

# UTJECAJ KRATKOTRAJNE SLANE DIJETE NA PROMJENE U CEREBROVASKULARNOJ REAKTIVNOSTI KOD MLADIH ZDRAVIH LJUDI PRI VANJSKIM PODRAŽAJIMA

---

Dumančić, Dijana

Doctoral thesis / Disertacija

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Medicine Osijek / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Medicinski fakultet Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:152:094006>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-19**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Medicine Osijek](#)





**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU**  
**MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK**

Dijana Dumančić

**UTJECAJ KRATKOTRAJNE SLANE DIJETE NA PROMJENE**  
**U CEREBROVASKULARNOJ REAKTIVNOSTI KOD MLADIH**  
**ZDRAVIH LJUDI PRI VANJSKIM PODRAŽAJIMA**

Doktorska disertacija

Osijek, 2023.

Mentorica rada: prof. dr. sc. Ines Drenjančević, dr. med.

Komentor rada: prof. dr. sc. Nandu Goswami, dr. med.

Rad ima: 108 stranica

## PREDGOVOR

Disertacija je rezultat projekta University of Osijek research grant, INGI- 2015-16 te suradnje Medicinskog fakulteta Osijek Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera Osijek, Katedre za fiziologiju i imunologiju (prof. dr. sc. Ines Drenjančević, dr. med.) i Medical University of Graz, Institute of Physiology (prof. Nandu Goswami, MD).

*Zahvaljujem svojoj mentorici, prof. dr. sc. Ines Drenjančević, dr. med., na beskonačnom strpljenju, neizmjerljivoj podršci i izrazitom trudu koje je nesebično ulagala za vrijeme izrade doktorske disertacije.*

*Hvala komentoru, prof. dr. sc. Nanduu Goswamiju, dr. med., na dobivenoj prilici za suradnju te inspiraciji i motivaciji u izazovnim počecima.*

*Neprocjenjivu su mi pomoć oko izrade disertacije pružili članovi Katedre za fiziologiju i imunologiju Medicinskog fakulteta Osijek te ostali suradnici projekta na čemu im od srca zahvaljujem.*

*Na beskrajnom razumijevanju zahvaljujem voljenim članovima obitelji, dragima prijateljima i bliskim kolegama.*

*Najveću zahvalu upućujem kćeri Nori i majci Nadi te onima koji bi danas bili ponosni da su još uvijek ovdje s nama.*

## SADRŽAJ

|   |    |
|---|----|
| 1. UVOD.....  | 1  |
| 1.1. Cerebrovaskularne bolesti.....   | 1  |
| 1.2. Krvni tlak i hipertenzija.....   | 2  |
| 1.3. Učinci unosa kuhinjske soli na organizam.....                                    | 4  |
| 1.4. Mehanizmi i uloga renin-angiotenzin sustava u regulaciji krvnoga tlaka.....      | 5  |
| 1.5. Autoregulacija protoka kroz moždane krvne žile.....                              | 11 |
| 1.6. Fiziološki čimbenici koji utječu na cerebrovaskularnu reaktivnost.....           | 13 |
| 1.6.1. Test ortostatske promjene.....   | 13 |
| 1.6.2. Hiperkapnija (test zadržavanja daha).....                                      | 15 |
| 1.6.3. Hipokapnija (hiperventilacija).....  | 16 |
| 1.6.4. Hiperoksija.....   | 17 |
| 2. HIPOTEZA.....  | 20 |
| 3. CILJ.....  | 21 |
| 4. ISPITANICI I METODE.....   | 23 |
| 4.1. Ustroj studije.....  | 23 |
| 4.2. Ispitanici.....  | 23 |
| 4.3. Metode.....  | 24 |
| 4.3.1. Protokol istraživanja.....   | 24 |
| 4.3.2. Dijetni protokol.....  | 24 |
| 4.3.3. Antropometrijska mjerenja.....   | 25 |
| 4.3.4. Laboratorijska mjerenja iz uzoraka krvi, seruma i urina.....                   | 25 |
| 4.3.5. Procjena funkcije moždane cirkulacije pomoću transkranijuskog dopplerskog..... | 26 |
| ultrazvuka.....   | 26 |
| 4.3.6. Procjena sustavne hemodinamike.....  | 27 |

