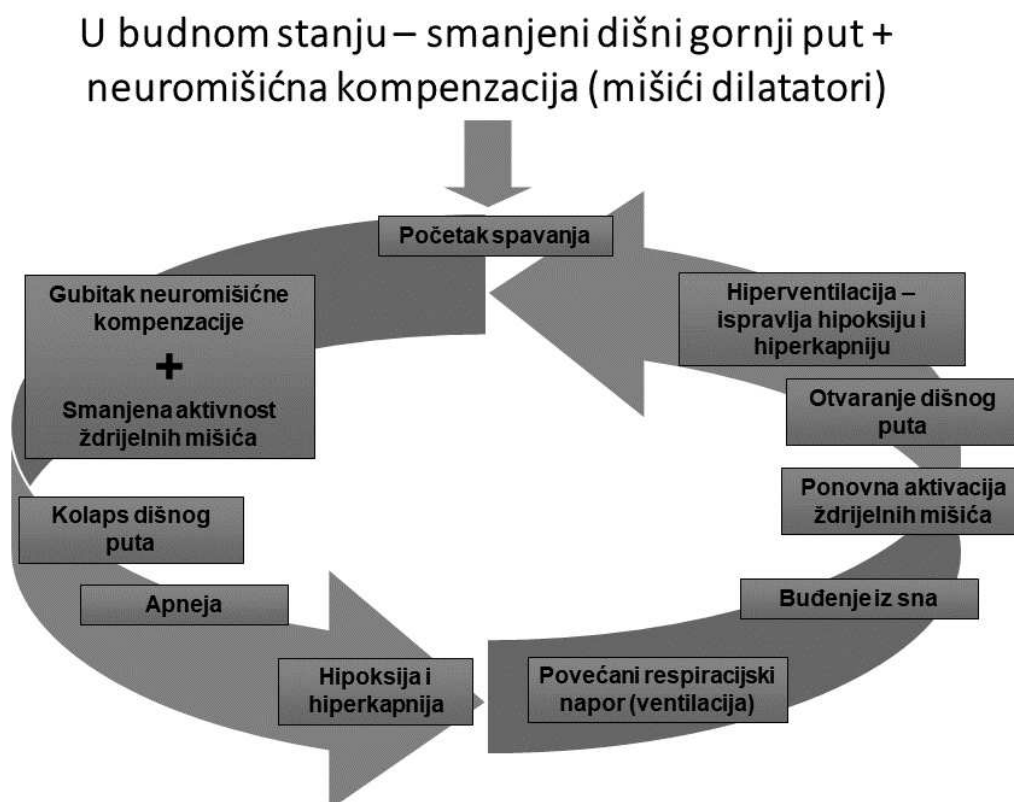
U kliničkoj praksi još se koriste i slijedeći upitnici: Pitsburški indeks kvalitete spavanja (engl. *Pittsburgh sleep quality index*, PSQI), SACS zbroj (engl. *Sleep apnea clinical score*, SACS), NoSAS zbroj (engl. *NoSAS score*, NoSAS) te MVAP upitnik (engl. *Multivariable apnea prediction questionnaire*, MVAP) (74-78).

1.3. Patofiziologija i liječenje OSA-e

OSA je kompleksan sindrom multifaktorijalne etiologije koji dijeli zajedničke čimbenike rizika s brojnim drugim komorbiditetima i patološkim stanjima, kao što je već ranije navedeno. Međutim, kao centralni događaj u patofiziologiji OSA-e treba istaknuti ponavljajuću potpunu ili djelomičnu opstrukciju gornjeg dišnog puta tijekom spavanja koja za glavnu posljedicu ima potpuni ili djelomični prestanak protoka zraka te poremećaje respiracije (79, 80). Nastanku OSA-e značajno doprinose anatomske i maksilofacijalne strukturne promjene koje se onda odražavaju i na funkciju, a istodobno mogu postojati i različite kombinacije anatomske i funkcionalne predispozicije, poput pretilosti, povećanog faringealnog kolapsa, reducirane neuromišićne kompenzacije, zapadanja baze jezika te odsutnosti zaštitnog faringealnog refleksa za vrijeme spavanja (81-83).

Parcijalne ili kompletne opstrukcije gornjeg dišnog puta dovode do epizoda hipopneje, odnosno apneje i tzv. „mikro buđenja“ (engl. *micro-arousals*) za vrijeme kojih bolesnik održava ili povećava disajni napor te je u potpunosti angažirana dišna muskulatura. Takve epizode apneje i hipopneje obično traju između 3 do 15 sekundi te ih sam bolesnik ne percipira, no one itekako utječu na fragmentaciju spavanja i posljedično smanjuju kvalitetu spavanja. Učestali periodi bez protoka ili s ograničenim protokom zraka tijekom spavanja patofiziološki dovode do poremećaja izmjene plinova u krvi, smanjenja parcijalnog tlaka kisika u arterijskoj krvi (pO_2) - hipoksemije i povećanja parcijalnog tlaka ugljičnog dioksida (pCO_2) – hiperkapnije (84, 85). Posljedično dolazi do smanjene opskrbe različitih tkiva i organa kisikom tijekom spavanja (hipoksije) što uzrokuje višeorganska oštećenja i sustavnu homeostatsku disregulaciju. Važna studija Reinkea i sur. dokazala je da kardinalni patofiziološki mehanizam OSA-e, intermitentna hipoksija, dovodi do značajnog smanjenja dopreme kisika perifernim tkivima (tkivna hipoksija), ali i da inducira inzulinsku rezistenciju, dok je u istoj studiji pretilost bila značajno povezana s teškom sustavnom upalom, neovisno o učincima hipoksije (86). Ova studija je zaključila tri važne stvari: a) intermitentna hipoksija je važna patofiziološka posljedica ponavljanih epizoda apneje i hipopneje i dovodi do insuficijente opskrbe tkiva i organa s kisikom, b) intermitentna hipoksija sudjeluje u mehanizmima nastanka inzulinske rezistencije i c) proupalni učinci pretilosti djeluju neovisno o hipoksiji.

Brojna istraživanja dokazala su da je mehanizam intermitentne hipoksije (koji je u OSA bolesnika kronična pojava!) značajno i neovisno povezan s pretjeranom dnevnom pospanošću, kardiovaskularnim i cerebrovaskularnim morbiditetima te s povećanim općim mortalitetom (56, 87, 88). Osnovna patofiziološka kaskada događaja u OSA-i prikazana je u Slici 1.



Slika 1. Osnovni patofiziološki slijed događaja u OSA-i (autorska slika)

Uz spomenuti kolaps gornjih dišnih puteva i anatomske te funkcionalne poremećaje ždrijelnih mišića važno je navesti ostale mehanizme koji utječu na nastanak OSA-e i koji podržavaju progresiju bolesti, ali na koje povratnom spregom utječe i OSA.

Uloga autonomnog živčanog sustava (AŽS) za vrijeme spavanja je izrazito važna budući da taj sustav mora simultano održavati i vršiti kompleksnu inhibicijsku i stimulacijsku aktivaciju u različitim tjelesnim organima i tijekom različitih stadija spavanja. Tako za vrijeme REM stadija spavanja (engl. *rapid eye movement*, REM) dolazi do povećanja simpatičke aktivnosti, a u non-REM stadiju povećava se parasimpatička aktivnost s paralelnim smanjenjem simpatičke aktivnosti (89). U OSA-i, prisutni mehanizmi hipoksemije i hiperkapnije sinergistički djeluju na periferne i centralne kemoreceptore kao podražaj koji sumarno povećava aktivnost simpatičkog živčanog sustava, a ta aktivnost se održava i tijekom dana kada se ponovno uspostavi normoksija (90, 91). Kao patofiziološke posljedice intermitentne hipoksije, bilo akutne ili kronične, dolazi do povećane mišićne živčane aktivnosti potaknute simpatikusom, smanjenja kontrole simpatičke aktivnosti posredstvom baroreceptora, povišenja arterijskog tlaka te povećanja perifernog vaskularnog otpora (92-94).

Dodatni hipertenzivni učinak se potencira povećanom simpatičkom stimulacijom bubrega što uzrokuje pojačano lučenje renina i posljedično povećanje razina angiotenzina II i aldosterona u cirkulaciji iako neka istraživanja na sličnoj populaciji nisu dovela do istih zaključaka (95-97). Nedavna klinička studija je dokazala da koncentracije aldosterona u plazmi i 24-satnom urinu značajno koreliraju s AHI vrijednostima (98). Slični rezultati su objavljeni i u ranijoj studiji koja je pokazala da koncentracije plazmatskog aldosterona koreliraju s težinom OSA-e (99). Zanimljiv je nalaz studije Pepina i sur. koji su direktno usporedili terapiju CPAP uređajem s blokatorom angiotenzinskog II receptora tip 1, valsartanom, u smanjenju arterijskog tlaka u populaciji hipertenzivnih OSA bolesnika koji prethodno nisu bili na antihipertenzivnoj terapiji (100). Iako je u studiji CPAP značajno smanjio arterijski tlak, valsartan je postigao čak četiri puta veće smanjenje prosječnog 24-satnog arterijskog tlaka u odnosu na CPAP uređaj. Na temelju navedenih izvješća, opravdano je naglasiti da renin-angiotenzin-aldosteron sustav (RAAS) ima potencijalno važnu ulogu u patofiziologiji nastanka arterijske hipertenzije u OSA-i, posebice u mehanizmima nastanka rezistentne arterijske hipertenzije (RAH). Manje je poznata činjenica da je OSA zapravo najčešći uzrok sekundarne hipertenzije rezistentne na farmakološku terapiju (tzv. rezistentna hipertenzija ili engl. „*drug-resistant hypertension*“), kao i da je OSA najčešća etiološka podloga noćnog „*non-dipping*“ profila arterijskog krvnog tlaka (101-103).

U kontekstu studije koja je predstavljena u ovom diplomskom radu, valja naglasiti da su se u štakora koji su bili izloženi kroničnoj intermitentnoj hipoksiji razvili znakovi izraženog oksidativnog stresa koji je djelovao na reaktivnost simpatikusa i arterijsku hipertenziju posredstvom povećanog efluksa katekolamina (adrenalina i noradrenalina) (104). U navedenoj studiji predstavljeno je mehanicističko objašnjenje da je hipoksija djelovala kao podražaj u srži nadbubrežne žlijezde što je dovelo do formiranja superoksidnih aniona koji su patofiziološki uzrokovali značajno izlučivanje katekolamina u cirkulaciju. Kao potvrda tom objašnjenju autori navode nalaz da je sustavna administracija antioksidansnog sredstva u potpunosti abolirala učinak kronične intermitentne hipoksije na funkciju srži nadbubrega. Navedeno otkriće ide u prilog tezi da su hiperkatekolaminemija i hiperadrenergični „*milje*“ fenomeni prisutni u OSA-i, ali i da oksidativni stres i stvaranje slobodnih kisikovih radikala doprinose razvoju autonomne disregulacije i arterijske hipertenzije u OSA-i, što je i potvrđeno u drugim sličnim istraživanjima (105, 106). Važno je napomenuti da hipoksemija kao podražaj uzrokuje i aktivaciju vagalnog tonusa prema srcu dok se, paralelno, u većini ostalih vaskularnih struktura događa aktivacija potaknuta simpatikusom (tzv. „*ronilački refleks*“) (89). U nekih OSA

bolesnika to može dovesti do sinus bradikardije, atrioventrikularnog (AV) bloka pa čak i do asistolije što može zahtijevati implantaciju elektrostimulatora (107, 108).

Nadalje, važna je uloga sistemske upalne reakcije u patofiziologiji nastanka i/ili održavanja patofizioloških mehanizama u OSA-i (109). Tako je meta-analiza Nadeema i sur. pokazala da su razine sistemskih upalnih biomarkera značajno više u cirkulaciji bolesnika s OSA-om u odnosu na zdrave ispitanike (110). To se posebno odnosi na povišene razine C-reaktivnog proteina (engl. *C-reactive protein*, CRP), čimbenika tumorske nekroze alfa (engl. *tumor necrosis factor α* , TNF- α), interleukina 6 (IL-6), interleukina 8 (IL-8), međustanične adhezijske molekule (engl. *intercellular adhesion molecule*, ICAM), vaskularne stanične adhezijske molekule (engl. *vascular cell adhesion molecule*, VCAM) i selektina. Moguće da su upravo pojačano aktivni proupalni putevi stanične signalizacije potencijalna poveznica između OSA-e i kardiovaskularnih te cerebrovaskularnih morbiditeta, budući da je poznato da upalni mehanizmi potiču nastanak i progresiju ateroskleroze dok su povećane koncentracije upalnih parametara poput CRP-a, visoko-osjetljivog CRP-a (engl. *high-sensitivity C-reactive protein*, hs-CRP), interleukina 1 (IL-1) i drugih medijatora upalne reakcije nedvojbeno povezane s kardiovaskularnim rizicima i kliničkim incidentima u brojnim prethodnim studijama (111-115).

Također valja naglasiti da je u OSA bolesnika, u usporedbi s zdravim ispitanicima, značajno povišena aktivacija leukocita i trombocita što upućuje na pojačani imunološki odgovor i protrombotsku tendenciju organizma zahvaćenog OSA-om (116, 117).

U kompleksnoj patofiziologiji OSA-e zasigurno sudjeluje i oksidativni stres, koji preko multiplih signalnih staničnih puteva zajedno s prekomjernom simpatičkom aktivacijom i sistemskim upalnim odgovorom sačinjava fundamentalne etiološke mehanizme koji doprinose razvoju kardiovaskularnih, cerebrovaskularnih i drugih morbiditeta u OSA-i (118, 119).

Endotel kao ključna komponenta vaskularne homeostaze regulira procese vazokonstrikcije, vazodilatacije, intravaskularne koagulacije i upale. U tom kontekstu, neke studije navode i neovisnu vezu između OSA-e i endotelne disfunkcije (120, 121). U literaturi se kao potencijalni mehanizmi, na temelju pretkliničkih studija, navode: smanjena ekspresija endotelne sintetaze dušikovog oksida (eNOS), povećane razine nitrotirozina, smanjena proizvodnja i bioraspoloživost NO-a, hiperkoagulabilnost i proagregantno stanje krvi, smanjene razine antikoagulacijskih medijatora, povećana produkcija endotelina (potentnog sustavnog vazokonstriktora) i posljedična generalizirana vazokonstrikcija, pojačana proliferacija vaskularnog glatkog mišićja te smanjena sposobnost reparatorne funkcije endotela (122). Treba imati na umu da su svi navedeni mehanizmi međusobno isprepleteni i u složenoj patofiziološkoj

interakciji koja se u kontekstu OSA-e najčešće sumira pod zajedničku sliku oksidativnog stresa, pojačane reaktivnosti simpatičkog živčanog sustava te izraženog sistemskog upalnog odgovora.

Liječenje OSA-e

Glavna strategija u liječenju OSA-e je eliminacija noćnih događaja apneje i hipopneje te intermitentne hipoksije kao glavnog patofiziološkog supstrata. Liječenje se može temeljiti na pozitivnim promjenama ponašanja i životnog stila bolesnika u slučajevima blago simptomatske OSA-e te najčešće uključuje higijensko-dijetetske mjere poput gubitka tjelesne težine i povećanu tjelesnu aktivnost. Nadalje, za liječenje OSA-e mogu se koristiti farmakološki pripravci, medicinska pomagala poput uređaja koji isporučuju kontinuirani pozitivni tlak u dišnim putevima (CPAP) ili oralne (najčešće mandibularne) udlage te operativni kirurški zahvati (45).

CPAP je najučinkovitiji modalitet liječenja OSA-e koji dokazano smanjuje simptome umora i pospanosti te povećava kvalitetu života u pacijenata s umjerenom i teškom OSA-om (123). Jednako važno, CPAP smanjuje sve patološke parametre OSA-e kao što su epizode apneje/hipopneje, buđenja tijekom noći i hrkanje te postiže normoksiju, normalizira arhitekturu spavanja i srčani ritam/frekvenciju (124). Terapijske indikacije za njegovu uporabu određene su stupnjem tj. težinom bolesti koja se određuje na temelju AHI vrijednosti. CPAP ostvaruje svoj učinak na način da služi kao pneumatska potpora bolesniku i isporučuje pozitivni tlak (iznad kritične vrijednosti kolabiranja dišnog puta) tijekom noći te na taj način održava gornje dišne puteve prohodnima. Time se eliminiraju ili minimiziraju epizode intermitentne hipoksije i omogućava fiziološka izmjena plinova. Za svakog pacijenta potrebno je titrirati terapiju CPAP-om i namjestiti odgovarajući tlak. CPAP je u skladu s trenutno važećim pravilima Hrvatskog zavoda za zdravstveno osiguranje (HZZO) indiciran u svih pacijenata s AHI vrijednosti ≥ 30 , bez obzira na prisutnost komorbiditeta i/ili simptoma, a ukoliko je AHI vrijednost između 15 i 30, CPAP je indiciran uz prisutnost simptoma (pretjerana dnevna pospanost, smanjeno kognitivno funkcioniranje, poremećaji raspoloženja) i/ili uz prisutnost komorbiditeta poput arterijske hipertenzije i/ili pozitivne osobne anamneze na cerebrovaskularni incident ili kardiovaskularni incident, dok je u drugim europskim kao i svjetskim zemljama pravilo o kriterijima za propisivanje CPAP terapije različito regulirano (125). CPAP se većinom koristi u obliku nazalne maske, rjeđe u obliku nos-usta i preporučen je kao prva linija liječenja u pacijenata s umjerenom i teškom OSA-om (125, 126). Učinak CPAP uređaja je veći što je vrijeme noćne uporabe duže, a trebalo bi ga prema smjernicama

koristiti najmanje 4 sata svaku noć, dok se optimalnim smatra korištenje u vremenu od barem 6 sati tijekom svake noći (125).

U ostale modalitete liječenja OSA-e spadaju tzv. *pozicijska terapija* (položaj spavanja na leđima je nepovoljan i povezan s većim brojem apneja/hipopneja i zato ga je potrebno izbjegavati), oralne udlage, smanjenje tjelesne težine, barijatrijska kirurgija, kirurški zahvati koji ispravljaju anatomske nepravilnosti (poput uvulo-palatofaringoplastike i sl.), stimulacija *n. hypoglossusa*, te na kraju - edukacijske i bihevioralne intervencije (poput apstinencije od alkohola i pušenja, prestanak korištenja sedativa i modificiranje rizičnih ponašanja koja predisponiraju za nastanak OSA-e) (127, 128). Treba naglasiti da farmakološko liječenje nema važniju ulogu u liječenju OSA-e i nije pokazalo dostatnu učinkovitost dok se dentalna pomagala poput mandibularnih udlaga generalno preporučuju u pacijenata koji imaju umjerenu OSA-u, a ne podnose i/ili ne žele terapiju CPAP-om (129).

1.4. OSA i komorbiditeti

Kao što je već ranije naglašeno u tekstu, OSA je kompleksno patološko stanje koje je patofiziološki isprepleteno s brojnim komorbiditetima koji mogu uzrokovati/pogoršavati OSA-u, kao i što sama OSA može uzrokovati/pogoršavati navedene komorbiditete. Situaciju dodatno komplicira i spoznaja da OSA i brojni drugi komorbiditeti dijele mnogo istih čimbenika rizika. Na primjeru OSA-e se najbolje može primjeniti teorija o „*začaranom krugu*“ tj. „*circulusu vitiosusu*“ jer istodobno postojanje više patoloških stanja u različitim organskim sustavima dovodi do pogoršanja onog slijedećeg koje onda po principu povratne sprege pogoršava ono prethodno i na taj način generira zatvoreni krug patoloških zbivanja koja, ako se ne prepoznaju i ne liječe, dovode do progresivnog narušavanja homeostaze i loših kliničkih ishoda.

Jedno presječno istraživanje na OSA populaciji je pokazalo da je 56,2% pacijenata s blagom, 67,6% s umjerenom i 70% s teškom OSA-om imalo značajne i klinički verificirane komorbiditete (130). Među najčešćim komorbiditetima OSA populacije u toj studiji (poredanih po učestalosti od veće prema manjoj) bili su: arterijska hipertenzija, pretilost, depresija, GERB, dijabetes, hiperkolesterolemija i astma. Studija koja je uključila impozantan broj ispitanika, a koja je analizirala komorbiditete u OSA-i posredstvom računalne metode rudarenja podataka (engl. *data mining*) pokazala je da u OSA-i dominiraju kardiovaskularni, endokrinološko-metabolički i respiratorni komorbiditeti (131). Po toj studiji, u OSA-i su bili prisutni slijedeći

komorbiditeti (od veće učestalosti prema manjoj): esencijalna hipertenzija, pretilost, hiperkolesterolemija, dijabetes tipa II, sadašnje ili bivše pušenje i koronarna bolest srca.

OSA je u mnogobrojnim istraživanjima neovisno povezana s velikim brojem kardiovaskularnih morbiditeta kao što su arterijska hipertenzija, plućna hipertenzija, koronarna bolest, fibrilacija atrija, bradiaritmije, ventrikularne aritmije, ishemijski moždani udar i povećana arterijska krutost (132-139). Shah i sur. dokazali su neovisnu povezanost OSA-e s značajnim rizikom za nastanak akutnog koronarnog sindroma (engl. *acute coronary syndrome*, ACS) i smrću od kardiovaskularnih uzroka, prilagođenih za tradicionalne zbunjujuće faktore (140). Također, sve veći broj prospektivnih i retrospektivnih studija ukazuje na neovisnu povezanost OSA-e s značajno povećanim rizikom za srčano zatajenje i ishemijsku bolest srca (141-143). Poznata je i činjenica da bolesnici s koronarnom bolešću srca imaju oko dva puta veću učestalost OSA-e u odnosu na zdravu populaciju, a patofiziološka zbivanja poput hipoksemije, acidoze, simpatičke vazokonstrikcije te promjene u intratorakalnom tlaku mogu biti okidač koronarnog incidenta (144). Studija Kendzerske i sur. u kojoj je opisana kohorta bolesnika s OSA-om koji su praćeni čitavo desetljeće također je ukazala na značajnu povezanost OSA-e s kardiovaskularnim incidentima i općim mortalitetom (18).

Mnoga istraživanja su nedvosmisleno i čvrsto utvrdila da OSA nosi značajan kardiom metabolički rizik, posebice u podgrupi OSA bolesnika koji su pretili i imaju metabolički sindrom što je zapravo većina te populacije (145). Po nekim suvremenim navodima, prevalencija metaboličkog sindroma u OSA bolesnika je izrazito visoka i iznosi oko 60% (10). Prevalencija OSA-e je posebno visoka u bolesnika s pretilošću i dijabetesom te u onih s morbidnom pretilošću (146, 147).

U smislu štetnih metaboličkih učinaka, OSA ima neovisnu ulogu u razvoju inzulinske rezistencije, dijabetesa, endokrine disregulacije u vidu mehanizama lučenja kortizola te dislipidemije (148-152). Iako se na temelju navedenih dokaza može nedvosmisleno zaključiti da je OSA neovisno povezana s dijabetesom, patofiziološki mehanizmi i interakcije između te dvije bolesti su kompleksni i nisu sasvim razjašnjeni. Neke studije sugeriraju važnost učinaka intermitentne hipoksije koja je na životinjskim modelima izazvala hiperglikemiju, intoleranciju glukoze te inzulinsku rezistenciju, dok je u zdravih budnih ispitanika intermitentna hipoksija izazvala inzulinsku rezistenciju i oštećenu funkciju β -stanica Langerhansovih otočića gušterače (153-155).

OSA može koegzistirati i s KOPB-om i time činiti tzv. „*overlap*“ sindrom koji je povezan s lošim kliničkim sekvelama i povećanim mortalitetom (156, 157).

Također su dobro dokumentirane interakcije poremećaja u spavanju i gastrointestinalnog sustava. Utvrđena je značajna povezanost između GERB-a i OSA-e i čini se da je ta veza dvosmjerna. OSA može pogoršati simptome GERB-a, dok GERB može pogoršati poremećaje spavanja (158). Patofiziološki, tijekom epizode apneje dolazi do povišenog negativnog intratorakalnog tlaka i hiperventilacije što može izazvati noćnu regurgitaciju želučane kiseline. Istraživanja su pokazala da je uslijed poremećaja u spavanju smanjen klirens želučane kiseline, uključujući mehanizme gutanja, salivacije i primarnog ezofagealnog motiliteta čime se prolongira kontakt kiseline sa sluznicom jednjaka (158, 159).

Konačno, nije nevažno spomenuti da OSA utječe i na kognitivne, psihološke i psihomotorne funkcije u čovjeka te je povezana s anksioznošću, depresijom i narušenim psihosocijalnim zdravljem (160-162).

1.5. OSA i metabolizam lipida

Studije provedene na životinjskim modelima konzistentno potvrđuju da kronična intermitentna hipoksija sudjeluje u nastanku dislipidemije, kako u pretilim, a tako i u vitkim (engl. *lean*) mišjim modelima (163). Tako je u vitkim mišjim modelima intermitentna hipoksija djelovala na povećanje razina sterol-regulatornog elementa vežućeg proteina 1 (engl. *sterol regulatory element binding protein 1*, SREBP-1) u jetri te je na taj način povećala mRNA ekspresiju i razine proteina stearyl-koenzim A desaturaze (engl. *stearyl-coenzyme A desaturase*, SCD-1), proteina koji igra važnu ulogu u biosintezi triglicerida i fosfolipida, a istodobno su se povećale i razine mononezasićenih masnih kiselina u perifernoj cirkulaciji. Važno je posebno istaknuti ulogu SREBP-1, molekule koja ima fiziološku ulogu vrhovnog regulatora biosinteze lipida u jetri (164, 165). Intermitentna hipoksija je također smanjila cirkulirajuće razine proteina „čistača“ receptora B1 (engl. *scavenger receptor B1*, SRB1) koji regulira preuzimanje kolesterolskih estera i lipoproteina visoke gustoće iz periferne cirkulacije (engl. *high-density lipoprotein*, HDL), odnosno služi kao receptor za HDL-kolesterol (163). Zaključak je bio da intermitentna hipoksija značajno povećava razine serumskog kolesterola i fosfolipida, potiče signalne puteve biosinteze triglicerida i fosfolipida i inhibira preuzimanje kolesterola u jetri u životinja koje su bile vitke, ali bez egzacerbacije već postojeće

hiperlipidemije i metaboličke disregulacije u životinja koje su imale eksperimentalno induciran fenotip pretilosti s deficitom leptina.

Slična studija je pokazala da intermitentna hipoksija pogoršava preegzistirajuću masnu bolest jetre i u bazalno pretilih životinja te da potiče signalne puteve biosinteze lipida u jetri (166). Uloga SCD-1 u nastanku dislipidemije je još jednom potvrđena u studiji Savranskog i sur. koji su dokazali da je deficit SCD-1 uzrokovao poboljšanje dislipidemije i ateroskleroze uzrokovane intermitentnom hipoksijom što je potvrdilo prijašnje nalaze i definitivno ukazalo da povišene razine SCD-1 igraju patofiziološku ulogu u poremećajima metabolizma lipida (167). Povećana ekspresija hepatalnog SCD-1 je dokumentirana kako u miševa tako i u ljudskih ispitanika te je čvrsto korelirala sa stupnjem težine noćne hipoksemije. Ista studija je pokazala da su ispitanici s desaturacijama oksihemoglobina tijekom noći imali veće plazmatske razine triglicerida i lipoproteina niske gustoće (engl. *low-density lipoprotein*, LDL) u odnosu na ispitanike bez hipoksemije. Konačno, intermitentna hipoksija povećava aktivnost hipoksijom induciranog faktora 1 (engl. *hypoxia-inducible factor-1*, HIF-1) koji u jetri aktivira već opisane regulatore lipogeneze, SREBP-1 i SCD-1 (163).

Može se zaključiti da kronična intermitentna hipoksija dovodi do modulacije jetrenih gena koji su uključeni u lipogenezu, povećava aktivnost i koncentracije HIF-1, SREBP-1 i SCD-1, uz paralelni porast parametara oksidativnog stresa, upale i simpatičke aktivnosti čime patofiziološki dolazi do *neto* efekta peroksidacije masnih kiselina i povišenih razina lipoproteina te u konačnici razvoja dislipidemije (168, 169).

U kliničkom randomiziranom ispitivanju Phillipsa i sur. dokazano je da je liječenje teške OSA-e s CPAP uređajem značajno poboljšalo postprandijalne koncentracije triglicerida i ukupnog kolesterola što je važan benefit budući da su ta poboljšanja bila direktno povezana s boljim kardiovaskularnim ishodima (170). Autori su stoga zaključili da je dislipidemija i učinak OSA-e na lipide potencijalna poveznica između OSA-e i kardiovaskularnih bolesti. Međutim, kasnije je velika *SAVE* studija pokazala da CPAP nije značajno poboljšao kardiovaskularne ishode u bolesnika s umjerenom i teškom apnejom (171). Nadalje, meta-analiza randomiziranih kliničkih ispitivanja koja je zbirno istražila povezanost liječenja CPAP uređajem i lipidnog profila pacijenata s OSA-om zaključila je da je CPAP značajno smanjio koncentracije ukupnog kolesterola na analiziranoj populaciji, posebice u podskupini mlađih, više pretilih bolesnika i onih koji su koristili CPAP duže vremena. Međutim, nije dokazan značajan učinak CPAP-a na izmjerene koncentracije triglicerida, LDL-kolesterola i HDL-kolesterola čime je uloga CPAP-a u moduliranju lipidnog metabolizma dovedena u pitanje (172). Druga meta-regresijska analiza

je, međutim, došla do sasvim suprotnih zaključaka kad su u pitanju liječenje CPAP-om i metabolizam lipida (173). Na kraju, patofiziološka uloga adipocita i endokrina uloga visceralnog masnog tkiva u dislipidemiji kod pacijenata s OSA-om nije sasvim razjašnjena (174, 175).

Velike epidemiološke analize zaista jesu pokazale da OSA bolesnici imaju značajno veću prevalenciju dislipidemije u smislu značajno viših koncentracija ukupnog kolesterola, LDL-kolesterola i triglicerida te značajno manje razine HDL-kolesterola, u odnosu na ispitanike bez OSA-e (150). Na temelju dostupnih dokaza jasno je da između OSA-e i dislipidemije postoji povezanost, no taj patofiziološki odnos je vjerojatno mnogo kompleksniji nego što se ranije smatralo. U vidu toga, ostaje za utvrditi da li su parametri lipidnog statusa neovisno povezani s OSA-om, tj. da li je moguće isključiti da na njih utječu neki drugi zbunjujući faktori, komorbiditeti ili patološka stanja koja se zbivaju konkomitatno s OSA-om ili sama neovisno patofiziološki propagiraju efekte OSA-e, a nisu direktno mjerena u studijama.

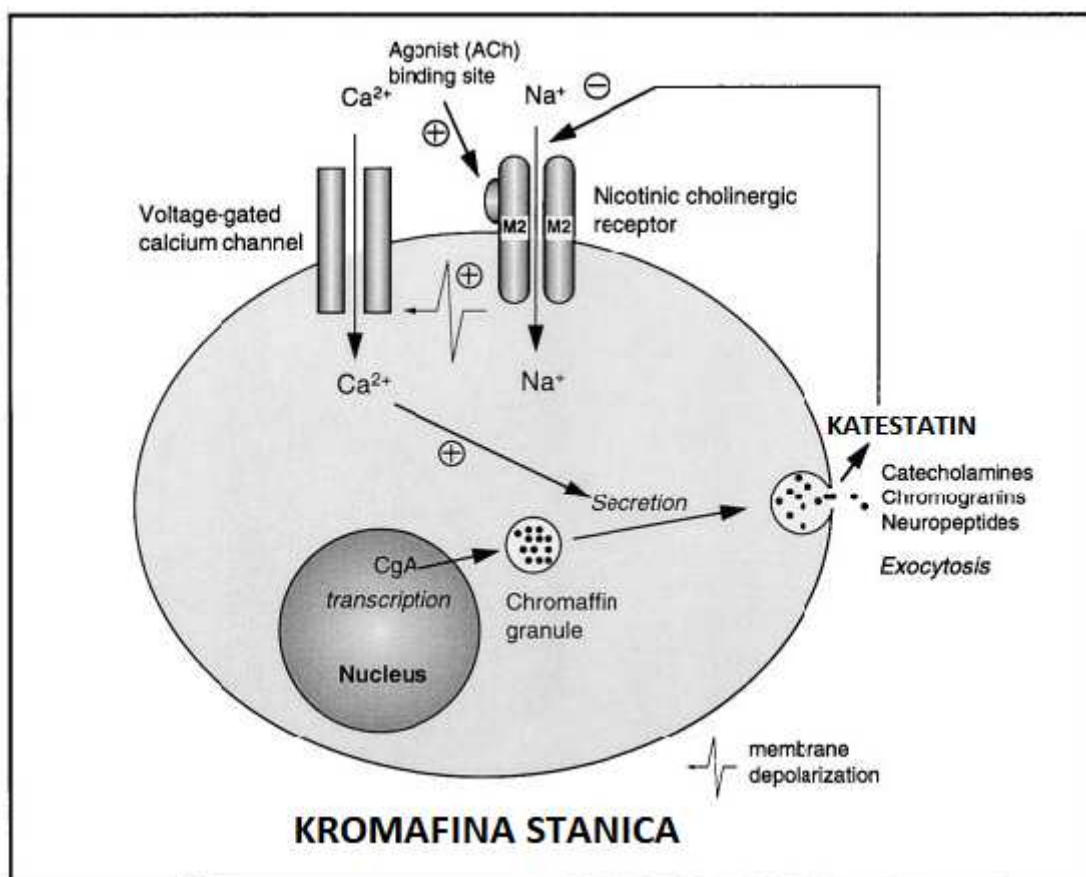
Zaključno, osim elaboriranog mehanizma kronične intermitentne hipoksije, još uvijek nije sasvim poznato preko kojih mehanizama OSA direktno i kauzalno utječe na nastanak dislipidemije te utječe li neovisno na metabolizam lipida, stoga su u toj perspektivi potrebne nove bazične i translacijske studije usmjerene ka razotkrivanju potencijalnih mehanizama nastanka i perpetuiranja dislipidemije u OSA-i (176, 177).

1.6. Katestatin – pleiotropni neuroendokrini peptid

Humani katestatin (engl. *catestatin*, CST) je endogeni funkcionalni peptid s pleiotrofnim učincima koji ima regulacijsku ulogu u različitim organskim sustavima. Po prvi puta je izoliran i opisan 1997. godine u važnoj studiji Mahate i suradnika koji su zaključili da katestatin kao fragment kromogranina A (engl. *chromogranin A*, ChgA) ima inhibitornu ulogu u sekreciji katekolamina putem nekompetitivnog i reverzibilnog antagonizma nikotinskih kolinergičkih receptora (engl. *nicotinic acetylcholine receptors*, nAChR) (178). Na taj način je otkriven novi put autokrine i homeostatske regulacije koja putem fiziološkog mehanizma negativne povratne sprege kontrolira izlučivanje katekolamina u cirkulaciju iz kromafinih (feokromnih) stanica srži nadbubrežne žlijezde i neurona. Smatra se da, s farmakodinamske točke gledišta, katestatin inhibira nAChR i na taj način snažno blokira signalni put koji je posredovan ulaskom kationske struje u stanicu (posredovane Na^+ i Ca^{2+} ionima) (179).

U središnjem živčanom sustavu (SŽS) katestatin, međutim, ima učinke slične djelovanju acetilkolina što je u suprotnosti s njegovim djelovanjem na periferiji što pak ukazuje na kompleksnost njegove uloge i na potrebu za daljnjom elucidacijom njegovih mehanizama. Tako je u studiji Gaedea i sur. injekcija katestatina u kaudalnu ventrolateralnu medulu vagotomiranog štakora izazvala smanjenje arterijskog tlaka, sniženje srčane frekvencije i simpatičke živčane aktivnosti kao i smanjenje amplitude aktivnosti freničkog živca (180). Osim što katestatin luče neuroendokrina tkiva i živčani završetci, dokazana je njegova prisutnost i u sekretornim granulama kože, osjetnim organima te u srčanom mišiću (179). Strukturno, katestatin je hidrofobni termostabilni peptid sačinjen od slijeda 21 aminokiseline, a nastaje proteolitičkim izvanstaničnim i intragranularnim cijepanjem acidofilne molekule ChgA na dibazičnim mjestima, konačno sačinjavajući humani fragment ChgA₃₅₂₋₃₇₂.

Mehanizam djelovanja katestatina na kromafinu stanicu te učinak inhibicije na sekreciju katekolamina prikazani su na Slici 2.



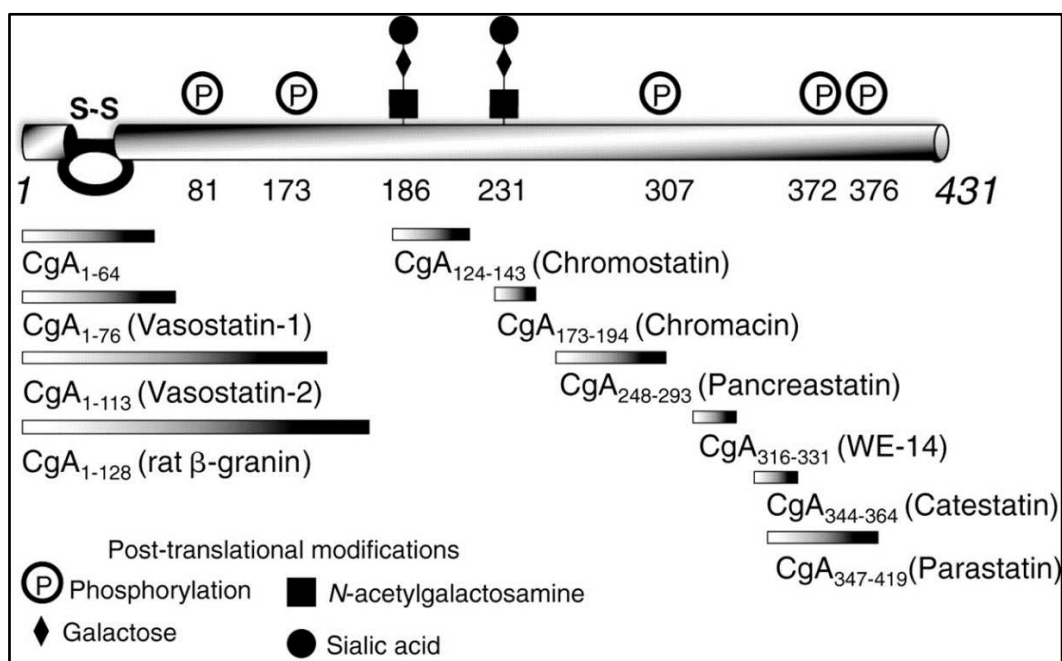
Slika 2. Mehanizam djelovanja katestatina na sekreciju katekolamina iz kromafinih stanica. Fiziološki sekretagog za kromafine stanice je acetilkolin koji djeluje na neuronski tip nikotinskih kolinergičnih receptora (nAChR). Takav receptor je ionotropan te pri aktivaciji ligandom omogućava ulazak Na^+ iona u citosol što depolarizira staničnu membranu i omogućava ulazak Ca^{2+} iona kroz voltažne kalcijske kanale. Posljedično, dolazi do egzocitoze peptida i proteina iz stanice, samim time i katestatina koji po principu negativne povratne sprege modulira sekreciju katekolamina iz kromafinih stanica

Kratice: Ach – acetilkolin; CgA – kromogranin A; M2 – domena kationskog kanala nikotinskog kolinergičnog receptora

(Slika preuzeta iz: Mahata SK, O'Connor DT, Mahata M, Yoo SH, Taupenot L, Wu H, i sur. Novel autocrine feedback control of catecholamine release. A discrete chromogranin a fragment is a noncompetitive nicotinic cholinergic antagonist. J Clin Invest. 1997;100:1623-33.)

Kromogranin A (ChgA)

S patofiziološkog stajališta je potrebno sagledati i versatilnu ulogu ChgA, kao prekursorske molekula katestatina. ChgA je neuroendokrini polipeptid molekularne mase od 48 kilodaltona (kDa), *in vivo* poluvijek u plazmi od 18 minuta, koji pripada obitelji kromogranina-sekretogranina, a nalazi se u jezgri vezikula koje pohranjuju katekolamine unutar kromafinih stanica i postganglijskih simpatičkih aksona (181, 182). Sami ChgA je pohranjen i otpušten iz istih sekretornih vezikula koje se nalaze unutar kromafinih stanica i noradrenergičnih neurona, a njegova ekspresija pozitivno korelira s količinom sekretornih zrnaca (183, 184). Važno je istaknuti da ChgA zbog svoje kemijske strukture ima ulogu prohormona te da u biosintezi katestatina sudjeluju još izvanstanični enzimi trombin i plazmi te unutarstanični enzimi prohormon konvertaza i katepsin L (185). Ovisno o lokaciji proteolize, ChgA omogućava nastanak nekoliko fiziološki aktivnih peptida kao što su pankreastatin (engl. *pancreastatin*), antimikrobni peptid prokromacin (engl. *prochromacin*), vazodilatatorni peptid vazostatin (engl. *vasostatin*), parastatin (engl. *parastatin*), serpinin (engl. *serpinin*), beta-granin (engl. *beta-granin*), protein WE-14 te protein GE-25 (185) (Slika 3).



Slika 3. Molekula kromogranina A kao preteča brojnih biološki aktivnih peptida od važnog fiziološkog i patofiziološkog značaja

(Slika preuzeta iz: Tota B, Cerra MC, Gattuso A. Catecholamines, cardiac natriuretic peptides and chromogranin A: evolution and physiopathology of a 'whip-brake' system of the endocrine heart. J Exp Biol. 2010;213:3081-103.)

U kliničkoj praksi se ChgA najčešće koristi kao biološki marker prisustva feokromocitoma, karcinoidnih tumora i neuroendokrinih tumora jer su njegove razine u perifernoj krvi povećane u navedenim patološkim stanjima (186-190). Zanimljivo je i to da su razine ChgA u cirkulaciji povišene u bolesnika s kroničnim srčanim zatajenjem (engl. *chronic heart failure*, CHF) te nakon akutnog infarkta miokarda (engl. *acute myocardial infarction*, AMI) dok je studija Estensena i sur. pokazala da razine ChgA pozitivno koreliraju s težinom kliničke slike kod bolesnika sa srčanim zatajenjem, bez obzira je li zatajenje kroničnog tijeka ili akutne, najčešće post-infarktne, etiologije (191-193). Ova zapažanja mogu se djelomično objasniti rezultatima studije Pieronija i suradnika, a koja je provedena na *post-mortem* patohistološkim preparatima srčanog tkiva je kirurški bioptirano iz preminulih bolesnika s dilatativnom ili hipertrofičnom kardiomiopatijom (194). Ova inovativna studija je po prvi put pokazala da tkivo miokarda aktivno luči ChgA čije su koncentracije značajno povišene ne samo u cirkulaciji srčanih bolesnika već i u bioptatima srčanog tkiva u patološki remodeliranom miokardu, u odnosu na zdravi miokard i zdrave ispitanike. Ista studija je pokazala da ChgA ima negativno inotropno i luzotropno djelovanje na miokard sisavaca što je prometnulo ChgA u važnog igrača u kompleksnoj kaskadi neuroendokrine regulacije srčane funkcije (195). Ta uloga je posebno važna u stanjima intenzivnog ekscitacijskog stresa kojem je izložen miokard i u takvim uvjetima peptidi koji su derivirani iz ChgA-a zajedno s srčanim natriuretskim peptidima nastoje orkestrirati efikasnu kardioprotekciju i „*uvesti red*“ u poremećenu homeostazu miokarda i autonomnu disfunkciju (196, 197). Autori Di Comite i Morganti su iz tih razloga okarakterizirali ChgA kao „*novi faktor koji djeluje na raskrižju između neuroendokrinog i kardiovaskularnog sustava*“ (198).

Zaključno, razne studije su pokazale da ChgA kao biomarker koji je mjerljiv u perifernoj cirkulaciji ima potencijalnu dijagnostičku i prognostičku ulogu u čitavom spektru različitih patoloških stanja, od neuroendokrinih tumora, metaboličkih bolesti poput dijabetesa, kardiovaskularnih i gastrointestinalnih bolesti pa sve do sustavnih upalnih bolesti i stanja (199, 200).

Jednom kada se katestatin posttranslacijskom proteolizom odvoji od kromograninske molekule, važno je istaknuti da on djeluje pleiotropno i multifunkcionalno što znači da svoje učinke propagira autokrinim, parakrinim i endokrinim djelovanjem. Uz već elaborirano simpatoinhibitorno djelovanje na periferiji i prokolinergične efekte u SŽS-u, katestatin ima opće inhibitorne učinke na egzocitozu multiplih kotransmiterskih proteina iz kromafinih granula, a koji se pokreću posredstvom kolinergičnih signalnih puteva. U tom smislu najviše se

ističe supresivno djelovanje katestatina na lučenje zrnaca neuropeptida Y (NPY) i adenozin trifosfata (ATP) (201).

Katestatin i vaskularni sustav

Kada se zajedno analiziraju rezultati trenutačno dostupnih studija može se zaključiti da katestatin djeluje vazodilatatorno.

Tako je *in vivo* studija Funga i sur. pokazala da je egzogeno administrirani katestatin izazvao direktnu i progresivnu vazodilataciju periferne vene kojoj je prethodno inducirana vazokonstrikcija uporabom selektivnog alfa-1 agonista, fenilefrina. Katestatin je izazvao direktnu vazodilataciju na način ovisan o dozi (engl. *dose-dependent*) i taj je efekt bio izraženiji u ženskih ispitanika u odnosu na muškarce (202). U pretkliničkom eksperimentu, transgenični miš kojem je eksperimentalno induciran *knock-out CHGA* gena (*CHGA* $-/-$) razvio je biološki fenotip hipertenzije koji se očitovao smanjenim brojem i veličinom kromafinih granula, povišenim arterijskim tlakom, gubitkom diurnalnih varijacija u arterijskom tlaku te povećanom masom i kavitetom lijevog ventrikula (LV) (203). Nadalje, smanjile su se koncentracije nadbubrežnih katekolamina, NPY-a i ATP-a uz konkomitantno povećanje omjera katekolamini/ATP u kromafinim granulama i značajan porast razina katekolamina i NPY-a u perifernoj cirkulaciji. U istom eksperimentu egzogeno primjenjen katestatin je normalizirao arterijski tlak što sugerira njegovu važnu ulogu fiziološkog „kočničara“ autonomne disregulacije koja, ukoliko dovoljno dugo „divlja“ bez prisutne kontraregulacije katestatina, konačno prelazi u hipertenziju. Treba spomenuti i da postoje određeni jednonukleotidni polimorfizmi (engl. *single-nucleotide polymorphism*, SNP) gena za katestatin poput varijante *Gly364Ser* koja posredstvom eNOS signalnog puta nosi povišeni rizik za hipertenziju u određenim etničkim populacijama, iako studije provedene u nekim drugim populacijama pružaju suprotne zaključke (204, 205).

Uz sve navedeno, treba naglasiti da patofiziološka uloga katestatina nije sasvim razjašnjena u kliničkim studijama koje se bave arterijskom hipertenzijom. Dugo je poznata činjenica da prekomjerna aktivnost simpatikusa ima ključnu ulogu u homeostatskim mehanizmima regulacije arterijskog tlaka te da je aktivacija simpatoadrenalnog sustava prepoznata kao važna karika u lancu nastanka esencijalne hipertenzije (206). Međutim, studije koje se bave ovom problematikom u kontekstu katestatina zasada prijavljuju različite rezultate. Tako su u bolesnika s esencijalnom hipertenzijom utvrđene niske razine cirkulirajućeg katestatina te su autori postavili patofiziološku tezu da smanjene koncentracije katestatina

potencijalno odražavaju ranu ili subkliničku fazu razvoja hipertenzije te zbog toga njihova vrijednost može služiti kao svojevrsni prediktor rizika za kasniju, manifestnu hipertenziju (207). U istoj studiji su niske razine katestatina uvjetovale pojačani odgovor na adrenergičnu stimulaciju. Suprotno ovim nalazima, studija Menga i sur. pokazala je da su hipertoničari imali značajno više koncentracije katestatina i noradrenalina u odnosu na zdrave ispitanike dok je omjer katestatina i noradrenalina bio značajno niži u hipertenzivnih ispitanika u odnosu na zdrave kontrole (208). Navedeno istraživanje je ukazalo i na moguću ulogu katestatina u razvoju hipertrofije LV s obzirom na značajno smanjen omjer katestatina i noradrenalina u hipertoničara s ehokardiografski potvrđenim nalazom hipertrofije LV. Slični rezultati su objavljeni u novijoj studiji provedenoj na populaciji neliječenih pacijenata s arterijskom hipertenzijom koji nisu imali značajnu sustavnu, vaskularnu ili koronarnu srčanu bolest (209). U toj studiji su plazmatske koncentracije katestatina bile značajno više u hipertenzivnih ispitanika u odnosu na zdrave kontrolne ispitanike ($2,27 \pm 0,83$ vs. $1,92 \pm 0,49$ ng/mL; $P=0,004$), iako je taj rezultat izgubio statističku signifikantnost kada je prilagođen za zbunjujuće faktore dobi, spola, visine i težine. Zanimljivo je još navesti da su, u skupini pacijenata, ženski ispitanici imali više koncentracije katestatina u odnosu na muškarce dok je na ukupnom uzorku masa LV negativno korelirala s plazmatskim koncentracijama katestatina. Nadalje, ova studija nije pokazala značajnu povezanost katestatina s mjerenim vaskularnim parametrima poput prosječnog zadebljanja kompleksa intime i medije (engl. *intima-media thickness*, IMT) karotidnih arterija i dilatacije brahijalne arterije izazvane protokom (engl. *flow-mediated dilation*, FMD).

Inače se smatra da je vazodilatacijski učinak katestatina posredovan mehanizmom aktivacije mastocita preko G-protein/PLC (engl. *phospholipase C*)/MAPK (engl. *mitogen-activated protein kinase*) signalnog puta što rezultira otpuštanjem histamina koji onda dilatira krvožilje i djeluje hipotenzivno (210, 211). Na temelju rezultata navedenih studija moglo bi se zaključiti da katestatin djeluje po principu negativne povratne sprege i luči se paralelno s kvantitetom „influksa“ katekolamina u cirkulaciju te na taj način pokušava održati i/ili obnoviti homeostazu autonomnog živčanog sustava.

Implicirana je i uloga katestatina u nastanku i razvoju novih krvnih žila i kolaterala. Naime, posredstvom osnovnog-fibroblastnog čimbenika rasta (engl. *basic-fibroblast growth factor*, bFGF) i mehanizmom ovisnim o MAP kinazi, katestatin je djelovao proangiogeno te je povećao perfuziju i broj novostvorenih kapilara u animalnom modelu ishemije uda (212). Uz poticanje angiogeneze, katestatin je povećao gustoću arteriolarne i arterijske mreže i

koncentraciju endotelnih progenitorskih stanica na mjestu lezije što je pokazalo da ima ulogu i u indukciji arteriogeneze i postnatalne vaskulogeneze. Katestatin potiče i proliferaciju glatkih mišića vaskulature (engl. *vascular smooth muscle cells*, VSMCs) i to posredstvom signalnog puta kalcij/kalcineurin/nuklearni faktor aktiviranih T stanica (engl. *nuclear factor of activated T cells*, NFAT) (213). Neke kliničke studije potvrđuju navedene učinke katestatina u razvoju krvožilne mreže. Tako je studija Xua i sur. pokazala da plazmatske koncentracije katestatina koreliraju s razvijenošću koronarne kolateralne mreže u bolesnika s kroničnom totalnom okluzijom (engl. *chronic total occlusion*, CTO) koronarnih arterija, iako ista studija nije dokazala značajnu povezanost katestatina i vaskularnog endotelnog čimbenika rasta (engl. *vascular endothelial growth factor*, VEGF) (214). Nadalje, prekursor katestatina, ChgA, djeluje kao svojevrsni Janus posjedujući istodobno proangiogena i antiangiogena svojstva, a ovisno o prisustvu molekule trombina i mjesta gdje će trombin izvršiti proteolitičko cijepanje, ChgA će manifestirati svoj efektivni vaskularni učinak (215, 216).

Katestatin i srce

Uloga katestatina u kardiovaskularnom sustavu toliko je izražena da ga znanstvenik koji ga je otkrio, Sushil K. Mahata naziva „*vrhovnim regulatorom kardiovaskularne funkcije*“ (217). Posljednjih godina je prepoznata vrijednost katestatina kao molekule koja ima patofiziološke implikacije u različitim akutnim i kroničnim srčanim bolestima poput arterijske hipertenzije, akutnog koronarnog sindroma, srčanog zatajenja, ishemijsko-reperfuzijske ozljede i drugih (218-220).

U zdravom miokardu, katestatin djeluje kardiosupresivno u smislu negativnog djelovanja na srčanu inotropnost i luzitropnost (221, 222). Smanjenje inotropije katestatin postiže ovisno o dozi i to redukcijom udarnog volumena (engl. *stroke volume*, SV) i udarnog rada (engl. *stroke work*) putem mehanizma regulacije utoka intracelularnog kalcija (Ca^{2+}) koji pak ima ulogu glavnog glasnika u kontrakciji i relaksaciji miocita (223). Naime, katestatin inhibira fosforilizaciju fosfolambana (engl. *phospholamban*, PLB) za kojeg je otprije poznato da u nefosforiliziranom stanju djeluje inhibitorno na kalcijsku ATP-azu (SERCA2a), tj. kalcijsku pumpu sarkoplazmatskog retikuluma (SR), dok se ta inhibicija gubi kada je PLB fosforiliziran. Zaključno, katestatin inhibicijom fosforilizacije PLB-a smanjuje utok kalcija u SR i na taj način smanjuje luzitropni odgovor kojeg propagiraju β -adrenergični agonisti dok smanjenje aktivnosti SERCA-e istodobno dovodi i do reducirane raspoloživosti intracelularnog kalcija unutar miocita za vrijeme transdukcije signala čime se konačno smanjuje kontraktilnost

(negativni inotropni učinak). U istom *ex vivo* eksperimentu na žabljem srcu, Mazza i sur. su dokazali da je katestatin nekompetitivnom inhibicijom poništio pozitivne inotropne i luzitropne učinke izoproterenola, neselektivnog agonista β -adrenergičnih receptora, kao i pozitivni inotropni učinak endotelina-1 (engl. *endothelin 1*, ET-1). Na temelju tih saznanja, autori su zbirno zaključili da antagonističke učinke naspram β -adrenergičkih i endotelinskih B receptora katestatin postiže autokrinom i parakrinom modulacijom srčane funkcije, a to posebice dolazi do izražaja u srcu koje je pod opterećenjem i koje je „bombardirano“ adrenergičnom i endotelinskom stimulacijom (223).

Nadalje, uz već elaborirane mehanizme djelovanja na PLB, katestatin postiže negativne inotropne i luzitropne učinke blokadom β_2 i β_3 adrenergičnih receptora, s većim afinitetom za β_2 adrenergične receptore (224). U sličnoj studiji, Angelone i sur. su pokazali da uz kardioinhibiciju endotelinskih i β -adrenergičnih učinaka, katestatin smanjuje i koronarnu vazokonstrikciju i povećava dijasolički perfuzijski tlak koronarnih arterija (221). U interakciji s β_2 receptorom, katestatin konkomitantno aktivira fosfatidil-inozitol 3-kinazu (engl. *phosphatidylinositide 3-kinase*, PI3K) i time povećava aktivnost eNOS-a čime se stvara povećana bioraspoloživost cikličnog gvanozin monofosfata (engl. *cyclic guanosine monophosphate*, cGMP) i posljedično dolazi do povećane aktivacije fosfodiesteraze tipa 2 (engl. *phosphodiesterase type 2*, PDE2). Konačno, PDE2 djeluje kao važan medijator antiadrenergičnog djelovanja katestatina na način da smanjuje intracelularnu koncentraciju cikličnog adenozin monofosfata (engl. *cyclic adenosine monophosphate*, cAMP) unutar kardiomiocita. Nadalje, preko povećane ekspresije eNOS-a u srčanom tkivu i endotelnim stanicama ljudske umbilikalne vene, katestatin postiže i vazodilatacijski učinak (224). Angelone i sur. su također dokazali da je preko pojačavanja mehanizma S-nitrozilacije srčanih proteina fosfolambana i β -arestina, katestatin modulirao razine intracelularnog kalcija i odgovor miocita na β -adrenergične podražaje. Iz tih otkrića proizlazi da povećanje aktivnosti PDE2 i mehanizam S-nitrozilacije srčanih proteina, potaknuto katestatinom, igraju glavnu ulogu u regulaciji srčane funkcije. Bassino i sur. su potvrdili da katestatin potencira svoje antiadrenergične učinke posredstvom endotelnog PI3K-Akt-eNOS signalnog puta (225).