|   |     |
|---|-----|
| 4.3.7. Protokol izvođenja ortostatskog opterećenja .....  | 29  |
| 4.3.8. Protokol izvođenja testa zadržavanja daha.....   | 30  |
| 4.3.9. Protokol izvođenja hiperventilacije .....  | 31  |
| 4.3.10. Protokol izvođenja hiperoksije .....  | 32  |
| 4.3.11. Statistička analiza.....  | 33  |
| 5. REZULTATI .....  | 34  |
| 5.1. Antropometrijska i laboratorijska mjerenja u uzorcima urina i seruma .....   | 34  |
| 5.2. Metaboliti katekolamina .....  | 36  |
| 5.3. Odgovor moždane i sistemske hemodinamike u uvjetima niskoslane i visokoslane dijete na ortostatsko opterećenje ..... | 37  |
| 5.4. Odgovor moždane i sistemske hemodinamike u uvjetima niskoslane i visokoslane dijete na hiperkapniju .....            | 42  |
| 5.5. Odgovor moždane i sistemske hemodinamike u uvjetima niskoslane i visokoslane dijete na hipokapniju .....             | 45  |
| 5.6. Odgovor moždane i sistemske hemodinamike u uvjetima niskoslane i visokoslane dijete na hiperoksiju .....             | 52  |
| 6. RASPRAVA.....  | 56  |
| 6.1. Odgovor moždane i sistemske cirkulacije na ortostatski test .....  | 58  |
| 6.2. Odgovor moždane i sistemske cirkulacije na test zadržavanja daha.....  | 62  |
| 6.3. Odgovor moždane i sistemske cirkulacije na podražaj hiperventilacijom .....  | 65  |
| 6.4. Odgovor moždane i sistemske cirkulacije na podražaj hiperoksijom.....  | 69  |
| 7. ZAKLJUČCI .....  | 72  |
| 8. SAŽETAK.....   | 73  |
| 9. SUMMARY .....  | 75  |
| 10. LITERATURA .....  | 77  |
| 11. ŽIVOTOPIS.....  | 100 |
| 12. PRILOG .....  | 108 |



## POPIS POKRATA

|                 |   |
|-----------------|---|
| ACE             | (engl. <i>angiotensin-converting enzyme</i> ) - angiotenzin konvertirajući enzim                |
| AKT             | arterijski krvni tlak   |
| ANG II          | angiotenzin II  |
| BHT             | (engl. <i>breath hold test</i> ) - test zadržavanja daha  |
| BRS             | (engl. <i>baroreceptor sensitivity</i> ) - baroreceptorska osjetljivost                         |
| CO <sub>2</sub> | ugljični dioksid  |
| DASH            | (engl. <i>Dietary approaches to stop Hypertension</i> ) - prehrana za savladavanje hipertenzije |
| DKT             | (engl. <i>diastolic blood pressure, DBP</i> ) - dijastolički krvni tlak                         |
| DM              | (engl. <i>diabetes mellitus</i> ) - dijabetes melitus   |
| DMPK            | (engl. <i>diastolic cerebral blood flow, DCBF</i> ) - dijastolički moždani protok krvi          |
| FID             | (engl. <i>flow-induced dilatation</i> ) - dilatacija izazvana protokom                          |
| HV              | hiperventilacija  |
| IBI             | (engl. <i>interbeat interval</i> ) - R-R interval   |
| IMP             | (engl. <i>cerebral pulsatility index, CPI</i> ) - indeks moždane pulzatilnosti                  |
| ISMV            | (engl. <i>cardiac output index, CI</i> ) - indeks srčanog minutnog volumena                     |
| ITM             | (engl. <i>body mass index, BMI</i> ) - indeks tjelesne mase                                     |
| IUPO            | (engl. <i>total peripheral resistancy index, TPRI</i> ) - indeks ukupnog perifernog otpora      |
| IUV             | (engl. <i>stroke volumen index, SVI</i> ) - indeks udarnog volumena                             |
| MA              | moždana autoregulacija  |
| MACE            | (engl. <i>major adverse cardiovascular event</i> ) - veliki štetni kardiovaskularni događaj     |
| MPK             | (engl. <i>cerebral blood flow, CBF</i> ) - moždani protok krvi                                  |
| MTP             | (engl. <i>cerebral perfusion pressure, CPP</i> ) - moždani tlak perfuzije                       |
| NF/VF           | (engl. <i>low frequency/high frequency</i> ) - niska frekvencija/visoka frekvencija             |
| NO              | dušikov oksid   |
| NS              | niskoslano  |
| OMC             | (engl. <i>cerebrovascular resistance, CVR</i> ) - otpor moždane cirkulacije                     |