Na temelju svih prethodno opisanih mehanizama, može se reći da katestatin, kojeg lokalno luči i miokard, djeluje kardioprotektivno i ima ulogu zaštite srca od prekomjerne sistemske i/ili intrakardijalne adrenergične ekscitacije.

Međutim, katestatin ima i sposobnost modulacije srčane inotropije, luzotropije i koronarne vazomocije kroz mehanizme ovisne o NO-u i tu postiže različit hemodinamski učinak u odnosu na prethodno opisane mehanizme (226). Frank-Starlingov zakon je jedan od temeljnih zakona u kardiovaskularnoj fiziologiji koji opisuje odnos između predopterećenja (engl. *preload*) i srčanog rada te ukazuje da je sistolička kontraktilna sposobnost srca proporcionalna volumnom opterećenju na kraju faze relaksacije (dijastole), neposredno prije sistoličke kontrakcije. Tako je katestatin na uzorku animalnih modela hipertenzije, ali i normotenzije, značajno povećao osjetljivost Frank-Starlingova refleksa na srcima štakora. U navedenoj studiji je taj efekt postignut kroz povećanu aktivnost eNOS/NO/cGMP signalnog puta, a prethodno spomenuti mehanizam S-nitrozilacije značajno je korelirao s pozitivnim promjenama u Frank-Starlingovom refleksu (226). Mazza i suradnici su dalje precizirali odnos katestatina i NO-a na modelu žabljeg srca (227). U toj studiji je utvrđeno da regrutacija NO-a ovisi o endokardnom endotelu koji mora imati sačuvani funkcionalni integritet da bi se omogućili povoljni učinci katestatina na Frank-Starlingov refleks. Na temelju tih dviju studija možemo zaključiti da katestatin kroz mehanizam ovisan o NO-u ima modulacijsku ulogu u hemodinamskoj regulaciji intrinzične srčane aktivnosti, posebice u kontekstu oštećenog mehanizma relaksacije, visokih tlakova punjenja srca i povećane dijastoličke krutosti lijevog ventrikula što su zapravo osnovne patofiziološke karakteristike srčanog zatajenja.

Upravo je srčano zatajenje patofiziološki sindrom u čijem je kontekstu istraživana uloga katestatina. Slično kao i kod problema arterijske hipertenzije ni ovdje nema jedinstvenih i konsenzualnih zaključaka. Tako su Zhu i sur. pokazali da se koncentracije katestatina smanjuju s povećanjem stupnja težine srčanog zatajenja, osim u stadiju D koji se nije mogao diskriminirati s obzirom na izmjerene razine katestatina u odnosu na druge stupnjeve (228). U ovom istraživanju za definiranje srčanog zatajenja je korištena klasifikacija Američkog udruženja za srce (engl. *American Heart Association*, AHA) i Američkog kolegija za kardiologiju (engl. *American College of Cardiology*, ACC). Prema navedenoj klasifikaciji, srčano zatajenje se dijeli na 4 stupnja, od A do D, gdje stupanj A označava najblaži oblik bolesti u kojem osoba ima visoki rizik za razvoj kroničnog srčanog zatajenja, ali nema dokaza strukturne bolesti srca, dok stupanj D odgovara terminalnom stadiju srčanog zatajenja (229). Slično istraživanje je, međutim, pokazalo da se cirkulirajuće razine katestatina povećavaju kako se povećava stupanj i simptomatologija srčanog zatajenja, ovaj put mjerenih putem funkcionalne klasifikacije udruge *New York Heart Association* (NYHA) (230). Katestatin je posebno dobro diskriminirao uznapredovale stadije zatajenja srca (stadije NYHA III i IV) u

odnosu na manje simptomatske stupnjeve zatajenja dok je u istom istraživanju utvrđeno da su NYHA stupanj, etiologija srčanog zatajenja (ishemijska ili ne-ishemijska kardiomiopatija) te procijenjena brzina glomerularne filtracije (engl. *estimated glomerular filtration rate*, eGFR) bili nezavisni prediktori plazmatskih koncentracija katestatina. Studija u kineskoj populaciji koja je uključila pacijente s akutnim infarktom miokarda i pratila incidenciju novonastalog unutarbolničkog srčanog zatajenja kao posljedice infarkta pokazala je da su više razine cirkulirajućeg katestatina bile značajno povezane s povećanim rizikom za razvoj srčanog zatajenja (231). U navedenom istraživanju su vrijednosti katestatina negativno i značajno korelirale s ejekcijskom frakcijom LV ($r=-0,923$; $P<0,001$), dok su pozitivno i značajno korelirale s vrijednostima N-terminalnog prohormona moždanog natriuretskog peptida (engl. *N-terminal prohormone of brain natriuretic peptide*, NT-proBNP) ($r=0,884$; $P<0,001$). Ova istraživanja su pokazala da još uvijek nije jasno definirana uloga katestatina u složenim patofiziološkim zbivanjima koja se odvijaju u srčanom zatajenju.

Međutim, rezultati studija koje su proučavale srčano zatajenje su jasniji što se tiče povezanosti katestatina s tzv. tvrdim kliničkim točkama ishoda (engl. *hard clinical endpoints*) kao što su smrt zbog svih uzroka (engl. *all-cause death*) i kardiovaskularne smrti (engl. *cardiovascular death*). Tako je nedavno objavljena studija pokazala da su visoke razine katestatina u plazmi neovisni prediktori za mjereni ishod smrti zbog svih uzroka i kardiovaskularne smrti u populaciji bolesnika s kroničnim srčanim zatajenjem, čak i nakon prilagođavanja za zbunjujuće faktore (232). Tako je hazardni rizik (engl. *hazard risk*, HR) za smrt zbog svih uzroka iznosio 1,84 ($P=0,042$), a za kardiovaskularnu smrt čak 2,41 ($P=0,008$). Posebno je zanimljivo da je konkomitantni porast koncentracija katestatina i B-tipa natriuretskog peptida (engl. *brain natriuretic peptide*, BNP) u regresijskom modelu bio povezan s najvećim rizikom za smrt zbog svih uzroka (HR 5,18; $P=0,001$) i kardiovaskularnu smrt (HR 9,19; $P<0,001$). Drugu zanimljivu perspektivu o ulozi katestatina u srčanom zatajenju su pružili Ottesen i sur. koji su dokazali da je nizak stupanj periferne konverzije ChgA u katestatin (ChgA/CST omjer) zbog patološkog procesa hiperglikozilacije kromogranina A bio povezan s povećanim mortalitetom u bolesnika s akutnim srčanim zatajenjem (233). Katestatin je u istoj studiji demonstrirao direktnu inhibiciju Ca^{2+} /kalmodulin-ovisne protein kinaze tipa II delta (CaMKII δ) što je posljedično smanjilo fosforilaciju fosfolambana i aktivaciju rijanodinskog receptora tip 2 (engl. *ryanodine receptor type 2*, RYR2) i u skladu s tim smanjilo mjerene pokazatelje unutarstaničnog prometa kalcija. Delta izoforma CaMKII enzima koja predominira u miokardu izravno regulira ekspresiju i funkciju glavnih ionskih kanala te proteina koji su

odgovorni za unutarstanični promet kalcija (234). Sukladno navedenim nalazima, autori su postavili hipotezu da bi mehanizam odgovoran za povećani mortalitet u istraživanoj populaciji mogla biti disregulacija prometa kalcija unutar kardiomiocita zbog neto smanjenja inhibicije CaMKII δ uzrokovane reduciranom bioraspoloživosti katestatina što je bilo evidentno u povećanom ChgA/CST omjeru.

Treba imati na umu da je srčano zatajenje kompleksan sindrom u kojem se istodobno odvija više patofizioloških mehanizama koji uključuju povećano hemodinamsko opterećenje srca (povećani tlakovi punjenja srca i povećani venski priljev), patološko remodeliranje ventrikula, povećana aktivnost medijatora upale i imunološkog sustava (uključujući lokalne i sustavne efekte), poremećen metabolizam i funkcija kalcija u miocitima, povećana aktivnost proapoptotskih molekula i signalnih puteva, abnormalna funkcija i proizvodnja izvanstaničnog matriksa, prekomjerna neurohumoralna i adrenergična stimulacija i konačno, utjecaj podležećih genetskih predilekcija (235, 236). Ne treba zanemariti i veliki broj komorbiditeta i bolesti koje se javljaju paralelno i mogu imati uzročno-posljedičnu vezu s srčanim zatajenjem, poput bubrežnog zatajenja, anemije, fibrilacije atrijske, arterijske hipertenzije, dijabetesa, bolesti perifernih arterija, koronarne bolesti, disfunkcije štitne žlijezde i brojnih drugih patoloških stanja (237-239). U takvoj konstelaciji snaga postaje jasno da je izoliranje i definiranje neovisnih učinaka i funkcija polivalentnog proteina kao što je katestatin izrazito složen zadatak.

U kontekstu patofiziologije koronarne bolesti, cirkulirajuće razine katestatina bile su značajno povišene u bolesnika s različitim stupnjevima koronarne bolesti srca u odnosu na kontrolne ispitanike i korelirale su s razinama noradrenalina (240). Najveća razina katestatina izmjerena je u bolesnika koji su imali infarkt miokarda s podizanjem ST spojnice (engl. *ST-elevation myocardial infarction*, STEMI) u odnosu na bolesnike s anginom pektoris. Sličan nalaz je potvrđen i u studiji Menga i sur. koja je pokazala da su plazmatske koncentracije katestatina nakon infarkta miokarda bile povišene tijekom prvog tjedna da bi se u idućem mjerenju nakon 3 mjeseca snizile i vratile na razinu koja se nije značajno razlikovala od one u zdravih ispitanika (241). Ta studija je također pokazala da su razine katestatina bile značajno više u bolesnika koji su imali ehokardiografski dokazano remodeliranje miokarda u odnosu na bolesnike koji nisu imali znakove remodeliranja. Potonji nalaz je potvrđen u studiji Zhua i sur. koja je dokazala da su pacijenti s lošijom funkcijom lijevog ventrikula nekoliko godina nakon akutnog infarkta miokarda imali više razine katestatina dok su cirkulirajuće razine katestatina 3 dana nakon infarkta visoko korelirale s ehokardiografskim parametrima remodeliranja i ejeckijskom frakcijom lijevog ventrikula (engl. *left-ventricular ejection fraction*, LVEF) (242).

Prethodna studija iste istraživačke skupine potvrdila je da katestatin igra važnu ulogu u razvoju, evoluciji i rezoluciji akutnog infarkta miokarda i da posjeduje prognostičku vrijednost u tom smislu (243). Nadalje, cirkulirajuće razine katestatina nakon akutnog koronarnog događaja su se pokazale kao visoko prediktivne za težinu i opseg patološkog remodeliranja miokarda. Postoji i studija koja navodi da su razine cirkulirajućeg katestatina korelirale negativno s noradrenalinom i srčanom frekvencijom te su bile smanjene pri prijemu bolesnika s akutnim infarktom miokarda. U istoj studiji, koncentracije katestatina su se izrazito povećale 3. dan nakon koronarnog događaja da bi se nakon toga dramatično smanjile i ostale smanjene tokom čitavog prvog tjedna nakon infarkta (244).

Od ostalih kardiovaskularnih učinaka valja istaknuti višestruko opisane efekte katestatina na ishemijsko-reperfuzijsku ozljedu miokarda te povezanost koncentracija katestatina s razvojem malignih aritmija nakon akutnog infarkta miokarda (245-250). U eksperimentalnom životinjskom modelu akutnog infarkta miokarda, dugoročna administracija katestatina je poboljšala autonomnu funkciju i djelovala kardioprotektivno u odnosu na štakore koji nisu primili egzogeni katestatin (251). To se odnosilo na značajno poboljšanje ejeckijske frakcije i značajno smanjenje indikatora patološkog remodeliranja ventrikula dok je elektrofiziološko ispitivanje pokazalo da je miokard skupine koja je primila katestatin bio električno stabilniji i na njemu je posredstvom programirane elektrofiziološke stimulacije (PES) bilo inducirano značajno manje ventrikularnih aritmija u odnosu na miokard životinja koje nisu primile katestatin (33% vs. 83%; $P < 0,05$). Električna nestabilnost miokarda povezana s niskim razinama katestatina je također utvrđena u sličnoj pretkliničkoj studiji (252). Postoji i studija koja je pokazala da je u hipertenzivnih štakora katestatin značajno smanjio depoziciju kolagena u srcu, krvnim žilama te bubregu, a taj učinak je bio posebno izražen u redukciji intersticijskog kolagena (253). Konačno, u kardiovaskularnom sustavu katestatin zaustavlja patološko remodeliranje miokarda i to na način da suprimira hipertrofiju, zaustavlja fibrozu i djeluje antiapoptotski u odnosu na srčane i kontraktilne proteine (254, 255).

Katestatin i metabolizam lipida

Postoji vrlo ograničen broj studija koje su razmatrale odnos katestatina i lipidnih parametara, odnosno lipidnog metabolizma općenito. U većini dostupnih studija lipidni parametri su bili samo usputni nalaz od sekundarnog istraživačkog interesa.

Jedna od studija koja je bila više fokusirana na metabolizam lipida je pokazala da su miševi s *knock-out CHGA* $-/-$ genotipom, odnosno bez mogućnosti sinteze kromogranina A

imali povišene razine leptina i razvili pretilost dok je terapijska intervencija katestatina smanjila razine leptina, poboljšala receptorsku osjetljivost za leptin i paralelno smanjila tjelesnu masu istraživanih životinja (256). U istoj studiji utvrđeno je da katestatin stimulira lipolizu i oksidaciju masnih kiselina putem blokade α -adrenergičnog signalnog puta u adipocitima te inhibira *de novo* lipogenezu.

Recentna studija Kojime i sur. dokazala je da katestatin ima supresivan učinak na razvoj ateroskleroze posredovane pjenušavim makrofazima na način da smanjuje upalni odgovor i inhibira aktivnost oksidirane frakcije LDL-kolesterola (257). U istoj studiji, populacija koronaropata je imala značajno niže razine katestatina u odnosu na zdrave ispitanike, ali je zato lokalna ekspresija katestatina u koronarnim ateromatoznim plakovima bila značajno viša. Nadalje, navedena studija je pokazala pozitivne učinke katestatina u smanjenju proliferacije stanica glatkog mišićja aorte (engl. *human aortic smooth muscle*, HASM stanice) u modelu native ateroskleroze potaknute makrofazima. Taj rezultat je, međutim, izostao u modelu eksperimentalno inducirane ozljede arterije što je pokazalo da katestatin nije imao protektivan učinak u kontekstu smanjenja neointimalne hiperplazije, procesa koji je patofiziološki dominantan *culprit* mehanizam u restenozi koronarnih arterija nakon perkutane koronarne intervencije (engl. *percutaneous coronary intervention*, PCI) i implantacije stenta. Konačno, ista studija je dokazala da su se pozitivni vaskularni učinci katestatina očitovali i u supresiji migracije, proliferacije i ekspresije kolagena tipa 1, bez induciranja apoptoze, ali i povećane ekspresije fibronektina i elastina u HASM stanicama.

U studiji koja je uključivala novodijagnosticirane hipertenzivne ispitanike, razine HDL-kolesterola bile su pozitivno povezane s plazmatskim razinama katestatina te su inkrementno rasle kako su rasle i koncentracije HDL-kolesterola dok su trigliceridi bili u negativnoj korelaciji s katestatinom (209). Autori studije su stoga zaključili da, uz antihipertenzivne učinke, katestatin vjerojatno poboljšava lipidni i metabolički profil u navedenoj populaciji te da niske razine cirkulirajućeg katestatina i HDL-kolesterola zajedno imaju prediktivnu vrijednost u smislu rizika za nastanak hipertenzije i budućih kardiovaskularnih događaja. U studiji O'Connora i sur. katestatin je negativno i značajno korelirao s ITM vrijednosti i plazmatskim koncentracijama leptina (207). Polimorfizmi u strukturi gena za katestatin također mogu predisponirati za povećane metaboličke i kardiovaskularne rizike (258). Sve je veći broj studija koje ukazuju na pozitivne učinke katestatina u poboljšanju metabolizma glukoze, povećanja inzulinske osjetljivosti te smanjenja štetnih proupalnih učinaka centralnog masnog

tkiva što svakako govori u prilog tezi da katestatin ima potencijalno povoljne učinke na metabolički profil u čovjeka (259, 260).

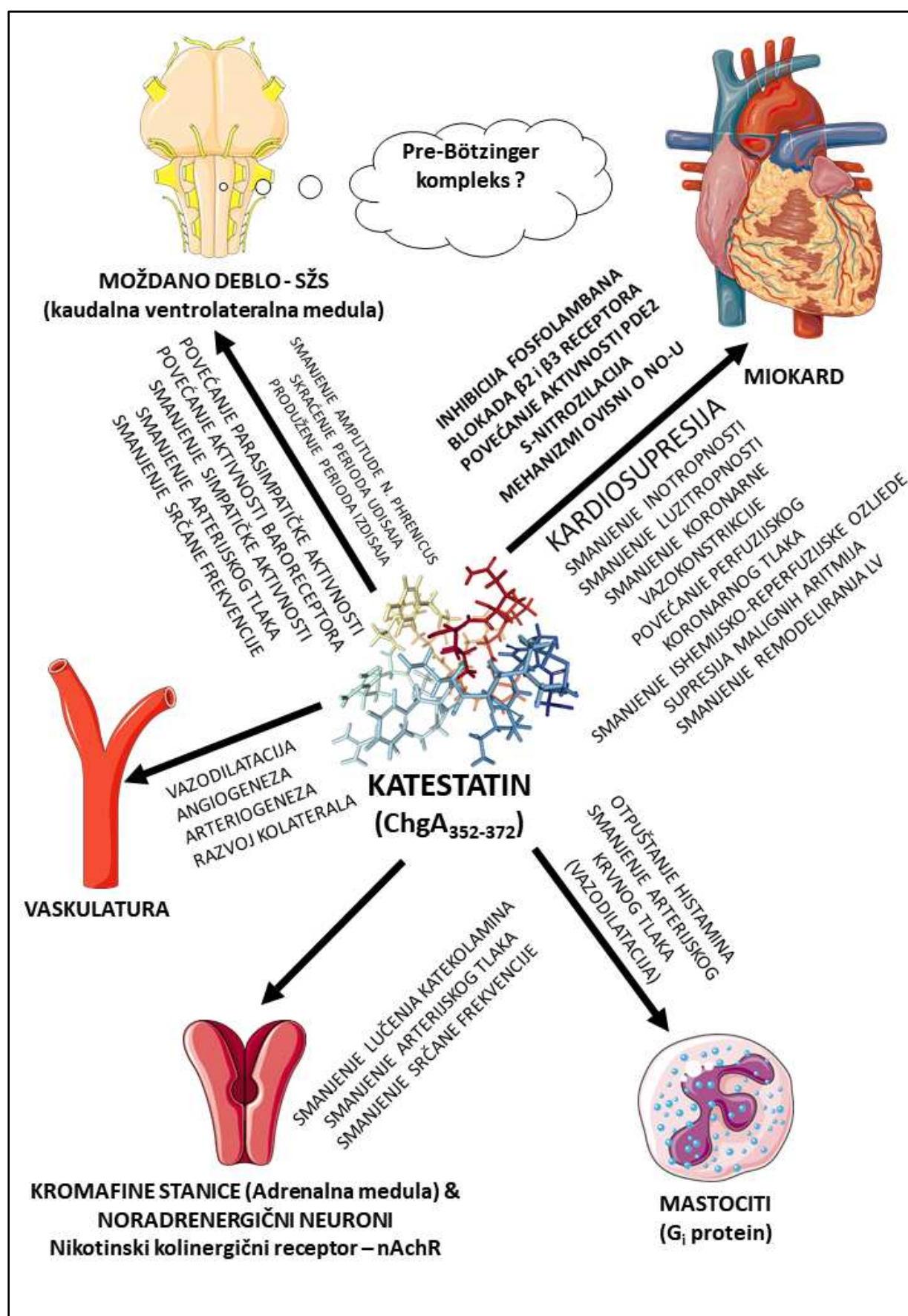
Ostali pleiotropni učinci katestatina

Osim već opisanog otpuštanja histamina aktivacijom mastocita, katestatin ima potencijalne uloge u upalnoj reakciji i urođenoj imunosti s obzirom da potiče oslobađanje proupalnih medijatora poput eikozanoida, proupalnih citokina, kemokina te povećava intracelularne koncentracije kalcija čime dovodi do migracije i kemotaksije mastocita, ali i monocita (261-263). S druge strane, u animalnom modelu upalne bolesti crijeva (engl. *inflammatory bowel disease*, IBD) i eksperimentalnog kolitisa, injekcija katestatina je značajno smanjila proupalni odgovor i težinu upalnog relapsa što se manifestiralo značajnom redukcijom proinflammatory citokina poput interleukina 6 (engl. *interleukin 6*, IL-6), interleukina 1 β (engl. *interleukin 1 β* , IL-1 β), faktora nekroze tumora-alfa (engl. *tumor necrosis factor alpha*, TNF- α) i aktivnosti proinflammatory makrofaga (264, 265).

Nadalje, neke studije su opisale antimikrobnu aktivnost katestatina, posebice protiv kožnih patogena, ulogu u regulaciji crijevne mikroflore, ali i u ulogu u regulaciji akutne i kronične boli (266-268).

U posljednje vrijeme uloga katestatina u metaboličkim procesima postaje zanimljiv cilj istraživanja bazičnih i kliničkih znanstvenika, posebno u kontekstu inzulinske rezistencije, pretilosti i metaboličkog sindroma, javnozdravstvenih problema koji zahvaćaju i sigurno će u budućnosti zahvaćati sve veći udio opće populacije (269).

Konačno, nedavna studija je opisala i ulogu katestatina kao antioksidansa koji je demonstrirao protektivnu ulogu u očuvanju DNA koja je eksperimentalno bila izložena slobodnim kisikovim radikalima (270). Na Slici 4. su prikazani do sada najvažniji poznati fiziološki učinci katestatina.



Slika 4. Najvažniji fiziološki učinci katestatina (autorska slika)

Katestatin i opstruktivska apneja tijekom spavanja

Uloga katestatina u opstruktivskoj apneji tijekom spavanja gotovo je u potpunosti neistražena. Prema trenutačnim saznanjima dostupno je samo jedno istraživanje koje je istražilo katestatin u kontekstu OSA populacije i to na pedijatrijskoj populaciji predpubertetske djece (271). Navedeno istraživanje je pokazalo da su djeca s OSA-om imala značajno niže razine katestatina u odnosu na djecu bez OSA-e, dok su djeca s najnižim vrijednostima katestatina imala oko 5 puta veći rizik za razvoj umjerene do teške OSA-e.

Zbog nedostatka istraživanja i oskudnosti literaturnih podataka u vezi uloge katestatina u OSA-i, potrebno se referirati na istraživanje Gaedea i Pilowskyog koje je ukazalo na povezanost katestatina s centralnom regulacijom kardiovaskularnog i respiracijskog sustava (180). U tom istraživanju je mikroinjekcija katestatina u kaudalni ventrolateralni dio produljene moždine izazvala smanjenje simpatičke živčane aktivnosti, smanjila osjetljivost perifernog kemoreceptorskog refleksa kao odgovora na akutnu hipoksiju te je smanjila osjetljivost simpatičkih baroreceptora. Jednako važno, katestatin je doveo do smanjenja amplitude freničnog živca uz skraćivanje perioda udisaja te produljenje trajanja izdisaja. Ovo pretkliničko istraživanje je važno zbog toga što je pružilo spoznaju da katestatin ima ulogu u kardiorespiracijskoj kontroli unutar SŽS-a.

Budući da je OSA kao sindrom karakterizirana značajnom kardiorespiracijskom disregulacijom i zbog anatomske lokalizacije pre-Bötzingerovog kompleksa (engl. *pre-Bötzinger complex*, preBötC) kao centralnog generatora respiracijskog ritma u navedenoj regiji produljene moždine, biološki je plauzibilan koncept da katestatin može imati ulogu u patofiziologiji opstruktivske apneje tijekom spavanja. Upravo zbog navedene biološke plauzibilnosti i činjenice da je uloga katestatina u OSA-i općenito nepoznata odlučili smo provesti ovo kliničko istraživanje.

Prema nama dostupnim podacima, ovo je prvo kliničko istraživanje koje ispituje serumske koncentracije katestatina u odrasloj populaciji OSA bolesnika.

Glavni cilj ovog istraživanja jest usporediti serumske koncentracije katestatina u bolesnika s opstrukcijskom apnejom tijekom spavanja i zdravih kontrolnih ispitanika.

Sekundarni ciljevi istraživanja su:

- a) utvrditi postoji li povezanost između serumskih koncentracija katestatina te parametara mjerenih cjelonoćnom laboratorijskom polisomnografijom;
- b) usporediti vrijednosti lipidnih parametara u bolesnika s opstrukcijskom apnejom tijekom spavanja i kontrolnih ispitanika;
- c) utvrditi postoji li povezanost između serumskih koncentracija katestatina te lipidnih parametara;
- d) utvrditi dijagnostičke performanse katestatina (korištenjem analize osjetljivosti i specifičnosti) u diskriminaciji ispitanika s opstrukcijskom apnejom tijekom spavanja u odnosu na zdrave ispitanike

3.1. Ustroj istraživanja

Istraživanje je po svom ustroju presječno i kliničko. Istraživanje je osmišljeno pri Katedri za patofiziologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu. Prikupljanje svih podataka o ispitanicima i dijagnostička evaluacija provedeni su u Centru za medicinu spavanja Kliničkog bolničkog centra Split i Medicinskog fakulteta u Splitu u razdoblju od prosinca 2016. do veljače 2018. godine. Svi ispitanici uključeni u studiju su bili upoznati s ustrojem i ciljevima istraživanja te su dobrovoljno potpisali informirani pisani pristanak prije samog uključanja u studiju. Istraživanje je odobreno od strane Etičkog povjerenstva Medicinskog fakulteta u Splitu te je provedeno u skladu sa svim etičkim principima koji su definirani Helsinškom deklaracijom iz 1964. godine i njenom sedmom revizijom iz 2013. godine.

3.2. Ispitanici

Nakon odgovarajućeg probira 118 ispitanika, u studiju je uzastopno (konsekutivno) uključeno 75 novodijagnosticiranih OSA bolesnika. Pri obradi ispitanika poštovane su praktične smjernice za dijagnostiku OSA-e koje su propisane od strane Američke akademije za medicinu spavanja (engl. *American Academy of Sleep Medicine*, AASM) i Europskog društva za istraživanje spavanja (engl. *European Sleep Research Society*, ESRS) (57, 272).