|                   |   |
|-------------------|---|
| PaCO <sub>2</sub> | parcijalni tlak ugljičnog dioksida  |
| PaO <sub>2</sub>  | parcijalni tlak kisika  |
| PRA               | plazma reninska aktivnost   |
| PSF               | (engl. <i>heart rate variability</i> , HRV) - promjenjivost srčane frekvencije        |
| PSV               | (engl. <i>peak systolic value</i> ) - vršni sistolički tlak                           |
| RAS               | (engl. <i>renin-angiotensin system</i> ) - renin angiotenzinski sustav                |
| RH                | Republika Hrvatska  |
| SAKT              | (engl. <i>mean arterial blood pressure</i> , MABP) - srednji arterijski krvni tlak    |
| SBMP              | (engl. <i>mean blood flow velocity</i> , MBFV) - srednja brzina moždanog protoka      |
| SD                | standardna devijacija   |
| SF                | (engl. <i>heart rate</i> , HR) - srčana frekvencija                                   |
| SKT               | (engl. <i>systolic blood pressure</i> , SBP) - sistolički krvni tlak                  |
| SMA               | (engl. <i>medial cerebral artery</i> , MCA) - srednja moždana arterija                |
| SMPK              | (engl. <i>systolic cerebral blood flow</i> , SCBF) - sistolički moždani protok krvi   |
| SMV               | (engl. <i>cardiac output</i> , CO) - srčani minutni volumen                           |
| TCD               | (engl. <i>transcranial Doppler ultrasound</i> ) - transkranijски dopplerski ultrazvuk |
| TXA <sub>2</sub>  | tromboksan A <sub>2</sub>   |
| UPO               | (engl. <i>total peripheral resistance</i> , TPR) - ukupni periferni otpor             |
| UV                | (engl. <i>stroke volumen</i> , SV) - udarni volumen                                   |
| VMK               | (engl. <i>cerebral blood volumen</i> , CBV) - volumen moždane krvi                    |
| VS                | visokoslano   |
| VTI               | (engl. <i>velocity time intergral</i> ) - vremenski interval brzine                   |

## POPIS TABLICA

|  |    |
|--|----|
| <b>Tablica 1.</b> Vrijednosti antropometrijskog mjerenja i krvnoga tlaka nakon niskoslane i visokoslane dijete ..... | 34 |
| <b>Tablica 2.</b> Analiza 24-satnog urina nakon niskoslane i visokoslane dijete .....                                | 35 |
| <b>Tablica 3.</b> Biokemijska analiza seruma nakon niskoslane i visokoslane dijete .....                             | 36 |
| <b>Tablica 4.</b> Metaboliti katekolamina u uzorcima 24-satnog urina nakon niskoslane i visokoslane dijete .....     | 36 |
| <b>Tablica 5.</b> Moždana i sistemska hemodinamika pri izvođenju ortostatskog testa .....                            | 39 |
| <b>Tablica 6.</b> Moždana i sistemska hemodinamika pri izvođenju testa zadržavanja daha.....                         | 43 |
| <b>Tablica 7.</b> Moždana i sistemska hemodinamika pri izvođenju hiperventilacije .....                              | 47 |
| <b>Tablica 8.</b> Moždana i sistemska hemodinamika pri izvođenju hiperoksije.....                                    | 54 |

## POPIS SLIKA

|  |    |
|--|----|
| <b>Slika 1.5.</b> Fiziologija moždane autoregulacije .....   | 12 |
| <b>Slika 4.1.</b> Zapis mjerenja pomoću transkranijuskog dopplerskog ultrazvuka (TCD) .....                        | 26 |
| <b>Slika 4.2.</b> Mjerenje impedancijske kardiografije .....   | 28 |
| <b>Slika 4.3.</b> Pletizmografija (mjerena na prstu) .....   | 28 |
| <b>Slika 4.4.</b> Shematski prikaz protokola ortostatske promjene .....  | 30 |
| <b>Slika 4.5.</b> Shematski prikaz protokola testa zadržavanja daha .....  | 31 |
| <b>Slika 4.6.</b> Shematski prikaz protokola hiperventilacije .....  | 32 |
| <b>Slika 4.7.</b> Shematski prikaz protokola hiperoksije .....   | 33 |
| <b>Slika 5.1.</b> Promjene moždanog protoka krvi pri ortostatskom testu .....                                      | 37 |
| <b>Slika 5.2.</b> Promjenjivost srčane frekvencije pri ortostatskom testu .....                                    | 41 |
| <b>Slika 5.3.</b> Osjetljivost baroreceptorskog refleksa pri ortostatskom testu .....                              | 42 |
| <b>Slika 5.4.</b> Promjene moždanog protoka krvi pri hiperkapniji <b>Pogreška! Knjižna oznaka nije definirana.</b> |    |
| <b>Slika 5.5.</b> Promjene moždanog protoka krvi pri hipokapniji .....   | 46 |
| <b>Slika 5.6.</b> Prikaz dinamike vrijednosti srčane frekvencije pri hipokapniji .....                             | 49 |
| <b>Slika 5.7.</b> Promjenjivost srčane frekvencije pri hipokapniji.....  | 50 |
| <b>Slika 5.8.</b> Osjetljivost baroreceptorskog refleksa pri hipokapniji.....                                      | 51 |
| <b>Slika 5.9.</b> Promjene moždanog protoka krvi pri hiperoksiji.....  | 52 |

## 1. UVOD

### 1.1. Cerebrovaskularne bolesti

Prema podacima Svjetske zdravstvene organizacije, cerebrovaskularne bolesti predstavljaju vodeći uzrok smrtnosti u svijetu (1), a u Republici Hrvatskoj također predvode kao uzrok smrtnosti (2). Od 1990. do 2010. globalna incidencija moždanog udara bila je nepromijenjena, a mortalitet se smanjivao, ukupno u navedenom razdoblju za 25%. Na temelju podataka GBD-a (engl. *Global Burden of Disease*), alarmantne brojke sada sugeriraju da su se smanjenja smrtnosti povezana s moždanim udarom, kao i drugi svjetski epidemiološki pokazatelji, pogoršali između 2010. i 2017. godine. U tom je razdoblju učestalost moždanog udara porasla za 5,3 %, prevalencija za 19,3 %, a smrtnost za 5,3 %. Uzroci cerebrovaskularnih bolesti mogu biti nemodificirajući, tj. oni na koje se ne može utjecati u svrhu smanjivanja rizika obolijevanja, poput dobi, spola, etnične pripadnosti, niske porođajne težine i nasljednih bolesti. Za razliku od njih, skupinu promjenjivih čimbanika čine hipertenzija, dijabetes melitus, srčane bolesti, pušenje, dislipidemija, zlouporaba alkohola, pretilost, metabolički sindrom, uporaba oralnih kontraceptiva, hormonsko liječenje žena u postmenopauzi, klinički tiha karotidna stenoza, bolest perifernih arterija, zlouporaba droga, migrena i ostalo (3). Prema jednoj studiji, skupina od 10 promjenjivih čimbenika rizika (hipertenzija, pušenje, tjelesna neaktivnost, visok omjer apolipoproteina ApoB/ApoA1, loša prehrana, visok omjer opsega struka i bokova, psihosocijalni čimbenici, bolesti srca, prekomjerna konzumacija alkohola i dijabetes melitus) čini 90,7 % rizika od moždanog udara koji se može pripisati populaciji u svakoj većoj regiji svijeta, među svim etničkim skupinama, kod osoba obaju spolova i u svim dobnim skupinama (4). Nekad se smatralo da je opći pad smrtnosti od moždanog udara povezan s poboljšanim i raširenijim preventivnim intervencijama i programima, posebno onima usmjerenim na kontrolu hipertenzije i naporima usmjerenim na prestanak pušenja, dijabetes melitus i dislipidemiju (5, 6). Nedavni epidemiološki trendovi sugeriraju da su se profili rizika promijenili i da su trenutni programi intervencije možda postali manje učinkoviti. Uz sveukupne trendove, postoji posebna zabrinutost zbog povećanja rizika od moždanog udara u mladih odraslih osoba (7). Ishemijski moždani udar u mlađih odraslih osoba daleko je rjeđi od onog u starijih odraslih osoba, a u osnovi se može govoriti o različitostima temeljne patogeneze i čimbenika rizika u usporedbi s onima u odrasloj dobi. Prema dostupnim podacima, 10 % do 15 % svih moždanih

udara događa se u odraslih u dobi od 18 do 50 godina što predstavlja izazov u razlikovanju češćih stanja koja oponašaju moždani udar (8). Klasifikacijski sustav TOAST (engl. *Trial of ORG 10172 in Acute Stroke Treatment*) (9) ukazuje kako mnogi mlađi pacijenti s moždanim udarom u patogenezi imaju emboliju (ishodišta srca), drugu utvrđenu patogenezu ili neodređenu patogenezu, a ne aterosklerozu velikih arterija ili okluziju malih krvnih žila. Nedavne studije, kako u Sjedinjenim Američkim Državama tako i u Europi, sugerirale su da je ishemijski moždani udar u mlađih odraslih osoba u porastu i pokazale su da je porast tradicionalnih čimbenika rizika za moždani udar, a koji su tipično česti među starijim odraslim osobama (hipertenzija, dislipidemija, dijabetes melitus, uporaba duhana i pretilost), sve češće i među mlađim pacijentima s akutnim moždanim udarom (8, 10). Među mlađim odraslim osobama s akutnim moždanim udarom, kod kojih postoji sve veća prevalencija tradicionalnih čimbenika rizika od kardiovaskularnih bolesti, postoji rasprava o tome doprinose li uzroku moždanog udara i koliko tradicionalni čimbenici rizika, osobito za osobe mlađe od 40 godina. S obzirom na veliki javnozdravstveni značaj, u posljednje se vrijeme sve više dovode u pitanje neke od uobičajenih patogeneza ishemijskog moždanog udara, a ispituju rjeđi, potencijalni uzroci cerebrovaskularnih incidenata u mlađih odraslih osoba (11, 12).