Uključni kriteriji istraživanja su bili:

- novodijagnosticirana OSA definirana vrijednošću apneja-hipopneja indeksa (engl. *apnea-hypopnea index*, AHI) ≥ 15 za vrijeme cjelonoćnog polisomnografskog ispitavanja;
- dob od 18 do 65 godina;
- muški spol

Isključni kriteriji istraživanja su bili:

- medicinski dokumentirano postojanje dijabetesa (tip I i tip II), značajne srčanožilne, bubrežne, respiratorne, neurološke ili psihijatrijske bolesti te prisutnost sustavne upalne i/ili autoimune bolesti te akutnog ili kroničnog imunokompromitirajućeg ili imunosupresivnog stanja;

- medicinski dokumentirana prisutnost aktivne maligne bolesti te osobna anamneza ispitanika opterećena prekomjernom uporabom alkohola i/ili sedativa te zloporabom droge;
- pozitivna anamneza ikakvog prethodnog ili trenutnog liječenja OSA-e prije uključivanja u istraživanje;
- korištenje lijekova koji interferiraju s metabolizmom lipida;
- ženski spol

U kontrolnu skupinu su konsektivno uključivani zdravi muški ispitanici usklađeni s OSA bolesnicima prema indeksu tjelesne mase i dobi. Od 62 dobrovoljca koji su pristupili studiji, uključne kriterije za kontrolnu skupinu zadovoljilo je 50 ispitanika nakon ispunjavanja propisanih upitnika. Zbog visoke prevalencije OSA-e u općoj populaciji i zbog sigurnosti da potencijalni dobrovoljci imaju nisku *a priori* vjerojatnost rizika (engl. *low pretest probability*) za OSA-u, svi zdravi ispitanici su ispunili STOP-BANG upitnik te su oni koji su imali 3 ili više bodova isključeni iz istraživanja. Također, zdravi dobrovoljci koji su imali rezultat veći od 9 bodova na ESS upitniku nisu bili uključeni u kontrolnu skupinu. Za potrebe ovog istraživanja korišten je ESS upitnik validiran na hrvatskom jeziku (273). Cjelonoćna laboratorijska polisomnografija nije provedena na uključenim kontrolnim ispitanicima zbog činjenice da je vjerojatnost OSA-e prema rezultatima na prethodno navedenim upitnicima izrazito niska. Ostali navedeni isključni kriteriji i dijagnostički protokoli su bili identični za obje ispitivane skupine.

Konačno, ukupan broj ispitanika uključenih u studiju i finalnu statističku obradu iznosio je N=125, od čega je 75 ispitanika činilo skupinu OSA bolesnika, a 50 ispitanika zdravu kontrolnu skupinu.

3.3. Antropometrijska mjerenja

Svim ispitanicima koji su uključeni u istraživanje, nakon uzimanja detaljnih anamnestičkih podataka i fizikalnog pregleda, izvršena su antropometrijska mjerenja. Tjelesna masa i visina izmjerena su korištenjem kalibrirane vage s ugrađenim visinomjerom (Seca, Birmingham, UK). ITM je izračunat po formuli $\text{ITM} = [\text{tjelesna masa (kg)}] / [\text{visina na kvadrat (m}^2\text{)}]$. Opseg vrata je mjeren u uspravnom stojećem položaju ispitanika, u liniji koja spaja sredinu vratne kralježnice i sredinu anteriorne strane vrata (područje ispod laringealne prominencije tiroidne hrskavice). Opseg struka mjeren je na srednjoj udaljenosti između donjeg ruba

rebrnog luka u srednjoj aksilarnoj liniji te gornjeg ruba grebena ilijačne kosti, u stojećem uspravnom položaju. Opseg bokova je mjereno u razini najdulje cirkumferencije glutealnih mišića, iznad linije koja spaja velike trohantere femura. Za navedena antropometrijska mjerenja korištena je centimetarska vrpca s preciznošću od 0,5 cm. Omjer struka i bokova (engl. *waist-to-hip ratio*, WHR) izmjeren je dijeljenjem opsega struka (cm) s opsegom bokova (cm).

3.4. Cjelonoćno laboratorijsko polisomnografsko ispitivanje

U dijagnostici OSA-e korištena je kontinuirana cjelonoćna laboratorijska polisomnografija (Alice 5LE, Philips Respironics, Eindhoven, Nizozemska) u Centru za medicinu spavanja Kliničkog bolničkog centra Split i Medicinskog fakulteta u Splitu. Prema važećim preporukama i standardnim smjernicama kontinuirano su praćene i snimane slijedeće komponente: elektrokardiografija, elektrookulografija, elektroencefalografija, jačina hrkanja, elektromiografija *m. mentalis* i *m. tibialis*, mjerenje nosnog protoka, pulsna oksimetrija, te praćenje pokreta prsnog koša i abdomena. Svi podatci su pohranjeni na računalni sustav i manualno analizirani od strane licenciranog somnologa u skladu s objavljenim AASM i ESRS smjernicama (52, 274, 275). Prema važećem konsenzusu, epizoda apneje je definirana kao potpuni prestanak nosnog protoka zraka u trajanju od najmanje 10 sekundi, dok se epizoda hipopneje definirala kao smanjenje nosnog protoka zraka za više od 30% u trajanju od najmanje 10 sekundi s konkomitantnom redukcijom zasićenosti hemoglobina kisikom od najmanje 3% (276). Cjelonoćna polisomnografska snimanja u kojima je bolesnikov ciklus spavanja bio kraći od 6 sati nisu bila prihvaćena za analizu i u tim slučajevima bi se izvršilo novo cjelonoćno polisomnografsko ispitivanje.

3.5. Uzorkovanje periferne krvi i laboratorijska analiza

Uzorkovanje periferne krvi je izvršeno u razdoblju između 7 do 14 dana nakon cjelonoćne laboratorijske polisomnografije u OSA bolesnika i analize probirnih upitnika u kontrolnih ispitanika. U tom razdoblju nijednom ispitaniku nije pruženo bilo kakvo liječenje OSA-e. Uzorkovanje krvi je provedeno ujutro i natašte nakon 12-satnog posta. Periferna krv je uzorkovana procedurom venepunkcije kubitalne vene u epruvetu s antikoagulansom (K3-EDTA) posredstvom polietilenskog katetera te je isti uzorak potom centrifugiran i pohranjen u laboratorijski zamrzivač na temperaturu od -80°C do obrade. Svi krvni uzorci analizirani su i

obrađeni u skladu s standardima dobre laboratorijske prakse u specijaliziranom medicinskom laboratoriju od strane istog specijaliste medicinske biokemije koji je bio zaslijepljen kojoj ispitivanoj skupini pojedini ispitanik pripada. Lipidni parametri su analizirani standardnim laboratorijskim metodama, a uključivali su trigliceride, lipoprotein visoke gustoće (HDL-c), lipoprotein niske gustoće (LDL-c) i ukupni kolesterol. Frakcija ne-HDL kolesterola (engl. *non-HDL cholesterol*, non-HDL-c) izračunata je po formuli = [Ukupni kolesterol (mmol/L) – HDL-c (mmol/L)].

Serumske koncentracije katestatina određene su metodom dvostrukog enzim-imunoadsorpcijskog testa (engl. *enzyme-linked immunosorbent assay*, ELISA) koristeći komercijalno dostupan kit humanog katestatina (Cat. # EK-053-27CE, EIA kit, extraction free, CE Mark Certified, Phoenix Pharmaceuticals Inc., Burlingame, CA, USA). Minimalna razina detekcije katestatina u korištenom testu iznosila je 0,05 ng/mL s linearnim rasponom detekcije od 0,05 do 0,92 ng/mL. Križna reaktivnost detekcijskih probi s endogenim ljudskim katestatinom iznosila je 100% s izmjerenim koeficijentom varijabilnosti unutar proba (engl. *intra-assay coefficient of variability*) manjim od 10% i varijabilnošću između proba (engl. *inter-assay coefficient of variability*) manjom od 15%.

3.6. Statistička analiza

Statistička obrada podataka izvršena je korištenjem programskih paketa SPSS Statistics for Windows® (verzija 25.0, IBM, Armonk, NY, USA) i Prism 6 for Windows® (verzija 6.01, GraphPad, La Jolla, CA, USA). Za procjenu normalnosti distribucije kontinuiranih varijabli korišten je Kolmogorov-Smirnovljev test dok su vrijednosti kontinuiranih varijabli prikazane kao srednja vrijednost (M) ± standardna devijacija (SD). Razlike u kontinuiranim varijablama između kontrolne skupine i OSA bolesnika utvrđene su korištenjem t-testa za neovisne uzorke, dok se za utvrđivanje razlika u kontinuiranim varijablama između 3 ili više skupina koristila jednosmjerna (engl. *one-way*) analiza varijance (ANOVA) s *post-hoc* Bonferroni testom.

Pearsonov korelacijski test s pripadajućim Pearsonovim koeficijentom korelacije (*r*) korišten je za utvrđivanje statističke povezanosti serumskih koncentracija katestatina s polisomnografskim i lipidnim parametrima. Multipla linearna regresija s „*forward*“ algoritmom prilagođena za zbunjujuće faktore koji su uključivali dob, ITM i antropometrijske parametre, korištena je za procjenu povezanosti serumskih razina katestatina s

polisomnografskim i lipidnim parametrima. U ovoj analizi kao vrijednost od interesa prikazana je beta (β) vrijednost kao standardizirana mjera korelacije.

Multivarijatna regresijska analiza je korištena za utvrđivanje povezanosti serumskih razina katestatina i lipidnih parametara kao neovisnih prediktora za detekciju OSA-e. Multivarijatni regresijski model je prilagođen za zbunjujuće faktore dobi, ITM i antropometrijske mjere (opseg vrata, struka i bokova). U ovoj analizi kao vrijednosti od interesa su prikazani prilagođeni omjeri rizika (engl. *adjusted odds ratio*, OR) te 95%-tni intervali pouzdanosti (engl. *95% confidence intervals*, 95% CI). Konačno, dijagnostička performansa katestatina kao biomarkera za prisutnost OSA-e testirana je ROC analizom (engl. *Receiver Operating Characteristic Curve*) uz dobivenu vrijednost područja ispod krivulje kao glavnom mjerom ishoda (engl. *Area Under the Curve*, AUC) te uz prikazane 95%-tne intervale pouzdanosti i standardnu pogrešku (engl. *standard error*, SE). Prijelomna (engl. „*cut-off*“) vrijednost serumskog katestatina s najboljom dijagnostičkom performansom u smislu odnosa osjetljivosti i specifičnosti za detekciju OSA-e određena je Youden J indeks algoritmom. Razina statističke značajnosti u svim navedenim analizama postavljena je na $P < 0,05$.

4. REZULTATI

Karakteristike istraživane populacije

U istraživanje je bilo uključeno ukupno 125 ispitanika muškog spola, od čega je bilo 75 bolesnika s novodijagnosticiranom OSA-om te 50 zdravih kontrolnih ispitanika, usklađenih prema dobi i ITM indeksu s OSA skupinom.

Nisu pronađene statistički značajne razlike između ispitivanih skupina po pitanju dobi, tjelesne visine, tjelesne mase, ITM-a, opsega struka i bokova te omjera struka i bokova. U odnosu na kontrolnu skupinu, OSA bolesnici su imali statistički značajno veći opseg vrata ($42,2 \pm 3,5$ u OSA bolesnika vs. $38,2 \pm 2,6$ cm u kontrolnih ispitanika; $P < 0,001$). Osnovne antropometrijske karakteristike ispitanika uključenih u studiju prikazane su u Tablici 1.

Tablica 1. Antropometrijske karakteristike ispitanika

Varijabla	Kontrolna skupina (N=50)	OSA skupina (N=75)	<i>P-vrijednost*</i>
Dob (godine)	$50,3 \pm 7,4$	$50,2 \pm 8,6$	0,911
Tjelesna visina (cm)	$183,4 \pm 6,5$	$184,1 \pm 6,7$	0,307
Tjelesna masa (kg)	$98,3 \pm 12,5$	$102,4 \pm 12,3$	0,080
ITM (kg/m^2)	$29,1 \pm 3,4$	$30,2 \pm 3,1$	0,109
Opseg vrata (cm)	$38,3 \pm 2,4$	$42,1 \pm 3,4$	$<0,001$
Opseg struka (cm)	$103,1 \pm 10,4$	$107,2 \pm 12,8$	0,166
Opseg bokova (cm)	$107,4 \pm 6,4$	$110,2 \pm 9,3$	0,082
WHR	$0,95 \pm 0,04$	$0,98 \pm 0,04$	0,449

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

* t-test za neovisne uzorke

Kratice: ITM – indeks tjelesne mase; WHR – omjer opsega struka i bokova

Procjena parametara spavanja

Parametri spavanja procijenjeni su cjelonoćnom laboratorijskom polisomnografijom na ukupnom uzorku bolesnika s novodijagnosticiranom OSA-om (Tablica 2). Srednja vrijednost AHI u analiziranoj populaciji iznosila je $44,2 \pm 17,9$ što upućuje na visoku težinu bolesti i ukazuje da najveći broj bolesnika ima tešku OSA-u.

Tablica 2. Analiza polisomnografskih nalaza i rezultati dobiveni ESS, STOP i STOP-BANG upitnicima u uzorku OSA bolesnika

Varijabla	OSA skupina (N=75)
AHI (događaji/sat)	$44,2 \pm 17,9$
ODI (događaji/sat)	$41,7 \pm 18,8$
Srednja vrijednost SpO ₂ (%)	$92,5 \pm 3,2$
Najniža vrijednost SpO ₂ (%)	$73,8 \pm 11,4$
Vrijeme hrkanja (min.)	$98,8 \pm 108,7$
Ukupno vrijeme spavanja (h)	$6,6 \pm 1,2$
Opstruktivska apneja*	$134,8 \pm 120,3$
Centralna apneja*	$34,7 \pm 50,2$
Hipopneja*	$111,5 \pm 77,3$
Indeks srčane frekvencije [†]	$63,4 \pm 10,9$
STOP zbroj	$3,0 \pm 0,7$
STOP-BANG zbroj	$5,4 \pm 1,2$
ESS zbroj	$8,7 \pm 4,3$

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

* broj epizoda u ukupnom vremenu spavanja

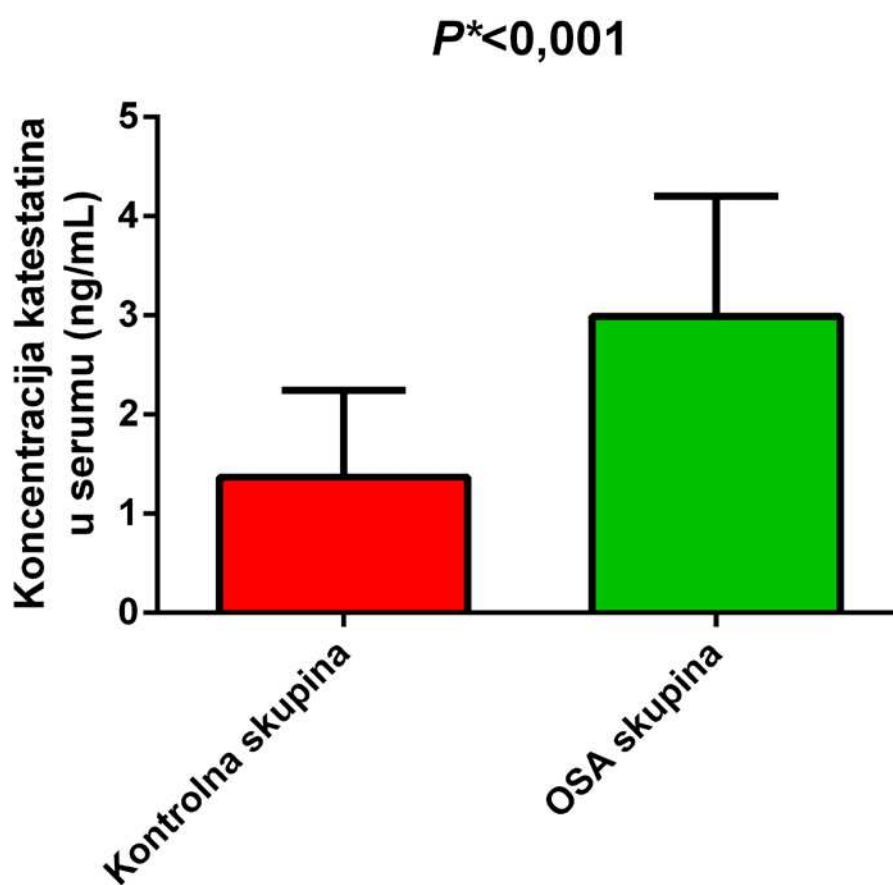
[†] Prosječna srčana frekvencija izmjerena u ukupnom vremenu spavanja

Kratice: AHI – apneja-hipopneja indeks; SpO₂ – saturacija arterijske krvi kisikom;

ODI - desaturacijski indeks; ESS – Epworthova ljestvica pospanosti

Serumske koncentracije katestatina

Serumske koncentracije katestatina su značajno više u OSA bolesnika u odnosu na kontrolnu skupinu ($2,99 \pm 0,14$ vs. $1,37 \pm 0,13$ ng/mL; $P < 0,001$) (Slika 5).



Slika 5. Srednje vrijednosti serumskih koncentracija katestatina u kontrolnoj skupini i skupini OSA bolesnika

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

*t-test za neovisne uzorke

Povezanost katestatina s polisomnografskim parametrima u OSA bolesnika

Statistička analiza je pokazala da serumske razine katestatina nisu značajno korelirale ni s jednim parametrom mjerenim cjelonoćnom laboratorijskom polisomnografijom kada je analiziran ukupan uzorak OSA bolesnika (N=75) (podatci nisu prikazani).

U sekundarnoj analizi, skupina bolesnika s OSA-om podijeljena je na dvije podskupine s obzirom na ITM vrijednosti, zbog pretpostavke da bi prisustvo pretilosti moglo utjecati na odnos katestatina s polisomnografskim parametrima. Na taj način je jedna podskupina uključivala OSA bolesnike s $ITM \leq 30 \text{ kg/m}^2$ (oni koji nisu pretili, N=30), dok je druga podskupina uključivala OSA bolesnike s $ITM > 30 \text{ kg/m}^2$ (pretili, N=45). Navedena analiza je pokazala da vrijednosti serumskog katestatina nisu korelirale ni s jednim polisomnografskim parametrom u podskupini pretilih OSA bolesnika (Tablica 3).

Tablica 3. Pearsonova analiza korelacije između serumskih koncentracija katestatina i polisomnografskih parametara u pretilih OSA bolesnika ($ITM > 30 \text{ kg/m}^2$, N=45)

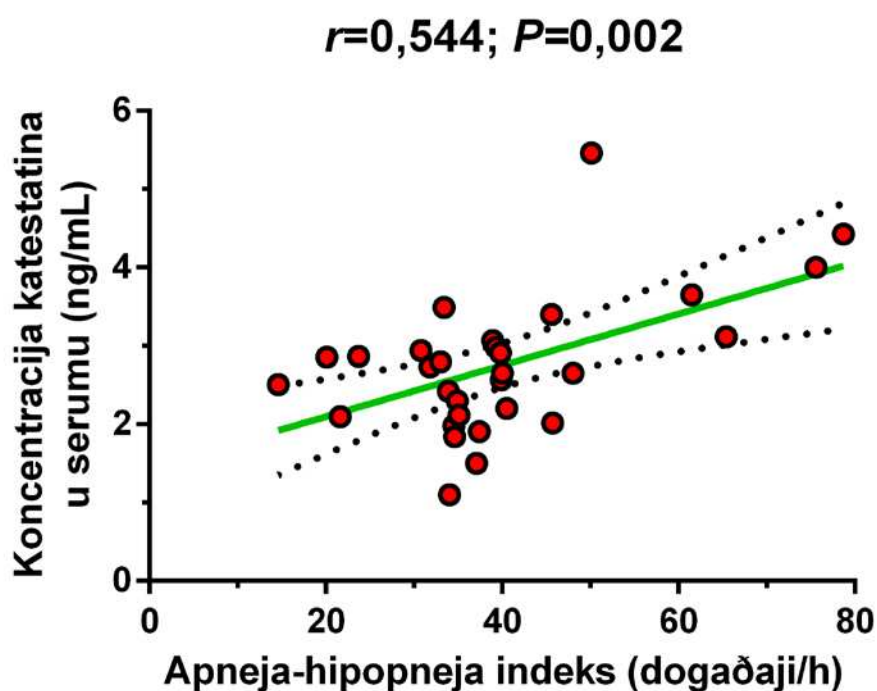
Varijabla	<i>r-vrijednost*</i>	<i>P-vrijednost</i>
AHI (događaji/sat)	0,121	0,544
ODI (događaji/sat)	0,086	0,589
Srednja vrijednost SpO ₂ (%)	0,142	0,388
Opstruktivska apneja [†]	0,130	0,355
Centralna apneja [†]	0,071	0,687
Hipopneja [†]	0,052	0,801

* Pearsonov koeficijent korelacije

[†] broj epizoda u ukupnom vremenu spavanja

Kratice: AHI – apneja-hipopneja indeks; SpO₂ – saturacija arterijske krvi kisikom;
ODI - desaturacijski indeks

U podskupini OSA bolesnika koji nisu pretili, vrijednosti serumskog katestatina značajno su pozitivno korelirale s AHI vrijednostima ($r=0,544$; $P=0,002$) (Slika 6) i prosječnim brojem epizoda centralne apneje za vrijeme ukupnog vremena spavanja ($r=0,482$; $P=0,013$). Nadalje, u istoj podskupini OSA bolesnika, serumske vrijednosti katestatina značajno su negativno korelirale s prosječnom saturacijom arterijske krvi kisikom ($r=-0,379$; $P=0,047$) (Tablica 4).



Slika 6. Pozitivna korelacija između serumskih razina katestatina i apneja-hipopneja indeksa (AHI) u podskupini OSA bolesnika koji nisu pretili (N=30), utvrđena linearnom regresijskom analizom. Crne isprekidane linije označavaju 95%-tne intervale pouzdanosti

Tablica 4. Pearsonova analiza korelacije između serumskih koncentracija katestatina i polisomnografskih parametara u OSA bolesnika koji nisu pretili ($ITM \leq 30 \text{ kg/m}^2$, $N=30$)

Varijabla	<i>r-vrijednost*</i>	<i>P-vrijednost</i>
AHI (događaji/sat)	0,544	0,002
ODI (događaji/sat)	0,272	0,179
Srednja vrijednost SpO_2 (%)	-0,379	0,047
Opstruktivska apneja [†]	0,366	0,066
Centralna apneja [†]	0,482	0,013
Hipopneja [†]	-0,256	0,208

* Pearsonov koeficijent korelacije, [†] broj epizoda u ukupnom vremenu spavanja

Kratice: AHI – apneja-hipopneja indeks; SpO_2 – saturacija arterijske krvi kisikom;

ODI - desaturacijski indeks

U naknadnoj analizi povezanosti, polisomnografske varijable koje su pokazale značajnu povezanost sa serumskim razinama katestatina su prilagođene za zbunjujuće faktore dobi, ITM i antropometrijske mjere koristeći multiplu linearnu analizu regresije. Ta analiza je pokazala da jedino AHI vrijednosti značajno koreliraju sa serumskim koncentracijama katestatina ($\beta=0,481$; $P=0,022$) i to samo u podskupini OSA bolesnika koji nisu pretili. Sve ostale polisomnografske varijable, uključujući one obrađene na ukupnoj populaciji OSA bolesnika i u podskupinama s obzirom na ITM, nisu pokazale statistički značajnu povezanost sa serumskim koncentracijama katestatina u multiploj linearnoj analizi regresije (podatci nisu prikazani).

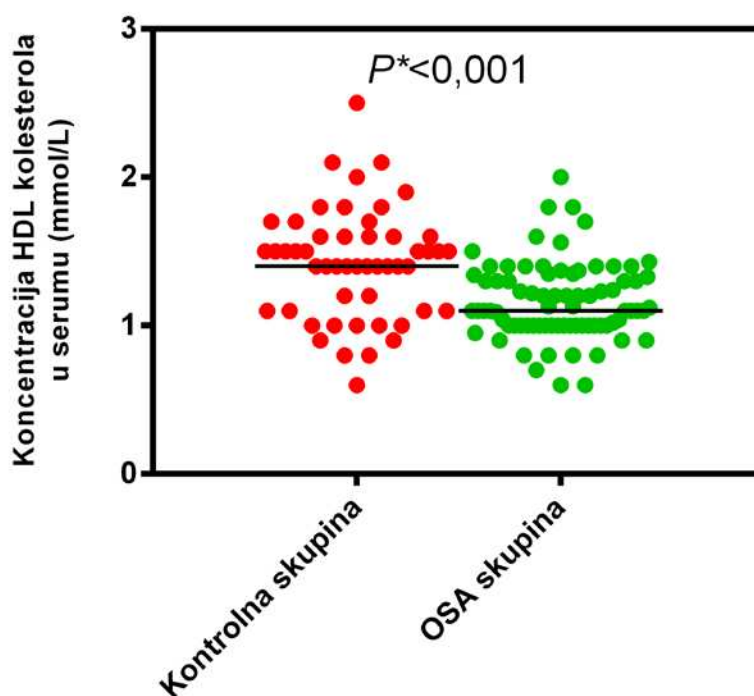
Serumske razine katestatina se nisu značajno razlikovale između podskupine OSA bolesnika s $ITM > 30 \text{ kg/m}^2$ u odnosu na podskupinu koja je imala $ITM \leq 30 \text{ kg/m}^2$ ($2,91 \pm 1,30$ vs. $2,83 \pm 1,20 \text{ ng/mL}$; $P=0,608$).

Lipidni parametri u kontrolnoj skupini i skupini OSA bolesnika

Serumske koncentracije HDL-kolesterola su bile značajno niže u OSA bolesnika u usporedbi s kontrolnom skupinom ($1,16 \pm 0,03$ vs. $1,42 \pm 0,05$ mmol/L; $P < 0,001$) (Slika 7).

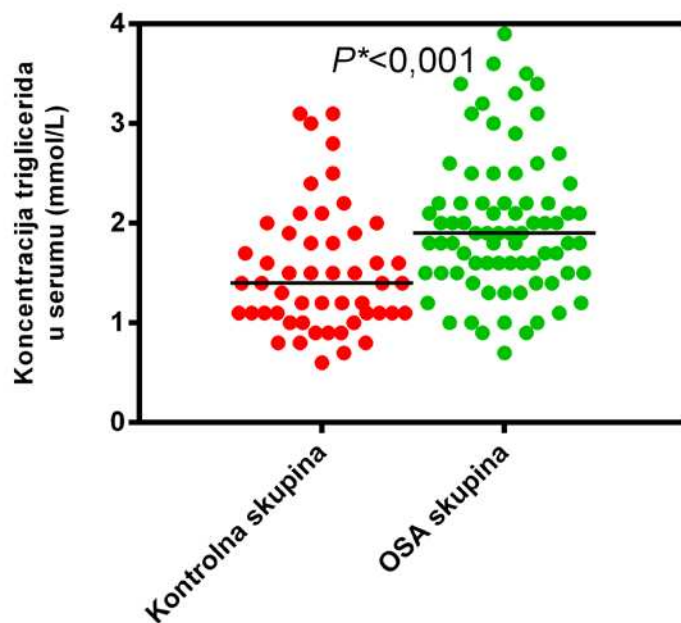
Serumske koncentracije triglicerida su bile značajno više u OSA bolesnika u odnosu na kontrolnu skupinu ($2,02 \pm 0,88$ vs. $1,51 \pm 0,87$ mmol/L; $P < 0,001$) (Slika 8) kao i frakcije non-HDL kolesterola ($4,98 \pm 0,12$ u OSA skupini vs. $4,60 \pm 0,15$ mmol/L u kontrolnoj skupini; $P = 0,048$) (Slika 9).

Koncentracije ukupnog kolesterola se nisu statistički značajno razlikovale između OSA bolesnika i kontrolne skupine ($6,14 \pm 0,11$ vs. $6,02 \pm 0,13$ mmol/L; $P = 0,447$) (Slika 10) kao ni koncentracije LDL-kolesterola ($4,17 \pm 0,08$ u OSA skupini vs. $4,11 \pm 0,11$ mmol/L u kontrolnoj skupini; $P = 0,692$) (Slika 11).