### 1.2. Krvni tlak i hipertenzija

Arterijski je tlak određen volumenom krvi koji srce izbacuje u sistemske arterije, elastičnošću stijenki arterija i brzinom kojom krv istječe iz arterija, pri čemu je važna raspodjela arterijskih otpora, elastičnosti stijenki velikih žila i vršnog tlaka pri kojemu dolazi do zatvaranja malih arterija i arteriola. Regulacija arterijskog tlaka događa se kroz promjene srčanog minutnog volumena i promjene vaskularnog otpora, ali te dvije sastavnice ponekad mogu biti sukobljene. Volumen unutar vaskularnih struktura rasteže njihove elastične stijenske i proizvodi povratnu silu, koja na temelju elastičnih svojstava istih stvara tlak. Tkivo koje čine vaskularne strukture nije homogeno tako da odnos volumena i tlaka arterijskih žila nije linearan, nego prati konveksnu zakrivljenost (13). Otpornost tvari na istežanje naziva se elastičnost, a obrnuto, lakoća rastežanja, popustljivost (engl. *compliance*). Arterijska popustljivost složen je parametar koji utječe na ventrikularno-arterijsku spregu ovisno o strukturnim (remodeliranje arterijske stijenke) i funkcionalnim (krvni tlak, tonus glatkih mišića) promjenama (14). Normalan je protok krvi pulsativan zbog cikličke prirode prolaska krvi koji stvara također cikličke promjene krvnoga tlaka. Iako elastičnost stijenke

arterijskih žila varira s volumenom, tijekom kratkih razdoblja stvarni je krivuljasti odnos volumena i tlaka konstantan jer je određen strukturom tkiva vaskularne stijenke. Sve promjene koje narušavaju elastičnost aorte dovode do promjena stijenke koje se ne zbivaju u kratkom vremenu, nego se očituju u kroničnim procesima kao što su dugotrajna hipertenzija i starenje (13). Mjerenja krutosti aorte i tlaka kao i pulsacije protoka, pojavile su se kao poveznice i potencijalni čimbenici koji pridonose kardiovaskularnim bolestima, demenciji i bolestima bubrega i to tako da veća krutost aorte te veća pulsativnost tlaka i protoka rezultiraju prekomjernim pulsirajućim opterećenjem srca, što dovodi do hipertrofije miokarda uz smanjenje uzdužnog naprezanja lijeve klijetke. Sve je navedeno povezano s mikrovaskularnim lezijama u organima s visokim protokom, kao što su mozak i bubrezi, što sugerira da su male žile u tim organima oštećene pulzatilnošću (15).

Govoreći o volumenu ekstracelularne tekućine i krvnome tlaku, kontrola homeostaze volumena tjelesne tekućine ključna je za život, a složeni mehanizam u osnovi procesa kod ljudi je rezultat evolucijske prilagodbe (16), pogotovo kod gubitka krvi i potencijalne opasnosti od hemoragijskog šoka u kojem se odvija aktivacija simpatičkog živčanog sustava s ciljem otpuštanja renina, angiotenzina II (ANG II), aldosterona, kateholamina i natriuretskog peptida čiji učinci održavaju krvni tlak (17).

Povezanost razine krvnog tlaka i rizika od moždanog udara još je dvadesetih godina prošloga stoljeća prepoznalo Društvo aktuara (engl. *the Society of Actuaries*), a izvješće Povjerenstva za bolesti srca, rak i moždani udar iz 1965. godine pozvalo je na povećanje probira i liječenja hipertenzije diljem zemlje (18) te se može reći kako se snižavanje visokog krvnog tlaka predlaže kao glavni čimbenik za smanjenje stope smrtnosti od moždanog udara tijekom druge polovice 20. stoljeća i ranog dijela 21. stoljeća (19).

Epidemiološke studije pokazale su da je povišen krvni tlak najvažnija odrednica rizika od moždanog udara s tim da je rizik gotovo linearan, počevši od relativno niskih razina sistoličkog (SKT, engl. *systolic blood pressure*) i dijastoličkog krvnog tlaka (DKT, engl. *diastolic blood pressure*) (20). Iako je farmakološko liječenje krvnog tlaka usmjereno na osobe s hipertenzijom, trenutno definiranom kao krvni tlak >140/90 mm Hg, epidemiološki podaci pokazuju da rizik od moždanog udara počinje na razinama krvnog tlaka <140/90 mm Hg (20).