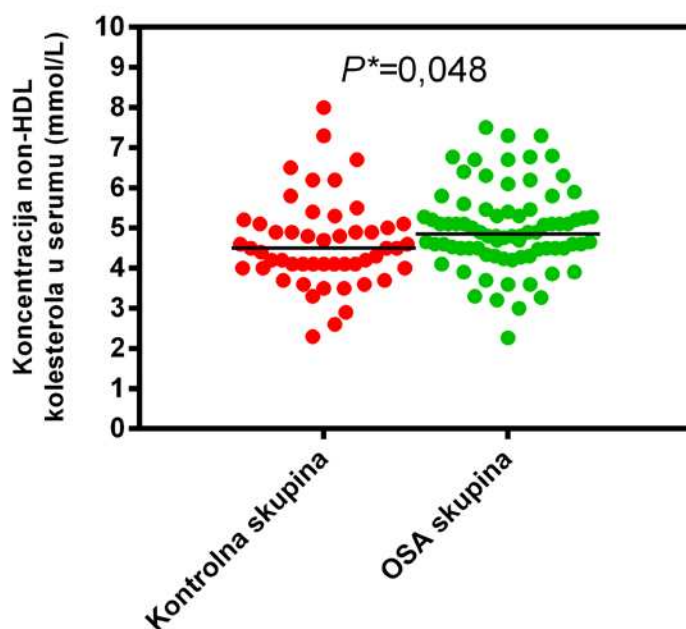
Slika 7. Srednje vrijednosti serumskih koncentracija HDL-kolesterola u kontrolnoj skupini i skupini OSA bolesnika

*t-test za neovisne uzorke



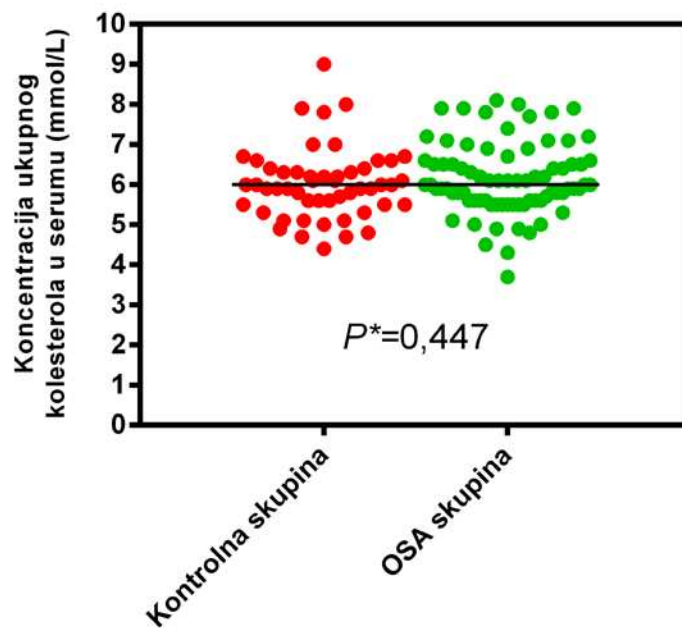
Slika 8. Srednje vrijednosti serumskih koncentracija triglicerida u kontrolnoj skupini i skupini OSA bolesnika

*t-test za neovisne uzorke



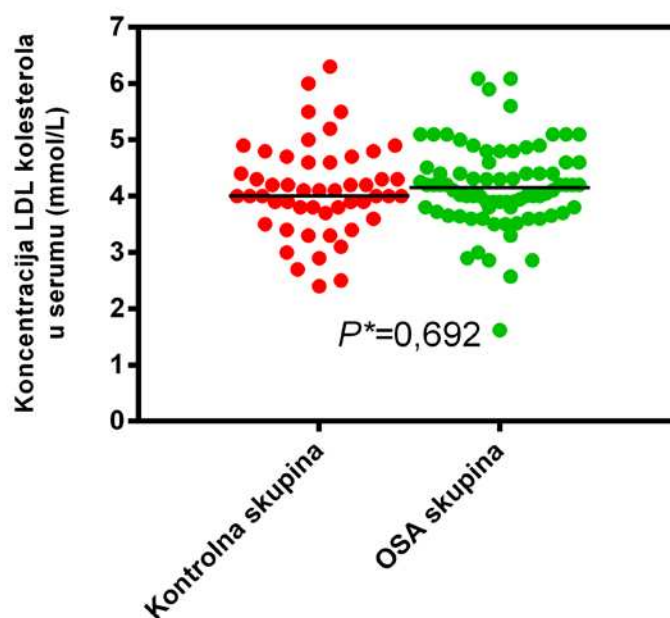
Slika 9. Srednje vrijednosti serumskih koncentracija non-HDL kolesterola u kontrolnoj skupini i skupini OSA bolesnika

*t-test za neovisne uzorke



Slika 10. Srednje vrijednosti serumskih koncentracija ukupnog kolesterola u kontrolnoj skupini i skupini OSA bolesnika

*t-test za neovisne uzorke

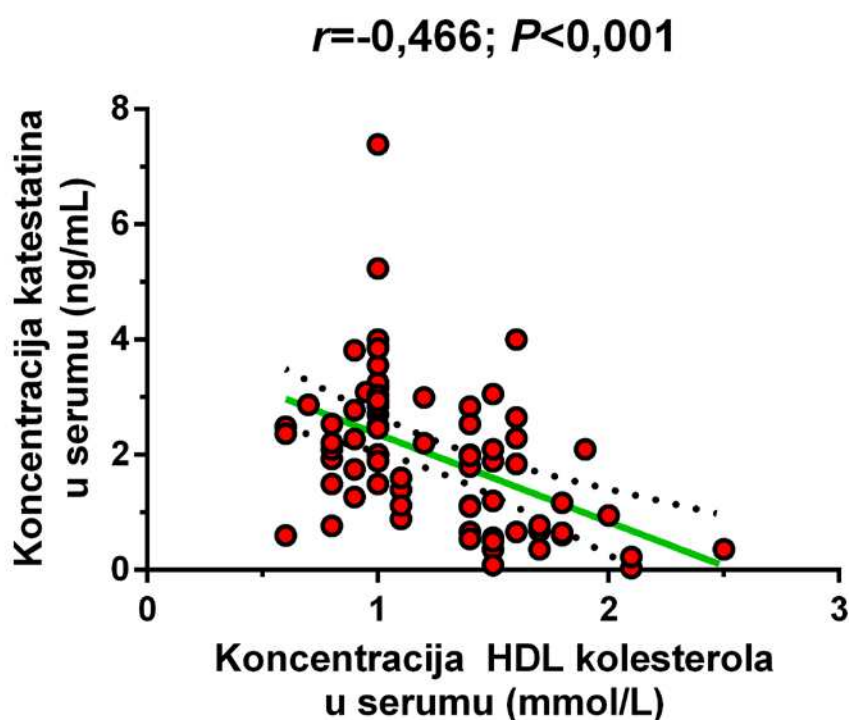


Slika 11. Srednje vrijednosti serumskih koncentracija LDL-kolesterola u kontrolnoj skupini i skupini OSA bolesnika

*t-test za neovisne uzorke

Povezanost katestatina s lipidnim parametrima u OSA bolesnika

Serumske razine katestatina su značajno i negativno korelirale s HDL frakcijom kolesterola ($r=-0,466$; $P<0,001$) (Slika 12), dok značajna povezanost katestatina s ostalim lipidnim parametrima nije statistički dokazana (Tablica 5).



Slika 12. Negativna korelacija između serumskih razina katestatina i HDL-kolesterola u ukupnom uzorku OSA bolesnika utvrđena linearnom regresijskom analizom. Crne isprekidane linije označavaju 95%-tne intervale pouzdanosti

Tablica 5. Pearsonova analiza korelacije između serumskih koncentracija katestatina i lipidnih parametara u OSA bolesnika (N=75)

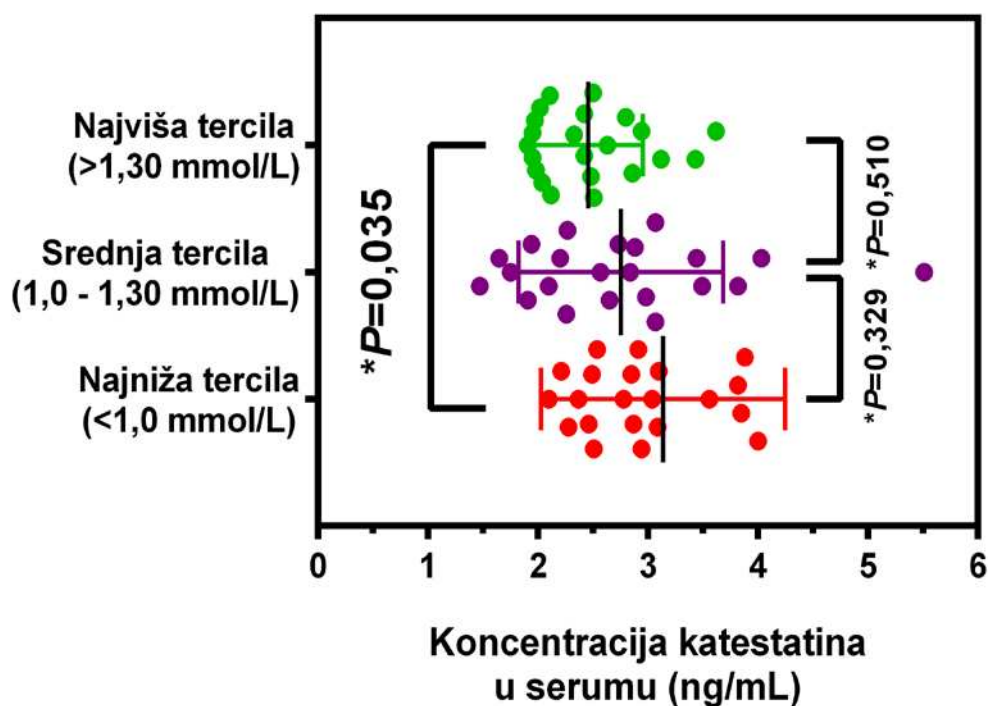
Varijabla	<i>r-vrijednost*</i>	<i>P-vrijednost</i>
Trigliceridi (mmol/L)	0,161	0,064
Ukupni kolesterol (mmol/L)	0,035	0,688
HDL-kolesterol (mmol/L)	-0,466	<0,001
LDL-kolesterol (mmol/L)	0,081	0,341
Non-HDL-kolesterol (mmol/L)	0,160	0,079

* Pearsonov koeficijent korelacije

Kratice: HDL – lipoprotein visoke gustoće (engl. *High-Density Lipoprotein*); LDL – lipoprotein niske gustoće (engl. *Low-Density Lipoprotein*)

U naprednoj analizi povezanosti, izvršenoj koristeći multiplu linearnu regresiju, svi lipidni parametri su prilagođeni za zbunjujuće faktore dobi, ITM i antropometrijske mjere. Navedena analiza potvrdila je da je HDL-kolesterol statistički značajno i negativno povezan s serumskim razinama katestatina ($\beta=-0,434$; $P<0,001$), dok katestatin nije bio statistički značajno povezan s ostalim lipidnim parametrima (podatci nisu prikazani).

Kada se skupina OSA bolesnika podijeli na 3 podskupine po tercilama vrijednosti HDL-kolesterola na onu s najnižim ($<1,0$ mmol/L), srednjim ($1,0-1,30$ mmol/L) i najvišim ($>1,30$ mmol/L) vrijednostima, vidljivo je da se prosječna serumska koncentracija katestatina kreće u obrnutom smjeru od serumske koncentracije HDL-kolesterola. Tako OSA bolesnici u najnižoj tercili HDL-kolesterola imaju značajno višu koncentraciju serumskog katestatina u odnosu na OSA bolesnike u najvišoj tercili HDL-kolesterola ($3,14 \pm 1,11$ vs. $2,46 \pm 0,49$ mmol/L; $P=0,035$), dok je prosječna koncentracija serumskog katestatina u skupini OSA bolesnika koji su se nalazili u srednjoj tercili po vrijednostima HDL-a iznosila $2,75 \pm 0,92$ mmol/L. Nadalje, podskupina OSA bolesnika u srednjoj tercili HDL-kolesterola se nije značajno razlikovala u serumskim koncentracijama katestatina od podskupine u najvišoj tercili HDL-kolesterola ($P=0,510$), kao ni od podskupine u najnižoj tercili HDL-kolesterola ($P=0,329$) (Slika 13).



Slika 13. Raspodjela koncentracija serumskog katestatina s obzirom na tri podskupine OSA bolesnika podijeljenih u tercile po vrijednosti serumskog HDL-kolesterola, od najviše tercile prema najnižoj

*jednosmjerna analiza varijance (ANOVA) s *post-hoc* Bonferroni testom

Multivarijatna regresijska analiza

Multivarijatna logistička analiza prilagođena za dob, ITM i antropometrijske parametre (opseg vrata, struka i bokova) u regresijskom modelu je pokazala da su katestatin (OR 5,01; $P<0,001$), trigliceridi (OR 4,92; $P=0,014$) i HDL-kolesterol (OR 0,34; $P=0,011$) djelovali kao neovisni i statistički značajni prediktori za prisustvo OSA-e (Tablica 6). Ostali lipidni parametri nisu se pokazali kao značajni i neovisni prediktori statusa OSA-e u regresijskom modelu.

Tablica 6. Rezultati multivarijatne logističke regresijske analize prilagođene za dob, ITM i antropometrijske parametre. Serumske razine katestatina, triglicerida i HDL-kolesterola su utvrđene kao neovisni prediktori za prisustvo OSA-e (OSA je u modelu definirana kao glavna ovisna varijabla ishoda)

Neovisni prediktor	<i>OR</i>	<i>95% CI</i>	<i>P-vrijednost</i>
Katestatin	5,01	2,25 - 11,53	<0,001
Trigliceridi	4,92	1,39 - 14,30	0,014
HDL-kolesterol	0,34	0,21 - 0,83	0,011

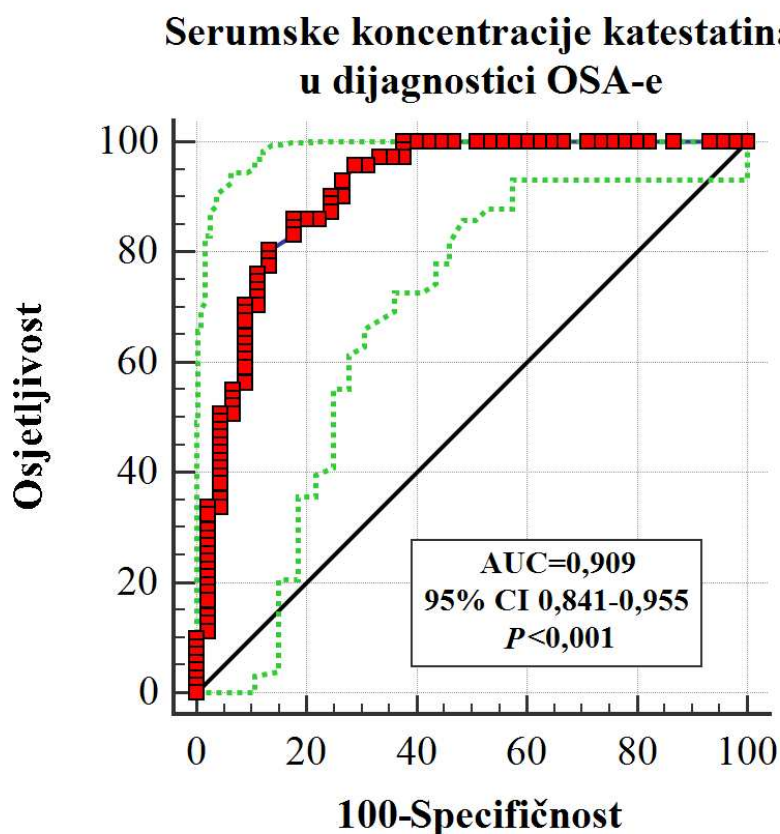
Kratice: 95% CI – 95%-tni interval pouzdanosti (engl. *95% Confidence Interval*);

HDL – lipoprotein visoke gustoće (engl. *High-Density Lipoprotein*);

OR – prilagođeni omjer rizika (engl. *Odds Ratio*)

Dijagnostičke performanse serumskog katestatina u detektiranju OSA-e

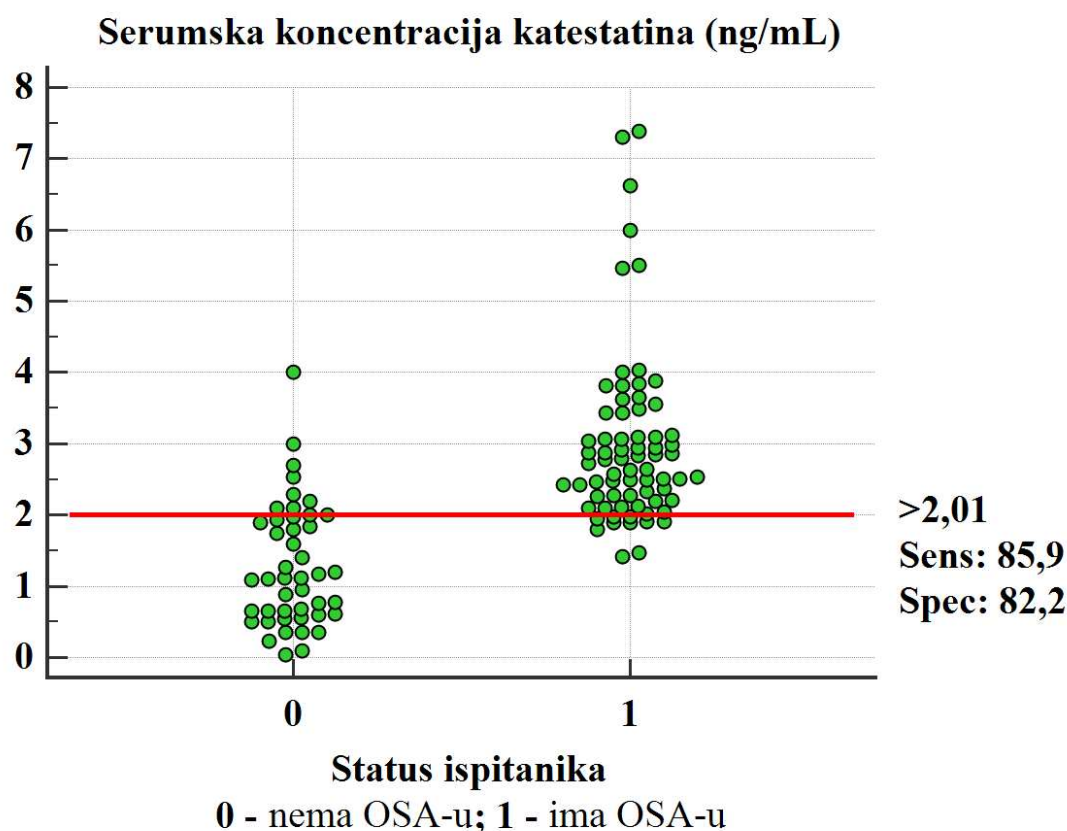
Statistička ROC analiza pokazala je da serumske vrijednosti katestatina u detekciji prisutnosti OSA-e u navedenom uzorku ispitanika postižu vrijednost površine ispod krivulje u iznosu $AUC=0,909$ uz 95%-tni interval pouzdanosti od 0,841 do 0,955 te visoku značajnost statističkog modela ($P<0,001$). U navedenom modelu ROC analize, vrijednost standardne pogreške iznosila je $SE=0,0304$. Idealna „cut-off“ točka serumske koncentracije katestatina određena Youdenovim J indexom iznosila je 2,01 ng/mL i ta vrijednost je postigla 85,92% osjetljivosti i 82,2% specifičnosti za prisutnost i diskriminaciju OSA-e od zdravih ispitanika. Opisana ROC krivulja je prikazana na Slici 14.



Slika 14. Dijagnostička performansa serumskog katestatina za detekciju OSA-e procijenjena statističkom ROC analizom krivulje. Zelenom isprekidanom crtom su označeni 95%-tni intervali pouzdanosti

Kratice: AUC – Područje ispod krivulje (engl. *Area Under the Curve*); ROC – engl. *Receiver Operating Characteristics*

Omjer izgleda (engl. *likelihood ratio*, LR) za OSA-u raste inkrementno kako rastu i izmjerene serumske koncentracije katestatina u ispitivanoj populaciji. Tako su serumske vrijednosti katestatina u rasponu 2 do 3 ng/mL bile povezane s tri puta većim omjerom izgleda za OSA-u (LR 3,031; 95% CI 1,605-5,710; $P<0,001$), dok su vrijednosti katestatina u rasponu 3-4 ng/mL bile povezane s više nego deseterostruko većim omjerom izgleda za OSA-u (LR 10,775; 95% CI 3,485-38,190; $P<0,001$). S druge strane, vrijednosti serumskog katestatina <1 ng/mL u potpunosti isključuju OSA-u (LR 0,000; 95% CI 0,000-0,256; $P<0,001$), dok izmjerene vrijednosti u rasponu od 1 do 2 ng/mL nose sniženi omjer izgleda za OSA-u (LR 0,396; 95% CI 0,197-0,795; $P<0,001$). Sukladno ovim nalazima, analiza dijagnostičke performanse katestatina kao biomarkera za detekciju OSA-e korištenjem Youden J indeksa pokazala je da „*cut-off*“ vrijednost serumskog katestatina $>2,01$ ng/mL postiže osjetljivost od 85,9% i specifičnost od 82,2% za detekciju OSA-e u ispitivanoj populaciji (Slika 15).



Slika 15. Prijelomna (engl. *cut-off*) vrijednost serumskog katestatina koja prema Youden J indeksu iznosi 2,01 ng/mL ili više, a koja postiže osjetljivost od 85,9% i specifičnost od 82,2% za detekciju OSA-e u istraživanoj populaciji

4. RASPRAVA

Glavni nalaz u ovoj studiji je taj da su serumske koncentracije katestatina značajno više u odraslih muških bolesnika s opstrukcijskom apnejom tijekom spavanja u odnosu na zdrave ispitanike koji su bili prilagođeni po spolu, dobi i indeksu tjelesne mase.

Ovo je novo otkriće u kontekstu odrasle OSA populacije jer je, prema našim spoznajama, do sada samo jedno istraživanje izvijestilo o cirkulirajućim razinama katestatina u opstrukcijskoj apneji tijekom spavanja, i to na pedijatrijskoj populaciji (271). U studiji Kima i sur. istraživana je pedijatrijska OSA populacija predpubertetske djece u kojem je prosječna dob ispitanika iznosila $7,7 \pm 1,4$ godine. Nadalje, ista studija je uključila mušku i žensku djecu, dok su u našem istraživanju bili uključeni isključivo odrasli muški ispitanici. U tom istraživanju su djeca s OSA-om imala značajno niže koncentracije katestatina u usporedbi s kontrolnim ispitanicima, no uz spomenute fundamentalne razlike između ova dva istraživanja valja navesti i važnu činjenicu da se osim značajnih dobnih i spolnih razlika ne smije nikako zanemariti ni utjecaj spolnih hormona i složenih patofizioloških i komorbiditetnih procesa koji su prisutni u odrasloj dobi koja je istraživana u ovoj studiji, a koji su potpuno odsutni ili nisu još ni razvijeni u dječjoj i/ili predpubertetskoj dobi. Na temelju svega iznesenog, sasvim je jasno da se ove dvije studije ne mogu međusobno uspoređivati u smislu tumačenja uloge katestatina u OSA-i.

Važno je istaknuti da ova studija ne može dati definitivan odgovor zašto je katestatin značajno povišen u OSA-i u odnosu na zdrave ispitanike, u smislu objašnjenja patofizioloških mehanizama, jer oni nisu bili određeni kao primarni cilj istraživanja ove studije. Međutim, može se znanstveno raspravljati o mogućnostima zašto je dobiven ovakav rezultat.

Budući da je OSA kompleksno stanje kojeg, među ostalim, karakterizira i prekomjerna aktivnost simpatičkog živčanog sustava i sklonost ka sustavnoj vazokonstrikciji zbog adrenergične aktivacije i pretpostavljene povećane aktivnosti RAAS osovine, moguće je da katestatin djeluje po principu negativne povratne sprege i nastoji održati homeostazu autonomnog živčanog sustava te obuzdati proadrenergične sustavne učinke koji su patofiziološki propagirani u OSA-i (277). Treba imati u vidu da je ovo istraživanje u najvećem dijelu uključilo bolesnike s teškom OSA-om koji su imali visoku prosječnu AHI vrijednost ($AHI=44,2 \pm 17,9$ događaja/sat) kao korelat težine bolesti. Ova studija je pokazala da su ti bolesnici imali više nego dvostruko veće razine serumskog katestatina u odnosu na zdrave ispitanike. Moguće je da je upravo u toj populaciji aktivnost simpatičkog živčanog sustava izrazito visoka, što se direktno reflektira i na značajno više izmjerene koncentracije katestatina koji, na drugom kraju vage, nastoji izbalansirati tu neravnotežu.

Već je ranije u tekstu ovog rada elaborirano da katestatin fiziološki djeluje vazodilatacijski, antihipertenzivno i antagonizira adrenergičnu aktivaciju putem blokade sekrecije katekolamina. Samim time, biološki je plauzibilan koncept da bi cirkulirajuće serumske koncentracije katestatina mogle služiti kao surogatni marker simpatičke i katekolaminergične aktivacije općenito, a posebice u OSA populaciji za koju je poznato da ima i visoku prevalenciju arterijske hipertenzije i povišenu aktivnost RAAS osovine (178, 208, 217). Tako su Schillaci i sur. postavili hipotezu da bi katestatin mogao igrati ulogu „*važne endogene kočnice simpatičkog živčanog sustava*“ (206). U populaciji bolesnika s kroničnim srčanim zatajenjem, patološkim stanjem za koje je u nizu studija čvrsto dokazano da je povezano s povećanom aktivnošću simpatičkog živčanog sustava, uočena je slična dinamika cirkulirajućih razina katestatina kao i u ovom istraživanju, u odnosu na zdrave ispitanike (230).

Nadalje, u ovom istraživanju cirkulirajuće razine katestatina su pozitivno i značajno korelirale s AHI vrijednosti samo u podskupini bolesnika koji nisu bili pretili, dok nije uočena značajna povezanost serumskih razina katestatina s bilo kojim drugim polisomnografskim parametrom u regresijskim i korelacijskim analizama. Na tragu već ranije elaboriranih objašnjenja u smislu mehanizama, ovo istraživanje je pokazalo da katestatin pozitivno korelira s težinom bolesti u OSA bolesnika koji nisu pretili zbog mogućeg inkrementnog povećanja simpatičke aktivnosti u toj populaciji. Moguće je da pretilost ($ITM >30 \text{ kg/m}^2$) i depozicija centralnog adipoziteta i visceralnog masnog tkiva, a koji su usko povezani s porastom indeksa tjelesne mase, igraju određenu patofiziološku ulogu u metabolizmu katestatina preko mehanizma koji nije poznat. Činjenica da su serumske razine katestatina bile vrlo slične i u jednoj i u drugoj podskupini OSA bolesnika stratificiranih po indeksu tjelesne mase govori u prilog toj tezi. Nadalje, poznato je da je pretilost snažan rizični faktor za razvoj i progresiju OSA-e te da igra kompleksnu i pleiotropnu ulogu u patofiziologiji bolesti na način da potiče razvoj sustavne upalne reakcije, disregulaciju metabolizma leptina te narušava energetske homeostazu organizma (9). U pretkliničkoj studiji je dokazana funkcionalna uloga katestatina u moduliranju metabolizma lipida i visceralnog adipoznog tkiva putem regulacije adrenergične i leptinske signalizacije, međutim, ti putativni mehanizmi su izvan fokusa ove studije te moraju biti detaljnije istraženi u budućim studijama (256).

Što se tiče direktnog utjecaja katestatina na respiracijsku aktivnost, već je ranije poznato da je injekcija katestatina u kaudalnu ventrolateralnu produženu moždinu smanjila srednji arterijski tlak, te djelovala simpatoinhibitorno na način da je smanjila osjetljivost simpatičkih baroreceptora i aktivnost perifernih kemorefleksa (simpatički živčani odgovor na kratku

hipoksiju) (180). Nadalje, katestatin je u toj regiji produljene moždine smanjio amplitudu freničnog živca, glavnog motoričkog stimulatora dijafragme, skratio vrijeme udisaja te produžio vrijeme izdisaja posredovanih freničnim živcem. U navedenoj regiji medule se nalazi pre-Bötzingerov kompleks (preBötC) koji je sačinjen od klastera neurona koji su esencijalni za generaciju ritma disanja u sisavaca te djeluje kao svojevrsni *pacemaker* respiracije. Moguće je da, zbog obilne kolateralizacije i umreženosti neurona u navedenoj ventrolateralnoj regiji produljene moždine, katestatin ima modulirajući utjecaj na preBötC. Međutim, uloga katestatina u produljenoj moždini nije jednoznačna niti jednostavna jer je ista studija pokazala da u rostralnoj ventrolateralnoj meduli katestatin djeluje simpatoekscitacijski, povećava osjetljivost baroreceptora na simpatičke podražaje i povisuje srednji arterijski tlak. Iz tog razloga, autori su pretpostavili da katestatin ima neuromodulatorne učinke u SŽS-u i da može imati različite učinke u različitim anatomskim centrima putem moduliranja aktivnosti lokalnih neurotransmitera posredstvom mehanizama koji još nisu poznati. Budući da je u OSA bolesnika zbog mehanizma intermitentne hipoksije poremećena fiziologija disanja, moguće je pretpostaviti da se sustavni simpatomodulacijski učinci katestatina eksteniraju i na glavni respiracijski centar u OSA bolesnika čime katestatin djeluje protektivno i štiti respiracijski centar od prekomjerne ekscitacije simpatikusom.

U kontekstu lipidnih parametara, ova studija je pokazala da su bolesnici s OSA-om u prosjeku imali više poremećen lipidogram u odnosu na zdrave ispitanike što se manifestiralo značajno višim koncentracijama triglicerida i non-HDL frakcije kolesterola koja je dokazana kao izrazito proaterogena i visokorizična frakcija kolesterola u smislu nastanka kardiovaskularnih događaja, dok su razine ateroprotektivnog HDL-kolesterola bile značajno niže u OSA bolesnika u odnosu na zdrave ispitanike. Ovi nalazi su komparabilni s rezultatima velikih studija u ovom kontekstu (150).

Ova studija, po prvi puta u OSA populaciji, pokazala je da je u svim regresijskim modelima i korelacijskoj analizi, katestatin značajno i konzistentno korelirao samo s HDL frakcijom kolesterola u odnosu na sve ostale lipidne parametre. Nadalje, u ovom istraživanju ta korelacija je bila negativna, odnosno što su razine HDL-kolesterola bile niže, koncentracije katestatina su paralelno rastle i obrnuto. Tako su OSA bolesnici u najnižoj tercili koncentracije HDL-kolesterola imali značajno više razine serumskog katestatina u odnosu na bolesnike u najvišoj tercili koncentracije HDL-kolesterola.

HDL frakcija kolesterola ima dokazana antiaterogena i antioksidansna svojstva te su ranije studije ukazale na disfunkciju HDL-kolesterola u populaciji bolesnika s opstruktivskom apnejom tijekom spavanja, no on nikada prije nije istražen u smislu odnosa s katestatinom u OSA populaciji (278, 279).

Zapravo, jedina dostupna studija koja je istražila odnos između katestatina i HDL-kolesterola uopće je ona Durakoglugila i sur. koji su na populaciji novodijagnosticiranih hipertoničara koji nisu prethodno uzimali antihipertenzive pronašli neovisnu i pozitivnu povezanost plazmatskih koncentracija katestatina i HDL-kolesterola, nalaz suprotan onome u ovoj studiji (209). Autori su objasnili taj nalaz hipotezom da povećana oksidacija masnih kiselina u jetri i pojačana lipoliza u masnom tkivu, preko prethodno objašnjenog mehanizma katestatinske blokade α -adrenergičnih receptora u jetri i povećanja osjetljivosti receptora za leptin, dovodi do pojačane konverzije otpuštenog kolesterola u HDL-kolesterol unutar adipocita (256, 280). Zbog nedostatka objašnjenja mehanizama i odnosa katestatina i HDL-kolesterola, važno je istaknuti da bi različit rezultat u navedenoj studiji mogao biti uvelike objašnjen činjenicom da je osnovna populacija nad kojom je sprovedeno to istraživanje bila bazalno izrazito drugačija od one u ovoj studiji. Naime, ta studija nije provedena na populaciji OSA bolesnika već na populaciji novodijagnosticiranih hipertoničara, a također su u nju većinski bili uključeni ženski ispitanici što značajno ograničava mogućnost usporedbe navedenih istraživanja. Dakle, mehanizam koji direktno povezuje katestatin i HDL-kolesterol u populaciji OSA bolesnika ostaje nepoznat.

Gledajući sa stajališta mehanizma hipoksije i lipidnih parametara, Li i suradnici su u pretkliničkoj studiji pokazali da mehanizam kronične intermitentne hipoksije zapravo značajno povećava aktivnost gena odgovornih za biosintezu lipida u pretilih životinja, posebice prethodno elaboriranih *SREBP-1* i *SCD-1*. Nadalje, intermitentna hipoksija je preko pojačane transkripcijske aktivnosti navedenih gena utjecala na značajan porast triglicerida i sadržaja fosfolipida u jetri, bez značajne promjene u koncentracijama ukupnog kolesterola u odnosu na životinje koje nisu bile izložene intermitentnoj hipoksiji (166). Budući da se u ovom istraživanju radi o OSA bolesnicima koji su uglavnom pretili (prosječan ITM je iznosio $30,2 \pm 3,1$ kg/m² u toj skupini), a sigurno su izloženi visokim razinama intermitentne hipoksije (što je evidentno iz visoke AHI vrijednosti i činjenice da se radi o OSA bolesnicima koji još nisu započeli liječenje OSA-e), postaje jasno da se između dvije promatrane studije mogu povući biološki plauzibilne paralele. Treba naglasiti da je upravo sličan rezultat u smislu lipidnog

profila uočen na populaciji u ovoj studiji - OSA ispitanici su imali značajno više serumske razine triglicerida, ali ne i ukupnog kolesterola u odnosu na zdrave ispitanike.

Odnos između HDL kolesterola i regulacijskih gena odgovornih za sintezu lipida u jetri je patofiziološki kompleksan i orkestriran od strane mnogih gena i staničnih medijatora, no *in vitro* studija Yoshida i sur. je pokazala da HDL-kolesterol u bazalnim uvjetima inhibira ekspresiju *SREBP-1* gena koji je odgovoran za regulaciju sinteze lipida u jetri te su sugerirali da je održavanje konstantne razine HDL-kolesterola u serumu nužno za prevenciju abnormalne sinteze lipida što ima značajne implikacije u nastanku kardiovaskularne bolesti i ateroskleroze (281).

Kao što je već spomenuto, Li i sur. su među ostalim dokazali značajno povećanu aktivnost gena stearil-koenzim A desaturaze 1 (*SCD-1*) kao posljedicu kronične intermitentne hipoksije na pretilim životinjama (166). Treba istaknuti da *SCD-1* gen po svemu sudeći ima proaterogeno djelovanje u smislu lipogeneze jer je eksperimentalno inducirani deficit *SCD-1* gena izazvao smanjenu proizvodnju triglicerida u jetri i povećao plazmatski klirens triglicerida dok je istodobno značajno povećao koncentraciju HDL-kolesterola u cirkulaciji (282). Slični rezultati su potvrđeni u studiji Savranskyog i sur. provedenoj na životinjskim modelima, a koja je dokazala da je kronična intermitentna hipoksija značajno povećala aktivnost enzima SCD-1 u jetri, povećala plazmatske koncentracije LDL-kolesterola i dovela do stvaranja aterosklerotskih lezija u ascedentnoj i descendentnoj aorti (167). Kada je SCD-1 eksperimentalno blokiran, dislipidemija i ateroskleroza su bile eliminirane. Nadalje, drugi dio iste studije proveden na ljudskim ispitanicima, pokazao je da su jetrene koncentracije glasničke RNA (engl. *messenger RNA*, mRNA) za SCD-1 značajno korelirale sa stupnjem noćne hipoksemije ($r=0,68$; $P=0,001$), dok su bolesnici s noćnim desaturacijama oksihemoglobina imali značajno više koncentracije triglicerida i LDL-kolesterola u usporedbi sa zdravim ispitanicima bez hipoksemije.

Ovim nalazima je pretpostavljena moguća patofiziološka poveznica između učinaka intermitentne hipoksije i metabolizma HDL-kolesterola, uz dokumentirani učinak na trigliceride, ali i na LDL-kolesterol.

Zaključno na temu metabolizma lipida, ova istraživanja bi mogla poslužiti u formiranju hipoteze da je, u pretilih bolesnika s OSA-om koji su neliječeni i izloženi kroničnoj intermitentnoj hipoksiji, kao što je slučaj u ovoj studiji, povećana aktivnost gena za sintezu lipida, posebice *SREBP-1* i *SCD-1* što se negativno reflektira na lipidni profil, te uzrokuje

hipertrigliceridemiju uz niske razine ateroprotektivnog HDL-kolesterola i koncentracije ukupnog kolesterola koje se ne razlikuju u odnosu na one u zdravoj populaciji. Upravo je ovakav lipidni profil uočen u OSA bolesnika uključenih u ovu studiju, kako *per se*, a tako i u usporedbi s kontrolnim ispitanicima. Međutim, ovo su tek putativni mehanizmi i objašnjenja koja nužno zahtijevaju potvrdu u budućim bazičnim i translacijskim istraživanjima koja će se baviti kompleksnom patofiziologijom metabolizma lipida u opstruktivnoj apneji tijekom spavanja, a posebice odnosom katestatina s lipidnim parametrima, svojevrsnoj istraživačkoj niši unutar koje gotovo da i nemamo nikakvih podataka, ali koja svakako nudi stimulus za buduće istraživačke pothvate.

Nadalje, multivarijatna regresijska analiza u ovom istraživanju, prilagođena za zbunjujuće faktore, je pokazala da katestatin, uz HDL-kolesterol i trigliceride ima ulogu neovisnog i značajnog prediktora statusa OSA-e, dok se ostali lipidni parametri nisu pokazali značajnim prediktorima. Ova analiza zapravo ide u prilog ranije diskutiranoj hipotezi da su upravo ti parametri lipidnog metabolizma važni u patofiziologiji OSA-e, uz katestatin.

Konačno, analiza osjetljivosti i specifičnosti i dijagnostičke performanse katestatina kao potencijalnog biomarkera u detekciji statusa OSA-e je pokazala da je katestatin postigao visoku razinu područja ispod krivulje i da bi mogao imati korisnu ulogu u detekciji prisutnosti same bolesti. Međutim, ovdje se mora opet istaknuti da su u ovoj studiji populaciju OSA bolesnika u najvećem broju sačinjavali bolesnici s teškom apnejom (koja je definirana vrijednostima AHI ≥ 30 događaja/sat). U tom smislu ostaje neistraženo kolika bi bila dijagnostička vrijednost katestatina u detekciji prisutnosti bolesti i u odnosu prema lipidnim i polisomnografskim parametrima u populaciji s blagom ili srednje teškom OSA-om.

Ova studija ima određena ograničenja u smislu da se radi o studiji baziranoj na iskustvima jednog Centra za medicinu spavanja i nije uključila ženske ispitanike pa prema tome dobiveni rezultati ne mogu biti generalizirani na cijelu OSA populaciju. Nadalje, parametri neurohumoralne i/ili adrenergične aktivnosti nisu bili direktno mjereni u ovoj studiji pa se o tom aspektu može diskutirati samo iz spekulativne pozicije. Konačno, nad zdravim ispitanicima, od kojih su svi u ovoj studiji postigli vrijednost na STOP-BANG upitniku <3 , nije izvršeno cjelonoćno polisomnografsko ispitivanje pa iz tog razloga ne može biti sasvim isključeno da su neki od ispitanika imali klinički relevantnu OSA-u. S druge strane, postignuta vrijednost <3 na STOP-BANG upitniku ima visoku negativnu prediktivnu vrijednost za rizik umjerene i teške OSA-e.

Zaključno, serumske koncentracije katestatina su značajno više u odraslih muških OSA bolesnika u odnosu na zdravu populaciju i značajno pozitivno koreliraju s težinom bolesti u podskupini bolesnika koji nisu pretili te značajno negativno koreliraju s koncentracijama HDL-kolesterola na ukupnoj populaciji OSA bolesnika. U kontekstu dobivenih rezultata i mogućih podležćih patofizioloških mehanizama moglo bi se pretpostaviti da katestatin ima zaštitnu ulogu u opstrukcijskoj apneji tijekom spavanja, ali u isto vrijeme visoke koncentracije katestatina odražavaju visoku simpatičku aktivnost u cijeloj OSA populaciji te ukazuju na stupanj težine bolesti u onih bolesnika koji nisu pretili. Nadalje, visoke razine izmjerene katestatina u cirkulaciji mogle bi posredno ukazivati i na niske bazalne vrijednosti ateroprotektivne HDL frakcije kolesterola. Konačno, potrebna su daljnja istraživanja u smislu razotkrivanja mehanizama koji bi objasnili ulogu katestatina u složenim patofiziološkim zbivanjima u OSA-i rasvijetlili njegov odnos s parametrima lipidnog metabolizma.

1. Odrasli muški bolesnici s OSA-om imaju više serumske koncentracije katestatina u usporedbi s kontrolnim ispitanicima.
2. Serumske koncentracije katestatina pozitivno koreliraju s vrijednostima apneja-hipopneja indeksa u podskupini OSA bolesnika koji nisu pretili.
3. Serumske koncentracije triglicerida i non-HDL kolesterola su značajno više, a serumske koncentracije HDL-kolesterola značajno niže u OSA bolesnika u usporedbi s kontrolnim ispitanicima.
4. Serumske koncentracije katestatina pokazuju značajnu negativnu korelaciju s vrijednostima HDL-kolesterola u OSA bolesnika.
5. Serumske koncentracije katestatina, triglicerida i HDL-kolesterola su utvrđene kao neovisni i statistički značajni prediktori za prisustvo OSA-e.
6. Katestatin postiže visoku dijagnostičku performansu kao laboratorijski biomarker u detekciji prisutnosti OSA-e.

7. POPIS CITIRANE LITERATURE

1. Jordan AS, McSharry DG, Malhotra A. Adult obstructive sleep apnoea. *Lancet*. 2014;383:736-47.
2. Lévy P, Kohler M, McNicholas WT, Barbé F, McEvoy RD, Somers VK, i sur. Obstructive sleep apnoea syndrome. *Nat Rev Dis Primers*. 2015;1:15015.
3. Sateia MJ. International classification of sleep disorders-third edition: highlights and modifications. *Chest*. 2014;146:1387-94.
4. Punjabi NM. The epidemiology of adult obstructive sleep apnea. *Proc Am Thorac Soc*. 2008;5:136-43.
5. Lurie A. Obstructive sleep apnea in adults: epidemiology, clinical presentation, and treatment options. *Adv Cardiol*. 2011;46:1-42.
6. Redline S, Kump K, Tishler PV, Browner I, Ferrette V. Gender differences in sleep disordered breathing in a community-based sample. *Am J Respir Crit Care Med*. 1994;149:722-6.
7. 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.
8. Hruby A, Hu FB. The Epidemiology of Obesity: A Big Picture. *Pharmacoeconomics*. 2015;33:673-89.
9. Romero-Corral A, Caples SM, Lopez-Jimenez F, Somers VK. Interactions Between Obesity and Obstructive Sleep Apnea: Implications for Treatment. *Chest*. 2010;137:711-9.
10. Drager LF, Togeiro SM, Polotsky VY, Lorenzi-Filho G. Obstructive Sleep Apnea: A Cardiometabolic Risk in Obesity and the Metabolic Syndrome. *J Am Coll Cardiol*. 2013;62:569-76.
11. Peppard PE, Young T, Barnet JH, Palta M, Hagen EW, Hla KM. Increased prevalence of sleep-disordered breathing in adults. *Am J Epidemiol*. 2013;177:1006-14.
12. 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.
13. Sforza E, Roche F, Thomas-Anterion C, Kerleroux J, Beauchet O, Celle S, i sur. Cognitive function and sleep related breathing disorders in a healthy elderly population: the SYNAPSE study. *Sleep*. 2010;33:515-21.
14. Marcus CL, Brooks LJ, Draper KA, Gozal D, Halbower AC, Jones J, i sur. Diagnosis and management of childhood obstructive sleep apnea syndrome. *Pediatrics*. 2012;130:e714-55.

15. Young T, Palta M, Dempsey J, Peppard PE, Nieto FJ, Hla KM. Burden of sleep apnea: rationale, design, and major findings of the Wisconsin Sleep Cohort study. *WMJ*. 2009;108:246-9.
16. Vozoris NT. Sleep apnea-plus: prevalence, risk factors, and association with cardiovascular diseases using United States population-level data. *Sleep Med*. 2012;13:637-44.
17. Young T, Shahar E, Nieto FJ, Redline S, Newman AB, Gottlieb DJ, et al. Predictors of sleep-disordered breathing in community-dwelling adults: the Sleep Heart Health Study. *Arch Intern Med*. 2002;162:893-900.
18. Kendzerska T, Gershon AS, Hawker G, Leung RS, Tomlinson G. Obstructive sleep apnea and risk of cardiovascular events and all-cause mortality: a decade-long historical cohort study. *PLoS Med*. 2014;11:e1001599.
19. Young T, Skatrud J, Peppard PE. Risk factors for obstructive sleep apnea in adults. *JAMA*. 2004;291:2013-6.
20. 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.
21. 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.
22. Young T, Peppard PE, Gottlieb DJ. Epidemiology of obstructive sleep apnea: a population health perspective. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002;165:1217-39.
23. Young T, Finn L. Epidemiological insights into the public health burden of sleep disordered breathing: sex differences in survival among sleep clinic patients. *Thorax*. 1998;53:S16-9.
24. Schwartz AR, Patil SP, Laffan AM, Polotsky V, Schneider H, Smith PL. Obesity and Obstructive Sleep Apnea: Pathogenic Mechanisms and Therapeutic Approaches. *Proc Am Thorac Soc*. 2008;5:185-92.
25. Peppard PE, Young T, Palta M, Dempsey J, Skatrud J. Longitudinal study of moderate weight change and sleep-disordered breathing. *JAMA*. 2000;284:3015-21.
26. Horner RL, Shea SA, McIvor J, Guz A. Pharyngeal size and shape during wakefulness and sleep in patients with obstructive sleep apnoea. *Q J Med*. 1989;72:719-35.
27. Shelton KE, Woodson H, Gay S, Suratt PM. Pharyngeal fat in obstructive sleep apnea. *Am Rev Respir Dis*. 1993;148:462-6.
28. Lozo T, Komnenov D, Badr MS, Mateika JH. Sex differences in sleep disordered breathing in adults. *Respir Physiol Neurobiol*. 2017;245:65-75.

29. Wetter DW, Young TB, Bidwell TR, Badr MS, Palta M. Smoking as a risk factor for sleep-disordered breathing. *Arch Intern Med.* 1994;154:2219-24.
30. Young T, Finn L, Austin D, Peterson A. Menopausal status and sleep-disordered breathing in the Wisconsin Sleep Cohort Study. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003;167:1181-5.
31. Edwards BA, O'Driscoll DM, Ali A, Jordan AS, Trinder J, Malhotra A. Aging and sleep: physiology and pathophysiology. *Sem Respir Crit Care Med.* 2010;31:618-33.
32. Crinion SJ, Ryan S, McNicholas WT. Obstructive sleep apnoea as a cause of nocturnal nondipping blood pressure: recent evidence regarding clinical importance and underlying mechanisms. *Eur Respir J.* 2017;49:1601818.
33. Povitz M, James MT, Pendharkar SR, Raneri J, Hanly PJ, Tsai WH. Prevalence of Sleep-disordered Breathing in Obese Patients with Chronic Hypoxemia. A Cross-Sectional Study. *Ann Am Thorac Soc.* 2015;12:921-7.
34. Liu D, Myles H, Foley DL, Watts GF, Morgan VA, Castle D, i sur. Risk Factors for Obstructive Sleep Apnea Are Prevalent in People with Psychosis and Correlate with Impaired Social Functioning and Poor Physical Health. *Front Psychiatry.* 2016;7:139.
35. 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.
36. Redline S, Tishler PV, Hans MG, Tosteson TD, Strohl KP, Spry K. Racial differences in sleep-disordered breathing in African-Americans and Caucasians. *Am J Respir Crit Care Med.* 1997;155:186-92.
37. Li KK, Kushida C, Powell NB, Riley RW, Guilleminault C. Obstructive sleep apnea syndrome: a comparison between Far-East Asian and white men. *Laryngoscope.* 2000;110:1689-93.
38. Kent BD, Ryan S, McNicholas WT. The genetics of obstructive sleep apnoea. *Curr Opin Pulm Med.* 2010;16:536-42.
39. Gislason T, Johannsson JH, Haraldsson A, Olafsdottir BR, Jonsdottir H, Kong A, i sur. Familial predisposition and cosegregation analysis of adult obstructive sleep apnea and the sudden infant death syndrome. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002;166:833-8.
40. Young T, Skatrud J, Peppard PE. Risk factors for obstructive sleep apnea in adults. *JAMA.* 2004;291:2013-6.
41. Pack AI, Maislin G. Who should get treated for sleep apnea? *Ann Intern Med.* 2001;134:1065-7.

42. Netzer NC, Stoohs RA, Netzer CM, Clark K, Strohl KP. Using the Berlin Questionnaire to identify patients at risk for the sleep apnea syndrome. *Ann Intern Med.* 1999;131:485-91.
43. Krieger J, McNicholas WT, Levy P, De Backer W, Douglas N, Marrone O, i sur. Public health and medicolegal implications of sleep apnoea. *Eur Respir J.* 2002;20:1594-609.
44. Myers KA, Mrkobrada M, Simel DL. Does this patient have obstructive sleep apnea?: The Rational Clinical Examination systematic review. *JAMA.* 2013;310:731-41.
45. Spicuzza L, Caruso D, Di Maria G. Obstructive sleep apnoea syndrome and its management. *Ther Adv Chronic Dis.* 2015;6:273-85.
46. Loh NK, Dinner DS, Foldvary N, Skobieranda F, Yew WW. Do patients with obstructive sleep apnea wake up with headaches? *Arch Intern Med.* 1999;159:1765-8.
47. Flemons WW. Clinical practice. Obstructive sleep apnea. *N Engl J Med.* 2002;347:498-504.
48. Kuna ST, Badr MS, Kimoff RJ, Kushida C, Lee-Chiong T, Levy P, i sur. An official ATS/AASM/ACCP/ERS workshop report: research priorities in ambulatory management of adults with obstructive sleep apnea. *Proc Am Thorac Soc.* 2011;8:1-16.
49. Collop NA, Tracy SL, Kapur V, Mehra R, Kuhlmann D, Fleishman SA, i sur. Obstructive sleep apnea devices for out-of-center (OOC) testing: technology evaluation. *J Clin Sleep Med.* 2011;7:531-48.
50. Collop NA, Anderson WM, Boehlecke B, Claman D, Goldberg R, Gottlieb DJ, i sur. Clinical guidelines for the use of unattended portable monitors in the diagnosis of obstructive sleep apnea in adult patients. Portable Monitoring Task Force of the American Academy of Sleep Medicine. *J Clin Sleep Med.* 2007;3:737-47.
51. Baiardi S, Cirignotta F. *Med Lav.* 2017;108:267-75.
52. Fischer J, Dogas Z, Bassetti CL, Berg S, Grote L, Jennum P, i sur. Standard procedures for adults in accredited sleep medicine centres in Europe. *J Sleep Res.* 2012;21:357-68.
53. Iber C, O'Brien C, Schluter J, Davies S, Leatherman J, Mahowald M. Single night studies in obstructive sleep apnea. *Sleep.* 1991;14:383-5.
54. Berry RB, Budhiraja R, Gottlieb DJ, Gozal D, Iber C, Kapur VK, i sur. Rules for scoring respiratory events in sleep: update of the 2007 AASM manual for the scoring of sleep and associated events: deliberations of the sleep apnea definitions task force of the American Academy of Sleep Medicine. *J Clin Sleep Med.* 2012;8:597-619.
55. Grigg-Damberger MM. The AASM Scoring Manual four years later. *J Clin Sleep Med.* 2012;8:323-32.

56. Gottlieb DJ, Whitney CW, Bonekat WH, Iber C, James GD, Lebowitz M, i sur. Relation of sleepiness to respiratory disturbance index: the Sleep Heart Health Study. *Am J Respir Crit Care Med*. 1999;159:502-7.
57. 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.
58. Qaseem A, Dallas P, Owens DK, Starkey M, Holty JE, Shekelle P, i sur. Diagnosis of obstructive sleep apnea in adults: A clinical practice guideline from the american college of physicians. *Ann Intern Med*. 2014;161:210-20.
59. Semelka M, Wilson J, Floyd R. Diagnosis and Treatment of Obstructive Sleep Apnea in Adults. *Am Fam Physician*. 2016;94:355-60.
60. Health Quality Ontario. Polysomnography in patients with obstructive sleep apnea: an evidence-based analysis. *Ont Health Technol Assess Ser*. 2006;6:1-38.
61. Capdevila OS, Kheirandish-Gozal L, Dayyat E, Gozal D. Pediatric Obstructive Sleep Apnea: Complications, Management, and Long-term Outcomes. *Proc Am Thorac Soc*. 2008;5:274-82.
62. Kaditis AG, Alonso Alvarez ML, Boudewyns A, Alexopoulos EI, Ersu R, Joosten K, i sur. Obstructive sleep disordered breathing in 2- to 18-year-old children: diagnosis and management. *Eur J Respir Dis*. 2016;47:69-94.
63. Dehlink E, Tan HL. Update on paediatric obstructive sleep apnoea. *J Thorac Dis*. 2016;8:224-35.
64. Chan J, Edman JC, Koltai PJ. Obstructive sleep apnea in children. *Am Fam Physician*. 2004;69:1147-54.
65. Abrishami A, Khajehdehi A, Chung F. A systematic review of screening questionnaires for obstructive sleep apnea. *Can J Anaesth*. 2010;57:423-38.
66. Johns MW. Daytime sleepiness, snoring, and obstructive sleep apnea: the Epworth Sleepiness Scale. *Chest*. 1993;103:30-6.
67. 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.
68. Chung F, Abdullah HR, Liao P. STOP-Bang Questionnaire: A Practical Approach to Screen for Obstructive Sleep Apnea. *Chest*. 2016;149:631-8.

69. Chung F, Yang Y, Liao P. Predictive performance of the STOP-Bang score for identifying obstructive sleep apnea in obese patients. *Obes Surg*. 2013;23:2050-7.
70. 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.
71. Luo J, Huang R, Zhong X, Xiao Y, Zhou J. STOP-Bang questionnaire is superior to Epworth sleepiness scales, Berlin questionnaire, and STOP questionnaire in screening obstructive sleep apnea hypopnea syndrome patients. *Chin Med J (Engl)*. 2014;127:3065-70.
72. Lu H, Fu C, Li W, Jiang H, Wu X, Li S. Screening for obstructive sleep apnea syndrome in asthma patients: a prospective study based on Berlin and STOP-Bang questionnaires. *J Thorac Dis*. 2017;9:1945-58.
73. Johns MW. A new method for measuring daytime sleepiness: the Epworth sleepiness scale. *Sleep*. 1991;14:540-5.
74. 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.
75. R Jansari M, Iyer K, S Kulkarni S. The role of Sleep Apnea Clinical Score (SACS) as a pretest probability in obstructive sleep apnea. *Int J Biomed Res*. 2015;6:479-81.
76. Grover M, Mookadam M, Chang Y-H, Parish J. Validating the Diagnostic Accuracy of the Sleep Apnea Clinical Score for Use in Primary Care Populations. *Mayo Clin Proc*. 2016;91:469-76.
77. Marti-Soler H, Hirotsu C, Marques-Vidal P, Vollenweider P, Waeber G, Preisig M, i sur. The NoSAS score for screening of sleep-disordered breathing: a derivation and validation study. *Lancet Respir Med*. 2016;4:742-8.
78. Jonas DE, Amick HR, Feltner C, Weber RP, Arvanitis M, Stine A, i sur. U.S. Preventive Services Task Force Evidence Syntheses, formerly Systematic Evidence Reviews. Screening for Obstructive Sleep Apnea in Adults: An Evidence Review for the US Preventive Services Task Force. Rockville (MD): AHRQ WebM&M. 2017;317:415-33.
79. Dempsey JA, Veasey SC, Morgan BJ, O'Donnell CP. Pathophysiology of sleep apnea. *Physiol Rev*. 2010;90:47-112.
80. Eckert DJ, Malhotra A. Pathophysiology of Adult Obstructive Sleep Apnea. *Proc Am Thorac Soc*. 2008;5:144-53.