Hipertenzija se danas, uz rizik same dobi, smatra jednim od vodećih uzroka i tzv. tihe i manifestne cerebrovaskularne bolesti. Visoki krvni tlak višestruko, točnije 4 puta, povećava rizik od nastanka moždanog udara. Visok krvni tlak općenito, a pogotovo udružen s hipertenzijom,

povećava rizik i od neke vrste kognitivnog deficita (3). Poznato je kako je hipertenzija povezana s nizom stanja poput bolesti koronarnih arterija, hipertrofijom lijevoga ventrikla, cerebrovaskularnim bolestima te mikroalbuminurijom (21 - 23).

### 1.3. Učinci unosa kuhinjske soli na organizam

Brojna su istraživanja provedena te su metaanalize potvrdile povezanost između povećanog dnevnog unosa soli u organizam i posljedičnog razvijanja hipertenzije u slučaju da se takva prehranbena navika održava u dužem periodu (24). PURE (engl. *Prospective Urban Rural Epidemiology*) studija je procijenila kako je u 2010. godini globalno dnevni unos natrija iznosio 3950 mg u odnosu na preporučene 2300 mg (vrijednosti odgovaraju 9,88 g, odnosno 5,75 g NaCl) što predstavlja poražavajuće podatke o pretjeranoj konzumaciji kuhinjske soli (25). Procjene govore kako je te iste godine 31,1 % svjetske odrasle populacije (1,39 milijardi ljudi) imao hipertenziju. Kuhinjska je sol (NaCl) u prehranbenim proizvodima danas sveprisutna, a neizostavni je sastojak konzerviranih namirnica (26). Podatci za Republiku Hrvatsku (RH) za 2010. godinu pokazuju da je prosječan unos soli za odrasle iznosio  $13,3 \pm 4,3$  g dnevno ( $223,6 \pm 74,0$  mmol Na<sup>+</sup> u 24-satnom urinu) za muškarce i  $10,2 \pm 4,2$  g dnevno ( $177,3 \pm 69,1$  mmol Na<sup>+</sup> u 24-satnom urinu) za žene (27). Imajući na umu važnost organiziranog pokreta smanjivanja unosa soli na nacionalnoj razini, u RH se od 2008. g. počelo s organiziranim edukativnim projektima za stanovništvo i za zdravstvene djelatnike (tzv. CRASH - *Croatian Action on Salt and Health*), u svrhu bolje osviještenosti o štetnom utjecaju soli na ljudsko zdravlje te u konačnici i manje konzumacije soli u svakodnevnoj prehrani (28). Kuhinjska je sol (NaCl) izravno uključena u proces aterotrombogeneze mijenjajući odnos vazoaktivnih čimbenika u stijenkama krvnih žila, utječući na ekspresiju receptora za ANG II i, što je posebno važno, povećavajući sposobnost u proces aterotrombogeneze mijenjajući odnos vazoaktivnih čimbenika u stijenkama krvnih žila, utječući na ekspresiju receptora za ANG II i, što je posebno važno, povećavajući sposobnost agregacije trombocita (29). S druge strane, smanjenje dnevnoga unosa soli dovodi do niza koristi, uključujući smanjenje rizika od moždanog udara te razvoja koronarne bolesti (30), kao posljedicu smanjenja vrijednosti krvnoga tlaka (31).

Premda se ne zna točan način nastajanja arterijske hipertenzije kao posljedica uzimanja veće količine soli, danas se govori o dvama mogućim modelima. Prema Guytonu i suautorima, povećani unos soli dovodi do zadržavanja natrija, povećanja volumena ekstracelularne tekućine, povećanog



srčanog minutnog volumena te tkivnog protoka krvi koji premašuje tkivne potrebe pa periferne krvne žile reagiraju vazokonstrikcijom i povećanjem perifernog otpora (32, 33). Julius je predložio model prema kojem se u prvoj fazi nalazi povećan srčani minutni volumen i normalan periferni otpor, a u kasnijoj fazi dolazi do normalnog srčanog minutnog volumena, a povećanog perifernog otpora (34). Prekretnica u shvaćanju posljedica konzumacije veće količine soli dogodila se sa spoznajom da sol izaziva niz promjena funkcije krvožilja i bez izazivanja arterijske hipertenzije. Weinberg je pokazao da hipertenzivni ispitanici, kao i sol-osjetljivi, imaju jednaku smrtnost (35) i da do smanjenja smrtnosti kod osoba kod kojih se pratio unos soli dolazi kod normotenzivnih pojedinaca samo ako su sol-neosjetljivi. Osjetljivost na sol definira se prema točno određenom protokolu, kao velika promjena u krvnome tlaku pri kratkotrajnom ili dugotrajnom unosu soli (36). Time su se potaknula istraživanja kojima je u cilju prikazati mehanizme utjecaja soli na ljudski organizam neovisno o izazivanju arterijske hipertenzije.