81. Mayer P, Pepin J, Bettiga G, Veale D, Ferretti G, Deschaux C, i sur. Relationship between body mass index, age and upper airway measurements in snorers and sleep apnoea patients. *Eur Respir J.* 1996;9:1801-9.
82. White DP. Pathogenesis of obstructive and central sleep apnea. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005;172:1363-70.
83. Horner RL. Contributions of passive mechanical loads and active neuromuscular compensation to upper airway collapsibility during sleep. *J Appl Physiol.* 2007;102:510-2.
84. Ayappa I, Berger KI, Norman RG, Oppenheimer BW, Rapoport DM, Goldring RM. Hypercapnia and Ventilatory Periodicity in Obstructive Sleep Apnea Syndrome. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002;166:1112-5.
85. Krieger J, Sforza E, Aprill M, Lampert E, Weitzenblum E, Ratomaharo J. Pulmonary hypertension, hypoxemia, and hypercapnia in obstructive sleep apnea patients. *Chest.* 1989;96:729-37.
86. Reinke C, Bevans-Fonti S, Drager LF, Shin MK, Polotsky VY. Effects of different acute hypoxic regimens on tissue oxygen profiles and metabolic outcomes. *J Appl Physiol* (1985). 2011;111:881-90.
87. Mazza S, Pepin J-L, Deschaux C, Naegele B, Levy P. Analysis of error profiles occurring during the OSLER test: a sensitive mean of detecting fluctuations in vigilance in patients with obstructive sleep apnea syndrome. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002;166:474-8.
88. McNicholas WT, Bonsignore MR, Management Committee of EU COST ACTION B26. Sleep apnoea as an independent risk factor for cardiovascular disease: current evidence, basic mechanisms and research priorities. *Eur Respir J.* 2007;29:156-78.
89. Smith RP, Veale D, Pepin JL, Levy PA. Obstructive sleep apnoea and the autonomic nervous system. *Sleep Med Rev.* 1998;2:69-92.
90. Somers VK, Mark AL, Zavala DC, Abboud FM. Influence of ventilation and hypocapnia on sympathetic nerve responses to hypoxia in normal humans. *J Appl Physiol* (1985). 1989;67:2095-100.
91. Somers VK, Mark AL, Zavala DC, Abboud FM. Contrasting effects of hypoxia and hypercapnia on ventilation and sympathetic activity in humans. *J Appl Physiol* (1985). 1989;67:2101-6.

92. Tamisier R, Pepin JL, Remy J, Baguet JP, Taylor JA, Weiss JW, i sur. 14 nights of intermittent hypoxia elevate daytime blood pressure and sympathetic activity in healthy humans. *Eur Respir J*. 2011;37:119-28.
93. Gilmartin GS, Lynch M, Tamisier R, Weiss JW. Chronic intermittent hypoxia in humans during 28 nights results in blood pressure elevation and increased muscle sympathetic nerve activity. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2010;299:H925-31.
94. Gilmartin GS, Tamisier R, Curley M, Weiss JW. Ventilatory, hemodynamic, sympathetic nervous system, and vascular reactivity changes after recurrent nocturnal sustained hypoxia in humans. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2008;295:H778-85.
95. Svatikova A, Olson LJ, Wolk R, Phillips BG, Adachi T, Schwartz GL, i sur. Obstructive sleep apnea and aldosterone. *Sleep*. 2009;32:1589-92.
96. Barcelo A, Pierola J, Esquinas C, de la Pena M, Arque M, Alonso-Fernandez A, i sur. Relationship between aldosterone and the metabolic syndrome in patients with obstructive sleep apnea hypopnea syndrome: effect of continuous positive airway pressure treatment. *PloS One*. 2014;9:e84362.
97. Lacedonia D, Tamisier R, Roche F, Monneret D, Baguet JP, Levy P, i sur. Respective effects of OSA treatment and angiotensin receptor blocker on aldosterone in hypertensive OSA patients: a randomized cross-over controlled trial. *Int J Cardiol*. 2014;177:629-31.
98. Ke X, Guo W, Peng H, Hu C, Zhang H, Peng C, i sur. Association of aldosterone excess and apnea-hypopnea index in patients with resistant hypertension. *Sci Rep*. 2017;7:45241.
99. Pratt-Ubunama MN, Nishizaka MK, Boedefeld RL, Cofield SS, Harding SM, Calhoun DA. Plasma aldosterone is related to severity of obstructive sleep apnea in subjects with resistant hypertension. *Chest*. 2007;131:453-9.
100. Pepin JL, Tamisier R, Barone-Rochette G, Launois SH, Levy P, Baguet JP. Comparison of continuous positive airway pressure and valsartan in hypertensive patients with sleep apnea. *Am J Respir Crit Care Med*. 2010;182:954-60.
101. Pedrosa RP, Drager LF, Gonzaga CC, Sousa MG, de Paula LK, Amaro AC, i sur. Obstructive sleep apnea: the most common secondary cause of hypertension associated with resistant hypertension. *Hypertension*. 2011;58:811-7.
102. Portaluppi F, Provini F, Cortelli P, Plazzi G, Bertozzi N, Manfredini R, i sur. Undiagnosed sleep-disordered breathing among male nondippers with essential hypertension. *J Hypertens*. 1997;15:1227-33.

103. Gonzaga C, Bertolami A, Bertolami M, Amodeo C, Calhoun D. Obstructive sleep apnea, hypertension and cardiovascular diseases. *J Hum Hypertens*. 2015;29:705-12.
104. Kumar GK, Rai V, Sharma SD, Ramakrishnan DP, Peng YJ, Souvannakitti D, i sur. Chronic intermittent hypoxia induces hypoxia-evoked catecholamine efflux in adult rat adrenal medulla via oxidative stress. *J Physiol*. 2006;575:229-39.
105. Peng YJ, Yuan G, Khan S, Nanduri J, Makarenko VV, Reddy VD, i sur. Regulation of hypoxia-inducible factor-alpha isoforms and redox state by carotid body neural activity in rats. *J Physiol*. 2014;592:3841-58.
106. Troncoso Brindeiro CM, da Silva AQ, Allahdadi KJ, Youngblood V, Kanagy NL. Reactive oxygen species contribute to sleep apnea-induced hypertension in rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2007;293:H2971-6.
107. Somers VK, Dyken ME, Mark AL, Abboud FM. Parasympathetic hyperresponsiveness and bradyarrhythmias during apnoea in hypertension. *Clin Auton Res*. 1992;2:171-6.
108. Simantirakis EN, Schiza SI, Marketou ME, Chrysostomakis SI, Chlouverakis GI, Klapsinos NC, i sur. Severe bradyarrhythmias in patients with sleep apnoea: the effect of continuous positive airway pressure treatment: a long-term evaluation using an insertable loop recorder. *Eur Heart J*. 2004;25:1070-6.
109. Unnikrishnan D, Jun J, Polotsky V. Inflammation in Sleep Apnea: An Update. *Rev Endocr Metab Disord*. 2015;16:25-34.
110. 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.
111. Ridker PM. High-sensitivity C-reactive protein: potential adjunct for global risk assessment in the primary prevention of cardiovascular disease. *Circulation*. 2001;103:1813-8.
112. Libby P, Ridker PM, Hansson GK, Leducq Transatlantic Network on Atherothrombosis. Inflammation in atherosclerosis: from pathophysiology to practice. *J Am Coll Cardiol*. 2009;54:2129-38.
113. Ridker PM. From C-Reactive Protein to Interleukin-6 to Interleukin-1: Moving Upstream To Identify Novel Targets for Atheroprotection. *Circ Res*. 2016;118:145-56.
114. Ridker PM, MacFadyen JG, Everett BM, Libby P, Thuren T, Glynn RJ. Relationship of C-reactive protein reduction to cardiovascular event reduction following treatment with canakinumab: a secondary analysis from the CANTOS randomised controlled trial. *Lancet*. 2017;391:319-28.

115. Danesh J, Whincup P, Walker M, Lennon L, Thomson A, Appleby P, i sur. Low grade inflammation and coronary heart disease: prospective study and updated meta-analyses. *BMJ*. 2000;321:199-204.
116. Dyugovskaya L, Lavie P, Lavie L. Increased adhesion molecules expression and production of reactive oxygen species in leukocytes of sleep apnea patients. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002;165:934-9.
117. Sanner BM, Konermann M, Tepel M, Groetz J, Mummenhoff C, Zidek W. Platelet function in patients with obstructive sleep apnoea syndrome. *Eur Respir J*. 2000;16:648-52.
118. Lavie L. Obstructive sleep apnoea syndrome--an oxidative stress disorder. *Sleep Med Rev*. 2003;7:35-51.
119. Lavie L, Lavie P. Molecular mechanisms of cardiovascular disease in OSAHS: the oxidative stress link. *Eur Respir J*. 2009;33:1467-84.
120. Kato M, Roberts-Thomson P, Phillips BG, Haynes WG, Winnicki M, Accurso V, i sur. Impairment of endothelium-dependent vasodilation of resistance vessels in patients with obstructive sleep apnea. *Circulation*. 2000;102:2607-10.
121. Kraiczi H, Caidahl K, Samuelsson A, Peker Y, Hedner J. Impairment of vascular endothelial function and left ventricular filling : association with the severity of apnea-induced hypoxemia during sleep. *Chest*. 2001;119:1085-91.
122. Budhiraja R, Parthasarathy S, Quan SF. Endothelial Dysfunction in Obstructive Sleep Apnea. *J Clin Sleep Med*. 2007;3:409-15.
123. Giles TL, Lasserson TJ, Smith BH, White J, Wright J, Cates CJ. Continuous positive airways pressure for obstructive sleep apnoea in adults. *Cochrane Database Syst Rev*. 2006;3:CD001106.
124. McDaid C, Duree KH, Griffin SC, Weatherly HL, Stradling JR, Davies RJ, i sur. A systematic review of continuous positive airway pressure for obstructive sleep apnoea-hypopnoea syndrome. *Sleep Med Rev*. 2009;13:427-36.
125. Epstein LJ, Kristo D, Strollo PJ, Jr., Friedman N, Malhotra A, Patil SP, i sur. Clinical guideline for the evaluation, management and long-term care of obstructive sleep apnea in adults. *J Clin Sleep Med*. 2009;5:263-76.
126. Stasche N. Selective indication for positive airway pressure (PAP) in sleep-related breathing disorders with obstruction. *GMS Curr Top Otorhinolaryngol Head Neck Surg*. 2006;5:Doc06.

127. Freedman N. Treatment of obstructive sleep apnea syndrome. *Clin Chest Med.* 2010;31:187-201.
128. Calik MW. Treatments for Obstructive Sleep Apnea. *J Clin Outcomes Manag.* 2016;23:181-92.
129. Victor LD. Treatment of obstructive sleep apnea in primary care. *Am Fam Physician.* 2004;69:561-8.
130. Pinto JA, Ribeiro DK, Cavallini AFdS, Duarte C, Freitas GS. Comorbidities Associated with Obstructive Sleep Apnea: a Retrospective Study. *Int Arch Otorhinolaryngol.* 2016;20:145-50.
131. Huang QR, Qin Z, Zhang S, Chow CM. Clinical Patterns of Obstructive Sleep Apnea and Its Comorbid Conditions: A Data Mining Approach. *J Clin Sleep Med.* 2008;4:543-50.
132. Galic T, Bozic J, Ivkovic N, Gunjaca G, Kurir Ticinovic T, Dogas 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.* 2015;20:69-77.
133. Somers VK, White DP, Amin R, Abraham WT, Costa F, Culebras A, i sur. Sleep apnea and cardiovascular disease: an American Heart Association/American College of Cardiology Foundation Scientific Statement from the American Heart Association Council for High Blood Pressure Research Professional Education Committee, Council on Clinical Cardiology, Stroke Council, and Council on Cardiovascular Nursing. *J Am Coll Cardiol.* 2008;118:1080-111.
134. Kholdani C, Fares WH, Mohsenin V. Pulmonary hypertension in obstructive sleep apnea: is it clinically significant? A critical analysis of the association and pathophysiology. *Pulm Circ.* 2015;5:220-7.
135. Goyal SK, Sharma A. Atrial fibrillation in obstructive sleep apnea. *World J Cardiol.* 2013;5:157-63.
136. Tung P, Anter E. Atrial Fibrillation And Sleep Apnea: Considerations For A Dual Epidemic. *J Atr Fibrillation.* 2016;8:1283.
137. Yaggi HK, Concato J, Kernan WN, Lichtman JH, Brass LM, Mohsenin V. Obstructive sleep apnea as a risk factor for stroke and death. *N Engl J Med.* 2005;353:2034-41.
138. Doonan RJ, Scheffler P, Lalli M, Kimoff RJ, Petridou ET, Daskalopoulos ME, i sur. Increased arterial stiffness in obstructive sleep apnea: a systematic review. *Hypertens Res.* 2011;34:23-32.

139. Patel N, Donahue C, Shenoy A, Patel A, El-Sherif N. Obstructive sleep apnea and arrhythmia: A systemic review. *Int J Cardiol.* 2017;228:967-70.
140. Shah NA, Yaggi HK, Concato J, Mohsenin V. Obstructive sleep apnea as a risk factor for coronary events or cardiovascular death. *Sleep Breath.* 2010;14:131-6.
141. Gottlieb DJ, Yenokyan G, Newman AB, O'Connor GT, Punjabi NM, Quan SF, i sur. Prospective study of obstructive sleep apnea and incident coronary heart disease and heart failure: the sleep heart health study. *Circulation.* 2010;122:352-60.
142. Hla KM, Young T, Hagen EW, Stein JH, Finn LA, Nieto FJ, i sur. Coronary heart disease incidence in sleep disordered breathing: the Wisconsin Sleep Cohort Study. *Sleep.* 2015;38:677-84.
143. Kasai T, Bradley TD. Obstructive Sleep Apnea and Heart Failure: Pathophysiologic and Therapeutic Implications. *J Am Coll Cardiol.* 2011;57:119-27.
144. Peker Y, Kraiczi H, Hedner J, Loth S, Johansson A, Bende M. An independent association between obstructive sleep apnoea and coronary artery disease. *Eur Respir J.* 1999;14:179-84.
145. Parish JM, Adam T, Facchiano L. Relationship of metabolic syndrome and obstructive sleep apnea. *J Clin Sleep Med.* 2007;3:467-72.
146. Foster GD, Sanders MH, Millman R, Zammit G, Borradaile KE, Newman AB, i sur. Obstructive Sleep Apnea Among Obese Patients With Type 2 Diabetes. *Diabetes Care.* 2009;32:1017-9.
147. Valencia-Flores M, Orea A, Castano VA, Resendiz M, Rosales M, Rebollar V, i sur. Prevalence of sleep apnea and electrocardiographic disturbances in morbidly obese patients. *Obes Res.* 2000;8:262-9.
148. Kent BD, McNicholas WT, Ryan S. Insulin resistance, glucose intolerance and diabetes mellitus in obstructive sleep apnoea. *J Thorac Dis.* 2015;7:1343-57.
149. Bozic J, Galic T, Supe-Domic D, Ivkovic N, Ticinovic Kurir T, Valic Z, i sur. Morning cortisol levels and glucose metabolism parameters in moderate and severe obstructive sleep apnea patients. *Endocrine.* 2016;53:730-9.
150. Nadeem R, Singh M, Nida M, Waheed I, Khan A, Ahmed S, i sur. Effect of obstructive sleep apnea hypopnea syndrome on lipid profile: a meta-regression analysis. *J Clin Sleep Med.* 2014;10:475-89.
151. Punjabi NM, Shahar E, Redline S, Gottlieb DJ, Givelber R, Resnick HE. Sleep-disordered breathing, glucose intolerance, and insulin resistance: the Sleep Heart Health Study. *Am J Epidemiol.* 2004;160:521-30.

152. Reichmuth KJ, Austin D, Skatrud JB, Young T. Association of sleep apnea and type II diabetes: a population-based study. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005;172:1590-5.
153. Drager LF, Li J, Reinke C, Bevans-Fonti S, Jun JC, Polotsky VY. Intermittent hypoxia exacerbates metabolic effects of diet-induced obesity. *Obesity (Silver Spring)*. 2011;19:2167-74.
154. Polotsky VY, Li J, Punjabi NM, Rubin AE, Smith PL, Schwartz AR, i sur. Intermittent hypoxia increases insulin resistance in genetically obese mice. *J Physiol*. 2003;552:253-64.
155. Louis M, Punjabi NM. Effects of acute intermittent hypoxia on glucose metabolism in awake healthy volunteers. *J Appl Physiol (1985)*. 2009;106:1538-44.
156. Marin JM, Soriano JB, Carrizo SJ, Boldova A, Celli BR. Outcomes in Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease and Obstructive Sleep Apnea. *Am J Respir Crit Care Med*. 2010;182:325-31.
157. McNicholas WT. Chronic obstructive pulmonary disease and obstructive sleep apnoea-the overlap syndrome. *J Thorac Dis*. 2016;8:236-42.
158. Jung H-k, Choung RS, Talley NJ. Gastroesophageal Reflux Disease and Sleep Disorders: Evidence for a Causal Link and Therapeutic Implications. *J Neurogastroenterol Motil*. 2010;16:22-9.
159. Fujiwara Y, Arakawa T, Fass R. Gastroesophageal reflux disease and sleep disturbances. *J Gastroenterol*. 2012;47:760-9.
160. Galic T, Bozic J, Pecotic R, Ivkovic N, Valic M, Dogas Z. Improvement of Cognitive and Psychomotor Performance in Patients with Mild to Moderate Obstructive Sleep Apnea Treated with Mandibular Advancement Device: A Prospective 1-Year Study. *J Clin Sleep Med*. 2016;12:177-86.
161. Jehan S, Auguste E, Pandi-Perumal SR, Kalinowski J, Myers AK, Zizi F, i sur. Depression, Obstructive Sleep Apnea and Psychosocial Health. *Sleep Med Disord*. 2017;1:00012.
162. Schröder CM, O'Hara R. Depression and Obstructive Sleep Apnea (OSA). *Ann Gen Psychiatry*. 2005;4:13.
163. Li J, Thorne LN, Punjabi NM, Sun CK, Schwartz AR, Smith PL, i sur. Intermittent hypoxia induces hyperlipidemia in lean mice. *Circ Res*. 2005;97:698-706.
164. Horton JD, Bashmakov Y, Shimomura I, Shimano H. Regulation of sterol regulatory element binding proteins in livers of fasted and refed mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998;95:5987-92.

165. Magana MM, Lin SS, Dooley KA, Osborne TF. Sterol regulation of acetyl coenzyme A carboxylase promoter requires two interdependent binding sites for sterol regulatory element binding proteins. *J Lipid Res.* 1997;38:1630-8.
166. Li J, Grigoryev DN, Ye SQ, Thorne L, Schwartz AR, Smith PL, i sur. Chronic intermittent hypoxia upregulates genes of lipid biosynthesis in obese mice. *J Appl Physiol (1985).* 2005;99:1643-8.
167. Savransky V, Jun J, Li J, Nanayakkara A, Fonti S, Moser AB, i sur. Dyslipidemia and atherosclerosis induced by chronic intermittent hypoxia are attenuated by deficiency of stearyl coenzyme A desaturase. *Circ Res.* 2008;103:1173-80.
168. Adedayo AM, Olafiranye O, Smith D, Hill A, Zizi F, Brown C, i sur. Obstructive sleep apnea and dyslipidemia: evidence and underlying mechanism. *Sleep Breath.* 2014;18:13-8.
169. Drager LF, Polotsky VY. Lipid metabolism: a new frontier in sleep apnea research. *Am J Respir Crit Care Med.* 2011;184:288-90.
170. Phillips CL, Yee BJ, Marshall NS, Liu PY, Sullivan DR, Grunstein RR. Continuous positive airway pressure reduces postprandial lipidemia in obstructive sleep apnea: a randomized, placebo-controlled crossover trial. *Am J Respir Crit Care Med.* 2011;184:355-61.
171. McEvoy RD, Antic NA, Heeley E, Luo Y, Ou Q, Zhang X, i sur. CPAP for Prevention of Cardiovascular Events in Obstructive Sleep Apnea. *N Engl J Med.* 2016;375:919-31.
172. Xu H, Yi H, Guan J, Yin S. Effect of continuous positive airway pressure on lipid profile in patients with obstructive sleep apnea syndrome: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Atherosclerosis.* 2014;234:446-53.
173. Nadeem R, Singh M, Nida M, Kwon S, Sajid H, Witkowski J, i sur. Effect of CPAP treatment for obstructive sleep apnea hypopnea syndrome on lipid profile: a meta-regression analysis. *J Clin Sleep Med.* 2014;10:1295-302.
174. Carneiro G, Togeiro SM, Ribeiro-Filho FF, Truksinas E, Ribeiro AB, Zanella MT, i sur. Continuous positive airway pressure therapy improves hypoadiponectinemia in severe obese men with obstructive sleep apnea without changes in insulin resistance. *Metab Syndr Relat Disord.* 2009;7:537-42.
175. Sanchez-de-la-Torre M, Mediano O, Barcelo A, Pierola J, de la Pena M, Esquinas C, i sur. The influence of obesity and obstructive sleep apnea on metabolic hormones. *Sleep Breath.* 2012;16:649-56.

176. Drager LF, Jun J, Polotsky VY. Obstructive sleep apnea and dyslipidemia: implications for atherosclerosis. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2010;17:161-5.
177. Drager LF, Jun JC, Polotsky VY. Metabolic consequences of intermittent hypoxia: relevance to obstructive sleep apnea. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2010;24:843-51.
178. Mahata SK, O'Connor DT, Mahata M, Yoo SH, Taupenot L, Wu H, i sur. Novel autocrine feedback control of catecholamine release. A discrete chromogranin A fragment is a noncompetitive nicotinic cholinergic antagonist. *J Clin Invest.* 1997;100:1623-33.
179. Mahata SK, Mahata M, Fung MM, O'Connor DT. Catestatin: a multifunctional peptide from chromogranin A. *Regul Pept.* 2010;162:33-43.
180. Gaede AH, Pilowsky PM. Catestatin, a chromogranin A-derived peptide, is sympathoinhibitory and attenuates sympathetic barosensitivity and the chemoreflex in rat CVLM. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2012;302:R365-72.
181. Taupenot L, Harper KL, O'Connor DT. The chromogranin-secretogranin family. *N Engl J Med.* 2003;348:1134-49.
182. Helle KB, Corti A, Metz-Boutigue MH, Tota B. The endocrine role for chromogranin A: a prohormone for peptides with regulatory properties. *Cell Mol Life Sci.* 2007;64:2863-86.
183. Takiyyuddin MA, Cervenka JH, Hsiao RJ, Barbosa JA, Parmer RJ, O'Connor DT. Chromogranin A. Storage and release in hypertension. *Hypertension.* 1990;15:237-46.
184. Takiyyuddin MA, Cervenka JH, Sullivan PA, Pandian MR, Parmer RJ, Barbosa JA, i sur. Is physiologic sympathoadrenal catecholamine release exocytotic in humans? *Circulation.* 1990;81:185-95.
185. Troger J, Theurl M, Kirchmair R, Pasqua T, Tota B, Angelone T, i sur. Granin-derived peptides. *Prog Neurobiol.* 2017;154:37-61.
186. Stridsberg M, Husebye ES. Chromogranin A and chromogranin B are sensitive circulating markers for pheochromocytoma. *Eur J Endocrinol.* 1997;136:67-73.
187. O'Connor DT, Deftos LJ. Secretion of chromogranin A by peptide-producing endocrine neoplasms. *N Engl J Med.* 1986;314:1145-51.
188. Nikou GC, Lygidakis NJ, Toubanakakis C, Pavlatos S, Tseleni-Balafouta S, Giannatou E, i sur. Current diagnosis and treatment of gastrointestinal carcinoids in a series of 101 patients: the significance of serum chromogranin-A, somatostatin receptor scintigraphy and somatostatin analogues. *Hepatogastroenterology.* 2005;52:731-41.

189. Conlon JM. Granin-derived peptides as diagnostic and prognostic markers for endocrine tumors. *Regul Pept.* 2010;165:5-11.
190. Prommegger R, Ensinger C, Adlassnig C, Vaingankar S, Mahata SK, Marksteiner J, i sur. Catestatin--a novel neuropeptide in carcinoid tumors of the appendix. *Anticancer Res.* 2004;24:311-6.
191. Ceconi C, Ferrari R, Bachetti T, Opasich C, Volterrani M, Colombo B, i sur. Chromogranin A in heart failure; a novel neurohumoral factor and a predictor for mortality. *Eur Heart J.* 2002;23:967-74.
192. Omland T, Dickstein K, Syversen U. Association between plasma chromogranin A concentration and long-term mortality after myocardial infarction. *Am J Med.* 2003;114:25-30.
193. Estensen ME, Hognestad A, Syversen U, Squire I, Ng L, Kjekshus J, i sur. Prognostic value of plasma chromogranin A levels in patients with complicated myocardial infarction. *Am Heart J.* 2006;152:927.e1-6.
194. Pieroni M, Corti A, Tota B, Curnis F, Angelone T, Colombo B, i sur. Myocardial production of chromogranin A in human heart: a new regulatory peptide of cardiac function. *Eur Heart J.* 2007;28:1117-27.
195. Schulze PC. Chromogranin A: friend or foe of the failing myocardium? *Eur Heart J.* 2007;28:1052-3.
196. Mazza R, Imbrogno S, Tota B. The interplay between chromogranin A-derived peptides and cardiac natriuretic peptides in cardioprotection against catecholamine-evoked stress. *Regul Pept.* 2010;165:86-94.
197. Gayen JR, Gu Y, O'Connor DT, Mahata SK. Global disturbances in autonomic function yield cardiovascular instability and hypertension in the chromogranin a null mouse. *Endocrinology.* 2009;150:5027-35.
198. Di Comite G, Morganti A. Chromogranin A: a novel factor acting at the cross road between the neuroendocrine and the cardiovascular systems. *J Hypertens.* 2011;29:409-14.
199. Corti A, Marcucci F, Bachetti T. Circulating chromogranin A and its fragments as diagnostic and prognostic disease markers. *Pflugers Arch.* 2018;470:199-210.
200. Broedbaek K, Hilsted L. Chromogranin A as biomarker in diabetes. *Biomark Med.* 2016;10:1181-9.

201. Mahapatra NR, Mahata M, Mahata SK, O'Connor DT. The chromogranin A fragment catestatin: specificity, potency and mechanism to inhibit exocytotic secretion of multiple catecholamine storage vesicle co-transmitters. *J Hypertens*. 2006;24:895-904.
202. Fung MM, Salem RM, Mehtani P, Thomas B, Lu CF, Perez B, i sur. Direct vasoactive effects of the chromogranin A (CHGA) peptide catestatin in humans in vivo. *Clin Exp Hypertens*. 2010;32:278-87.
203. Mahapatra NR, O'Connor DT, Vaingankar SM, Hikim AP, Mahata M, Ray S, i sur. Hypertension from targeted ablation of chromogranin A can be rescued by the human ortholog. *J Clin Invest*. 2005;115:1942-52.
204. Kiranmayi M, Chirasani VR, Allu PK, Subramanian L, Martelli EE, Sahu BS, i sur. Catestatin Gly364Ser Variant Alters Systemic Blood Pressure and the Risk for Hypertension in Human Populations via Endothelial Nitric Oxide Pathway. *Hypertension*. 2016;68:334-47.
205. Rao F, Wen G, Gayen JR, Das M, Vaingankar SM, Rana BK, i sur. Catecholamine release-inhibitory peptide catestatin (chromogranin A(352-372)): naturally occurring amino acid variant Gly364Ser causes profound changes in human autonomic activity and alters risk for hypertension. *Circulation*. 2007;115:2271-81.
206. Schillaci G, De Vuono S, Pucci G. An endogenous brake on the sympathetic nervous system: the emerging role of catestatin in hypertension. *J Cardiovasc Med (Hagerstown)*. 2011;12:609-12.
207. O'Connor DT, Kailasam MT, Kennedy BP, Ziegler MG, Yanaihara N, Parmer RJ. Early decline in the catecholamine release-inhibitory peptide catestatin in humans at genetic risk of hypertension. *J Hypertens*. 2002;20:1335-45.
208. Meng L, Ye XJ, Ding WH, Yang Y, Di BB, Liu L, i sur. Plasma catecholamine release-inhibitory peptide catestatin in patients with essential hypertension. *J Cardiovasc Med (Hagerstown)*. 2011;12:643-7.
209. Durakoglugil ME, Ayaz T, Kocaman SA, Kirbas A, Durakoglugil T, Erdogan T, i sur. The relationship of plasma catestatin concentrations with metabolic and vascular parameters in untreated hypertensive patients: Influence on high-density lipoprotein cholesterol. *Anatol J Cardiol*. 2015;15:577-85.
210. Kruger PG, Mahata SK, Helle KB. Catestatin (CgA344-364) stimulates rat mast cell release of histamine in a manner comparable to mastoparan and other cationic charged neuropeptides. *Regul Pept*. 2003;114:29-35.