Najraniji se štetni učinak soli očituje u oštećenju endotela krvnih žila, jednako kod pojedinaca koji imaju razvijenu arterijsku hipertenziju, kao i kod normotenzivnih pojedinaca prilikom kratkog unosa velike količine soli (37, 38). Time se posebna pažnja usmjerila na funkciju endotela i posljedice njegove disfunkcije čiju normalnu funkciju možemo svesti na proupalnu, antiagregacijsku i vazodilatacijsku, dok se oštećenjem endotela, odnosno njegovom disfunkcijom, naglasak stavlja na proupalne, protrombotske i vazokonstriksijske učinke (39). Kod endotelne disfunkcije dolazi u prvom planu do smanjenja proizvodnje dušikovog oksida (NO) (40), ali se mijenja i proizvodnja te osjetljivost na mnoge druge metabolite koji posreduju vaskularnu reaktivnost na podražaje (41).

### 1.4. Mehanizmi i uloga renin-angiotenzin sustava u regulaciji krvnoga tlaka

Opće je prihvaćeno kako cijeli niz kardiovaskularnih i bubrežnih bolesti predstavljaju rezultat dugotrajne aktivacije RAS-a i simpatičkog živčanog sustava koji udruženo pridonose patofiziologiji strukturnih i funkcionalnih abnormalnosti kardiovaskularnog sustava u jednakoj mjeri kao i konačnom kliničkom ishodu (42). RAS svojim kaskadnim mehanizmom djelovanja ima ključnu ulogu u održavanju normalne vrijednosti krvnoga tlaka, odnosno ima važnu ulogu u kontroli volumena tjelesne tekućine, elektrolitskog balansa te neuralne i endokrinološke funkcije povezane s kardiovaskularnim sustavom. Činjenica kako konzumacijom soli dolazi do supresije

RAS-a, poznato je već 40 godina otkako je tu teoriju objasnio Guyton sa suautorima (33, 43). Već je tada bilo poznato kako u slučaju sniženja arterijskoga tlaka u stanjima poput proljeva, povraćanja, krvarenja, bijega intravaskularne tekućine, nefrotskog sindroma i sličnih stanja, smanjuje se perfuzija bubrega što registriraju jukstaglomerularne stanice koje tada signaliziraju otpuštanje renina u sistemsku cirkulaciju. Taj odgovor podrazumijeva i složene mehanizme poput udruženog odgovora na osjetljivu makulu densu (strukturu u neposrednoj blizini) s kojom čini jukstaglomerularni aparat, stimulaciju simpatičkih živaca putem  $\beta$ 1-adrenergičkih receptora te negativnu povratnu spregu putem izravnoga djelovanja angiotenzina II na jukstaglomerularne stanice. Unatoč tome što je poznato da se renin izlučuje i iz drugih organa poput mozga, nadbubrežne žlijezde, ovarija, visceralnog masnog tkiva, srca i vaskularnih struktura, nisu poznati svi mehanizmi regulacije njegovog stvaranja i izlučivanja, no neupitno je kako je kontrola nad izlučivanjem renina važna karika cjelokupne aktivacije RAS-a (44). Renin nastaje iz molekule preteče koji se zove prorenin, a pretvorba se odvija izvan cirkulacije, odnosno u endoplazmatskoj mrežici jukstaglomerularnog aparata enzimatskim posredovanjem, s tim da nije dovoljno istražena kompletna fiziološka i patofiziološka uloga prorenina (45) premda je, prema teoriji Sealey i njegovih suautora, njegova možebitna aktivna vazodilatacijska uloga u protuteži s vazokonstriksijskim učinkom ANG II (snižene vrijednosti u plazmi kod hipertenzivnih u odnosu na vrijednosti kod normotenzivnih) (46). Premda je važan sam po sebi, ključna je uloga renina ona u posrednoj sintezi angiotenzina II čija se složena pretvorba događa u prvoj fazi proizvodnjom angiotenzina I iz angiotenzinogena upravo pomoću enzimatskog svojstva renina, a u drugoj fazi posredstvom ACE koji djeluje na angiotenzin I. ANG II je oktapeptid, snažan vazokonstriktor i glavni aktivni produkt RAS-a. Danas je ACE prepoznat kao cilj inhibicije pri medikamentoznom liječenju hipertenzije, a u obzir se moraju uzeti i druge njegove uloge poput one u metabolizmu bradikinina i kalidina (47).