211. Kennedy BP, Mahata SK, O'Connor DT, Ziegler MG. Mechanism of cardiovascular actions of the chromogranin A fragment catestatin in vivo. *Peptides*. 1998;19:1241-8.
212. Theurl M, Schgoer W, Albrecht K, Jeschke J, Egger M, Beer AG, i sur. The neuropeptide catestatin acts as a novel angiogenic cytokine via a basic fibroblast growth factor-dependent mechanism. *Circ Res*. 2010;107:1326-35.
213. Guo X, Zhou C, Sun N. The neuropeptide catestatin promotes vascular smooth muscle cell proliferation through the Ca²⁺-calcineurin-NFAT signaling pathway. *Biochem Biophys Res Commun*. 2011;407:807-12.
214. Xu W, Yu H, Li W, Gao W, Guo L, Wang G. Plasma Catestatin: A Useful Biomarker for Coronary Collateral Development with Chronic Myocardial Ischemia. *PLoS One*. 2016;11:e0149062.
215. Crippa L, Bianco M, Colombo B, Gasparri AM, Ferrero E, Loh YP, i sur. A new chromogranin A-dependent angiogenic switch activated by thrombin. *Blood*. 2013;121:392-402.
216. Helle KB, Corti A. Chromogranin A: a paradoxical player in angiogenesis and vascular biology. *Cell Mol Life Sci*. 2015;72:339-48.
217. Mahata SK, Kiranmayi M, Mahapatra NR. Catestatin: A Master Regulator of Cardiovascular Functions. *Curr Med Chem*. 2018;25:1352-74.
218. Zhao Y, Zhu D. Potential applications of catestatin in cardiovascular diseases. *Biomark Med*. 2016;10:877-88.
219. Borovac JA, Bozic J, Kurir TT. Katestatin-novi biomarker kardiovaskularne funkcije i arterijskog tlaka: istraživačke perspektive i klinička primjena. *Cardiol Croat*. 2017;12:77.
220. Mazza R, Tota B, Gattuso A. Cardio-vascular activity of catestatin: interlocking the puzzle pieces. *Curr Med Chem*. 2015;22:292-304.
221. Angelone T, Quintieri AM, Brar BK, Limchaiyawat PT, Tota B, Mahata SK, i sur. The antihypertensive chromogranin a peptide catestatin acts as a novel endocrine/paracrine modulator of cardiac inotropism and lusitropism. *Endocrinology*. 2008;149:4780-93.
222. Kabadi SV, Ally A. Negative cardiotropism by catestatin and its variants. *Endocrinology*. 2008;149:4778-9.
223. Mazza R, Gattuso A, Mannarino C, Brar BK, Barbieri SF, Tota B, i sur. Catestatin (chromogranin A344-364) is a novel cardiosuppressive agent: inhibition of isoproterenol and endothelin signaling in the frog heart. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2008;295:H113-22.

224. Angelone T, Quintieri AM, Pasqua T, Gentile S, Tota B, Mahata SK, i sur. Phosphodiesterase type-2 and NO-dependent S-nitrosylation mediate the cardioinhibition of the antihypertensive catestatin. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2012;302:H431-42.
225. Bassino E, Fornero S, Gallo MP, Ramella R, Mahata SK, Tota B, i sur. A novel catestatin-induced antiadrenergic mechanism triggered by the endothelial PI3K-eNOS pathway in the myocardium. *Cardiovasc Res*. 2011;91:617-24.
226. Angelone T, Quintieri AM, Pasqua T, Filice E, Cantafio P, Scavello F, i sur. The NO stimulator, Catestatin, improves the Frank-Starling response in normotensive and hypertensive rat hearts. *Nitric Oxide*. 2015;50:10-9.
227. Mazza R, Pasqua T, Gattuso A. Cardiac heterometric response: the interplay between Catestatin and nitric oxide deciphered by the frog heart. *Nitric Oxide*. 2012;27:40-9.
228. Zhu D, Wang F, Yu H, Mi L, Gao W. Catestatin is useful in detecting patients with stage B heart failure. *Biomarkers*. 2011;16:691-7.
229. Yancy CW, Jessup M, Bozkurt B, Butler J, Casey DE Jr, Drazner MH, i sur. 2013 ACCF/AHA guideline for the management of heart failure: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *J Am Coll Cardiol*. 2013;62:e147-239.
230. Liu L, Ding W, Li R, Ye X, Zhao J, Jiang J, i sur. Plasma levels and diagnostic value of catestatin in patients with heart failure. *Peptides*. 2013;46:20-5.
231. Ji L, Pei ZQ, Ma DF, Zhang J, Su JS, Gao XD, i sur. Prognostic value of circulating catestatin levels for in-hospital heart failure in patients with acute myocardial infarction. *Zhonghua Xin Xue Guan Bing Za Zhi*. 2012;40:914-9.
232. Peng F, Chu S, Ding W, Liu L, Zhao J, Cui X, i sur. The predictive value of plasma catestatin for all-cause and cardiac deaths in chronic heart failure patients. *Peptides*. 2016;86:112-7.
233. Ottesen AH, Carlson CR, Louch WE, Dahl MB, Sandbu RA, Johansen RF, i sur. Glycosylated Chromogranin A in Heart Failure: Implications for Processing and Cardiomyocyte Calcium Homeostasis. *Circ Heart Fail*. 2017;10:e003675.
234. Grandi E, Edwards AG, Herren AW, Bers DM. CaMKII comes of age in cardiac health and disease. *Front Pharmacol*. 2014;5:154.
235. Braunwald E. Cardiomyopathies: An Overview. *Circ Res*. 2017;121:711-21.
236. Braunwald E. Heart failure. *JACC Heart Fail*. 2013;1:1-20.

237. van der Wal HH, van Deursen VM, van der Meer P, Voors AA. Comorbidities in Heart Failure. *Handb Exp Pharmacol*. 2017;243:35-66.
238. van Deursen VM, Urso R, Laroche C, Damman K, Dahlstrom U, Tavazzi L, i sur. Co-morbidities in patients with heart failure: an analysis of the European Heart Failure Pilot Survey. *Eur J Heart Fail*. 2014;16:103-11.
239. Lüscher TF. Heart failure and comorbidities: renal failure, diabetes, atrial fibrillation, and inflammation. *Eur Heart J*. 2015;36:1415-7.
240. Liu L, Ding W, Zhao F, Shi L, Pang Y, Tang C. Plasma levels and potential roles of catestatin in patients with coronary heart disease. *Scand Cardiovasc J*. 2013;47:217-24.
241. Meng L, Wang J, Ding WH, Han P, Yang Y, Qi LT, i sur. Plasma catestatin level in patients with acute myocardial infarction and its correlation with ventricular remodelling. *Postgrad Med J*. 2013;89:193-6.
242. Zhu D, Xie H, Wang X, Liang Y, Yu H, Gao W. Catestatin-A Novel Predictor of Left Ventricular Remodeling After Acute Myocardial Infarction. *Sci Rep*. 2017;7:44168.
243. Zhu D, Xie H, Wang X, Liang Y, Yu H, Gao W. Correlation of plasma catestatin level and the prognosis of patients with acute myocardial infarction. *PLoS One*. 2015;10:e0122993.
244. Wang X, Xu S, Liang Y, Zhu D, Mi L, Wang G, i sur. Dramatic changes in catestatin are associated with hemodynamics in acute myocardial infarction. *Biomarkers*. 2011;16:372-7.
245. Penna C, Tullio F, Perrelli MG, Mancardi D, Pagliaro P. Cardioprotection against ischemia/reperfusion injury and chromogranin A-derived peptides. *Curr Med Chem*. 2012;19:4074-85.
246. Angelone T, Mazza R, Cerra MC. Chromogranin-A: a multifaceted cardiovascular role in health and disease. *Curr Med Chem*. 2012;19:4042-50.
247. Pei Z, Ma D, Ji L, Zhang J, Su J, Xue W, i sur. Usefulness of catestatin to predict malignant arrhythmia in patients with acute myocardial infarction. *Peptides*. 2014;55:131-5.
248. Liao F, Zheng Y, Cai J, Fan J, Wang J, Yang J, i sur. Catestatin attenuates endoplasmic reticulum induced cell apoptosis by activation type 2 muscarinic acetylcholine receptor in cardiac ischemia/reperfusion. *Sci Rep*. 2015;5:16590.
249. Bassino E, Fornero S, Gallo MP, Gallina C, Femmino S, Levi R, i sur. Catestatin exerts direct protective effects on rat cardiomyocytes undergoing ischemia/reperfusion by

- stimulating PI3K-Akt-GSK3 β pathway and preserving mitochondrial membrane potential. *PLoS One*. 2015;10:e0119790.
250. Perrelli MG, Tullio F, Angotti C, Cerra MC, Angelone T, Tota B, i sur. Catestatin reduces myocardial ischaemia/reperfusion injury: involvement of PI3K/Akt, PKCs, mitochondrial KATP channels and ROS signalling. *Pflugers Archiv*. 2013;465:1031-40.
 251. Wang D, Liu T, Shi S, Li R, Shan Y, Huang Y, i sur. Chronic Administration of Catestatin Improves Autonomic Function and Exerts Cardioprotective Effects in Myocardial Infarction Rats. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*. 2016;21:526-35.
 252. Dev NB, Mir SA, Gayen JR, Siddiqui JA, Mustapic M, Vaingankar SM. Cardiac electrical activity in a genomically "humanized" chromogranin a monogenic mouse model with hyperadrenergic hypertension. *J Cardiovasc Transl Res*. 2014;7:483-93.
 253. Liu R, Sun NL, Yang SN, Guo JQ. Catestatin could ameliorate proliferating changes of target organs in spontaneously hypertensive rats. *Chin Med J (Engl)*. 2013;126:2157-62.
 254. Wu Z, Zhu D. The important role of catestatin in cardiac remodeling. *Biomarkers*. 2014;19:625-30.
 255. Penna C, Pasqua T, Amelio D, Perrelli MG, Angotti C, Tullio F, i sur. Catestatin increases the expression of anti-apoptotic and pro-angiogenic factors in the post-ischemic hypertrophied heart of SHR. *PLoS One*. 2014;9:e102536.
 256. Bandyopadhyay GK, Vu CU, Gentile S, Lee H, Biswas N, Chi NW, i sur. Catestatin (chromogranin A(352-372)) and novel effects on mobilization of fat from adipose tissue through regulation of adrenergic and leptin signaling. *J Biol Chem*. 2012;287:23141-51.
 257. Kojima M, Ozawa N, Mori Y, Takahashi Y, Watanabe-Kominato K, Shirai R, i sur. Catestatin Prevents Macrophage-Driven Atherosclerosis but Not Arterial Injury-Induced Neointimal Hyperplasia. *Thromb Haemost*. 2018;118:182-94.
 258. Sahu BS, Obbineni JM, Sahu G, Allu PK, Subramanian L, Sonawane PJ, i sur. Functional genetic variants of the catecholamine-release-inhibitory peptide catestatin in an Indian population: allele-specific effects on metabolic traits. *J Biol Chem*. 2012;287:43840-52.
 259. Ying W, Mahata S, Bandyopadhyay GK, Zhou Z, Wollam J, Vu J, i sur. Catestatin Inhibits Obesity-Induced Macrophage Infiltration and Inflammation in the Liver and Suppresses Hepatic Glucose Production, Leading to Improved Insulin Sensitivity. *Diabetes*. 2018;67:841-8.

260. Dominguez Rieg JA, Chirasani VR, Koepsell H, Senapati S, Mahata SK, Rieg T. Regulation of intestinal SGLT1 by catestatin in hyperleptinemic type 2 diabetic mice. *Lab Invest.* 2016;96:98-111.
261. Aung G, Niyonsaba F, Ushio H, Kajiwarra N, Saito H, Ikeda S, i sur. Catestatin, a neuroendocrine antimicrobial peptide, induces human mast cell migration, degranulation and production of cytokines and chemokines. *Immunology.* 2011;132:527-39.
262. Egger M, Beer AG, Theurl M, Schgoer W, Hotter B, Tatarczyk T, i sur. Monocyte migration: a novel effect and signaling pathways of catestatin. *Eur J Pharmacol.* 2008;598:104-11.
263. Halova I, Draberova L, Draber P. Mast cell chemotaxis - chemoattractants and signaling pathways. *Front Immunol.* 2012;3:119.
264. Rabbi MF, Eissa N, Muniyaka PM, Kermarrec L, Elgazzar O, Khafipour E, i sur. Reactivation of Intestinal Inflammation Is Suppressed by Catestatin in a Murine Model of Colitis via M1 Macrophages and Not the Gut Microbiota. *Front Immunol.* 2017;8:985.
265. Rabbi MF, Labis B, Metz-Boutigue MH, Bernstein CN, Ghia JE. Catestatin decreases macrophage function in two mouse models of experimental colitis. *Biochem Pharmacol.* 2014;89:386-98.
266. Radek KA, Lopez-Garcia B, Hupe M, Niesman IR, Elias PM, Taupenot L, i sur. The neuroendocrine peptide catestatin is a cutaneous antimicrobial and induced in the skin after injury. *J Invest Dermatol.* 2008;128:1525-34.
267. Deng Z, Xu C. Role of the neuroendocrine antimicrobial peptide catestatin in innate immunity and pain. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai).* 2017;49:967-72.
268. Rabbi MF, Muniyaka PM, Eissa N, Metz-Boutigue MH, Khafipour E, Ghia JE. Human Catestatin Alters Gut Microbiota Composition in Mice. *Front Microbiol.* 2017;7:2151.
269. Bandyopadhyay GK, Mahata SK. Chromogranin A Regulation of Obesity and Peripheral Insulin Sensitivity. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2017;8:20.
270. Mohseni S, Emtenani S, Emtenani S, Asoodeh A. Antioxidant properties of a human neuropeptide and its protective effect on free radical-induced DNA damage. *J Pept Sci.* 2014;20:429-37.
271. Kim J, Lee S, Bhattacharjee R, Khalyfa A, Kheirandish-Gozal L, Gozal D. Leukocyte telomere length and plasma catestatin and myeloid-related protein 8/14 concentrations in children with obstructive sleep apnea. *Chest.* 2010;138:91-9.

272. Bassetti CL, Dogas Z, Peigneux P. Sleep Medicine Textbook. Regensburg: European Sleep Research Society; 2014.
273. 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.
274. Kushida CA, Littner MR, Morgenthaler T, Alessi CA, Bailey D, Coleman J Jr, i sur. Practice parameters for the indications for polysomnography and related procedures: an update for 2005. *Sleep*. 2005;28:499-521.
275. American Academy of Sleep Medicine. Sleep-related breathing disorders in adults: recommendations for syndrome definition and measurement techniques in clinical research. The Report of an American Academy of Sleep Medicine Task Force. *Sleep*. 1999;22:667-89.
276. Epstein L, Kristo D, Strollo Jr P, Friedman N, Malhotra A, Patil S, i sur. Adult Obstructive Sleep Apnea Task Force of the American Academy of Sleep Medicine. Clinical guideline for the evaluation, management and long-term care of obstructive sleep apnea in adults. *J Clin Sleep Med*. 2009;5:263-76.
277. Narkiewicz K, Somers VK. Sympathetic nerve activity in obstructive sleep apnoea. *Acta Physiol Scand*. 2003;177:385-90.
278. Tan KC, Chow WS, Lam JC, Lam B, Wong WK, Tam S, i sur. HDL dysfunction in obstructive sleep apnea. *Atherosclerosis*. 2006;184:377-82.
279. Kawano Y, Tamura A, Kadota J. Association between the severity of obstructive sleep apnea and the ratio of low-density lipoprotein cholesterol to high-density lipoprotein cholesterol. *Metabolism*. 2012;61:186-92.
280. Verghese PB, Arrese EL, Soulages JL. Stimulation of lipolysis enhances the rate of cholesterol efflux to HDL in adipocytes. *Mol Cell Biochem*. 2007;302:241-8.
281. Yoshida M, Harada N, Yoshida K, Nakagawa T, Shimohata T, Mawatari K, i sur. High density lipoprotein inhibits the activation of sterol regulatory element-binding protein-1 in cultured cells. *FEBS Lett*. 2010;584:1217-22.
282. Chu K, Miyazaki M, Man WC, Ntambi JM. Stearoyl-Coenzyme A Desaturase 1 Deficiency Protects against Hypertriglyceridemia and Increases Plasma High-Density Lipoprotein Cholesterol Induced by Liver X Receptor Activation. *Mol Cell Biol*. 2006;26:6786-98.

Cilj istraživanja: Glavni ciljevi ovog istraživanja su bili usporediti serumske koncentracije katestatina i lipidnih parametara u bolesnika s opstrukcijskom apnejom tijekom spavanja (OSA) i kontrolnih ispitanika te utvrditi moguću povezanost katestatina s polisomnografskim i lipidnim parametrima u populaciji OSA bolesnika.

Ispitanici i metode: Ovo presječno kliničko istraživanje provedeno je u Centru za Medicinu spavanja Kliničkog bolničkog centra Split i Medicinskog fakulteta u Splitu tijekom razdoblja od prosinca 2016. do veljače 2018. godine, a uključilo je ukupno 75 odraslih novodijagnosticiranih bolesnika s OSA-om i 50 kontrolnih ispitanika usklađenih prema dobi, spolu i indeksu tjelesne mase. OSA je dijagnosticirana kontinuiranom cjelonoćnom laboratorijskom polisomnografijom (Alice 5LE, Philips Respironics, Eindhoven, Nizozemska) prema važećim praktičnim smjernicama. Svim ispitanicima uzeta je detaljna anamneza te izvršen fizikalni pregled i antropometrijsko mjerenje. Venski uzorci krvi su uzeti natašte za analizu lipidnih parametara i određivanje serumskih koncentracija katestatina metodom dvostrukog enzim-imunoadsorpcijskog testa humanog katestatina (Phoenix Pharmaceuticals, Burlingame, CA, SAD), prema uputstvima proizvođača.

Rezultati: Serumske koncentracije katestatina su značajno više u OSA bolesnika u odnosu na kontrolnu skupinu ($2,99 \pm 0,14$ vs. $1,37 \pm 0,13$ ng/mL; $P < 0,001$). Katestatin je značajno pozitivno korelirao s AHI indeksom u podskupini OSA bolesnika koji nisu bili pretili ($r = 0,544$; $P = 0,002$ i $\beta = 0,481$; $P = 0,022$). Serumske koncentracije triglicerida su bile značajno više u OSA bolesnika u odnosu na kontrolnu skupinu ($2,02 \pm 0,88$ vs. $1,51 \pm 0,87$ mmol/L; $P < 0,001$) kao i frakcije non-HDL-kolesterola ($4,98 \pm 0,12$ vs. $4,60 \pm 0,15$ mmol/L; $P = 0,048$). Također, OSA bolesnici su imali značajno niže koncentracije HDL-kolesterola u usporedbi s kontrolnom skupinom ($1,16 \pm 0,03$ vs. $1,42 \pm 0,05$ mmol/L; $P < 0,001$), dok u koncentracijama ukupnog kolesterola i LDL-kolesterola nisu pronađene značajne razlike među skupinama. Utvrđena je statistički značajna negativna korelacija serumskih koncentracija katestatina i HDL-kolesterola u OSA bolesnika ($r = -0,466$; $P < 0,001$ i $\beta = -0,434$; $P < 0,001$). Kao dijagnostički test u detekciji OSA-e, serumski katestatin je postigao vrijednost područja ispod krivulje $AUC = 0,909$, 95% CI 0,841-0,955; $P < 0,001$.

Zaključci: Serumske koncentracije katestatina su značajno više u OSA bolesnika u usporedbi s kontrolnom skupinom te negativno koreliraju sa HDL-kolesterolom, dok u podskupini OSA bolesnika koji nisu pretili katestatin pozitivno korelira s AHI vrijednosti. Konačno, serumski katestatin je demonstrirao visoke dijagnostičke performanse u detekciji OSA statusa.

9. SUMMARY

Diploma thesis title: Serum catestatin concentrations and lipid status in patients with obstructive sleep apnea

Objectives: The aims of the study were to compare serum catestatin concentrations between patients with obstructive sleep apnea (OSA) and control subjects and to determine potential associations of catestatin with polysomnographic and lipid parameters in OSA population.

Patients and methods: This cross-sectional study was conducted at the Split Sleep Medicine Center from December 2016 to February 2018 and included a total of 75 adult newly-diagnosed patients with OSA and 50 control subjects that were body mass index/age/sex-matched. OSA was diagnosed by full-night in-laboratory polysomnography (Alice 5LE, Philips Respironics, Eindhoven, Netherlands) according to established guidelines. A detailed medical history interview along with physical examination and anthropometric measuring were undertaken in each enrolled subject. Venous blood samples were taken from fasting subjects and were used to determine serum catestatin concentrations and lipid profile parameters. Serum catestatin concentrations were determined by an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method by using a commercial kit for human catestatin (Phoenix Pharmaceuticals, Burlingame, CA, USA) according to manufacturer's instructions.

Results: Serum catestatin concentrations are significantly higher in OSA patients than in control group (2.99 ± 0.14 vs. 1.37 ± 0.13 ng/mL; $P < 0.001$) and positively correlate with AHI in non-obese OSA patient subgroup ($r = 0.544$; $P = 0.002$ i $\beta = 0.481$; $P = 0.022$). Serum concentrations of triglycerides and non-HDL-cholesterol fractions were significantly higher in OSA patients compared to control group (2.02 ± 0.88 vs. 1.51 ± 0.87 mmol/L; $P < 0.001$ and 4.98 ± 0.12 vs. 4.60 ± 0.15 mmol/L; $P = 0.048$, respectively). Furthermore, HDL-cholesterol was lower in OSA group when compared to control group (1.16 ± 0.03 vs. 1.42 ± 0.05 mmol/L; $P < 0.001$) and correlated negatively with serum catestatin concentrations ($r = -0.466$; $P < 0.001$ and $\beta = -0.434$; $P < 0.001$). Both groups did not differ in respect to total cholesterol and LDL-cholesterol levels. Serum catestatin provided area under the curve (AUC) value of 0.909 (95% CI 0.841-0.955; $P < 0.001$) for the detection of OSA status.

Conclusions: Serum catestatin concentrations are significantly higher in OSA patients compared to control group and correlate negatively with HDL-cholesterol, while in the non-obese OSA patient subgroup, catestatin positively correlates with AHI values. Finally, serum catestatin demonstrated high diagnostic performance in detection of OSA status.

OSOBNİ PODATCI

Ime i prezime: Josip Anđelo Borovac

Datum i mjesto rođenja: 19. ožujka 1986. godine, Split, Hrvatska

Državljanstvo: hrvatsko

Adresa stanovanja: Stonska 3, 21000 Split, Hrvatska

E-adresa: josip.borovac@me.com

OBRAZOVANJE

2007. – 2011. Sveučilište u New Yorku, NY, SAD, smjer molekularna biologija

2011. – 2012. Western University of Health Sciences, CA, SAD, istraživačka stipendija

2012. – 2018. Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu, smjer doktor medicine

ZNANJA I VJEŠTINE

Aktivno služenje engleskim jezikom i osnovno poznavanje talijanskog i njemačkog jezika

OSTALE AKTIVNOSTI

Regularni član Europskog udruženja kardiologa (*European Society of Cardiology*, ESC) i član Radne skupine za trombozu (*ESC Working Group on Thrombosis*), od 2016. godine

Srebrni član ESC Udruženja za zatajenje srca (*Heart Failure Association*, HFA) i regularni član podorganizacije HFA - *Heart failure specialists of Tomorrow (HoT)*, od 2018. godine

Kliničko-istraživačka praksa u sklopu ERASMUS+ stipendije u ak. god. 2016./2017. u trajanju od 2 mjeseca na Institutu za kardiologiju i u Jedinici za hemodinamiku/akutnu koronarnu skrb, Odjel kardiologije, Fondazione Policlinico Universitario Agostino Gemelli IRCCS, Rim, Italija

Predstavnik studenata studija medicine i član Fakultetskog vijeća Medicinskog fakulteta u Splitu u jednom mandatu (akad. god. 2013./2014. i 2014./2015.)

Tijekom obrazovanja na Medicinskom fakultetu u Splitu sudjelovao kao demonstrator na Katedri za patofiziologiju, Katedri za anatomiju te Katedri za mikrobiologiju i parazitologiju

Dobitnik Dekanove nagrade za studenta-autora najboljeg znanstvenog rada objavljenog u akademskoj godini 2016./2017.

Broj znanstvenih publikacija (*Web of Science/MEDLINE*) / kongresna priopćenja: 18 / 7

ODABRANI RADOVI

1. Niccoli G, D'Amario D, **Borovac JA**, Santangelo E, Scalone G, Fracassi F, Vergallo R, Vetrugno V, Copponi G, Severino A, Liuzzo G, Imaeva A, Siracusano A, Crea F. Perilipin 2 levels are increased in patients with in-stent neoatherosclerosis: A clue to mechanisms of accelerated plaque formation after drug-eluting stent implantation. *International Journal of Cardiology*. 2018;258:55-58.
2. **Borovac JA**, D'Amario D, Niccoli G. Neoatherosclerosis and Late Thrombosis After Percutaneous Coronary Intervention: Translational Cardiology and Comparative Medicine from Bench to Bedside. *Yale Journal of Biology and Medicine*. 2017; 90(3):463-470.
3. D'Amario D, Amodeo A, Adorisio R, Tiziano FD, Leone AM, Perri G, Bruno P, Massetti M, Ferlini A, Pane M, Niccoli G, Porto I, D'Angelo GA, **Borovac JA**, Mercuri E, Crea F. A current approach to heart failure in Duchenne muscular dystrophy. *Heart*. 2017; 103(22):1770-1779.
4. D'Amario D, Burzotta F, Leone AM, Porto I, Niccoli G, Aurigemma C, Ruggio A, **Borovac JA**, Massetti M, Trani C, Crea F. Feasibility and Safety of Right and Left Heart Catheterization Via an Antecubital Fossa Vein and the Radial Artery in Patients with Heart Failure. *Journal of Invasive Cardiology*. 2017;29(9):301-308.
5. D'Amario D, Leone AM, **Borovac JA**, Cannata F, Siracusano A, Niccoli G, Crea F. Granulocyte colony-stimulating factor for the treatment of cardiovascular disease: An update with a critical appraisal. *Pharmacological Research*. 2018;127:67-76.
6. Niccoli G*, **Borovac JA***, Vetrugno V, Camici PG, Crea F. Ivabradine in acute coronary syndromes: Protection beyond heart rate lowering. *International Journal of Cardiology*. 2017; 236:107-112. *prvo zajedničko koautorstvo
7. Novak K, Vrdoljak D, Jelaska I, **Borovac JA**. Sex-specific differences in risk factors for in-hospital mortality and complications in patients with acute coronary syndromes: An observational cohort study. *Wiener Klinische Wochenschrift*. 2017;129(7-8):233-242.