Uz općeprihvaćeni princip općeg cirkulirajućeg hormonalnog mehanizma, brojne su spoznaje i o zasebnom, parakrinom i autokrinom funkcioniranju RAS-a i to neovisno o tzv. glavnom, sistemski cirkulirajućem. Glavna proučavana tkiva u tom su kontekstu mozak, srce, bubrezi i periferne krvne žile (48), a osnovne su karakteristike mjesto stvaranja i mjesto vezivanja molekule ANG II - kod autokrinog, ista ga membrana stvara i veže, a kod parakrinog ga jedna membrana stvara, a na susjednoj se veže (49). Postoje nova saznanja i o intracelularnom, tj. intrakrinome RAS-u, u cijelosti posebnom sustavu funkcioniranja kao takvome (50). Fiziološke sastavnice i

postulate djelovanja RAS-a sve se više nadopunjavaju pa se tako spoznalo da se izlučivanje renina, osim klasičnog, mehanoreceptorskog posredovanja jukstaglomerularnih stanica koje reagiraju na promjenu krvnoga tlaka (51), odvija i na druge načine. Van Dongen i Peart skrenili su pažnju na ulazak izvanstaničnog kalcija u jukstaglomerularne stanice koji predstavlja temelj izlučivanja renina, za razliku od ustaljene renalne vazokonstrikcije (52). Teorija o snažnoj ulozi elektrolita govori kako je zapravo makula densa ta koja predstavlja osjetljiv senzor za  $\text{Na}^+$  i  $\text{Cl}^-$  te da reagira na promjenu koncentracije elektrolita u tubularnoj tekućini i na oslobađanje renina iz jukstaglomerularnih stanica (53, 54). Nadopunjujući tu tezu, Vander i Miller pokazali su da se povećano oslobađanje renina zbiva u odgovoru na smanjeno opterećenje  $\text{Na}^+$  u tubularnoj tekućini na razini makule dense. U svakom slučaju, elektroliti imaju stanovitu ulogu u izlučivanju renina (53). Posebno treba naglasiti međudjelovanje simpatičkog živčanog sustava i RAS-a što je pokazano pokusima stimulacije bubrežne inervacije i učinkom infuzija katekolamina na porast izlučivanja renina, odnosno da aktivacija  $\beta$  adrenergičnih receptora potiče oslobađanje renina, a aktivacija unutrastaničnih  $\alpha$  receptora koči (55). Nije za zanemarivanje ni ulogu prostaglandina  $\text{E}_2$  ( $\text{PGE}_2$ ) i prostaglandina  $\text{I}_2$  ( $\text{PGI}_2$ ) koji povećavaju aktivnost renina u plazmi i utječu na njihovo oslobađanje iz jukstaglomerularnog aparata mehanizmom pozitivne povratne sprege (56). Cijeli niz prostaglandina također je prepoznat kao važan regulator izlučivanja renina iz jukstaglomerularnih stanica kada je u davnim animalnim studijama pokazano da je izlučivanje renina kao odgovor na nizak  $\text{NaCl}$  bilo praktički poništeno nespecifičnom inhibicijom ciklooksigenaze (COX) s flufenamskom kiselinom ili flurbiprofena (57). Nakon toga, velik broj eksperimentalnih dokaza pokazao je da  $\text{PGE}_2$  izveden iz COX-2 služi kao dominantni metabolit u posredovanju izlučivanja renina iz jukstaglomerularnih stanica preko prostanooidnih receptora  $\text{EP}_2$  i  $\text{EP}_4$  (58, 59). Osim jukstaglomerularnih stanica, sabirni kanalići još su jedno glavno mjesto proizvodnje i djelovanja  $\text{PGE}_2$ . Konkretnije, na distalnom nefronu,  $\text{PGE}_2$  ima složenu ulogu u regulaciji  $\text{Na}^+$  i prijenosa vode. Nadalje, put  $\text{PGE}_2/ \text{EP}_4$  dobro je poznat kao antidiuretski mehanizam koji nadopunjuje djelovanje vazopresina u sustavu sabirnih kanalića (60).

Klinički gledano, ciljno djelovanje brojnih lijekova usmjereno je na receptore ANG II koji se dijele u četiri velike skupine ( $\text{AT}_1$ ,  $\text{AT}_2$ ,  $\text{AT}_3$  i  $\text{AT}_4$ ) i njihove podskupine, od kojih su najviše istraženi oni skupine  $\text{AT}_1$  (ANG II u srži nadbubrežne žlijezde preko  $\text{AT}_1$  receptora pojačava lučenje kateholamina, ali i sprječava ponovno upijanje noradrenalina na simpatičkim živčanim završetcima pa dovodi do povećane aktivnosti simpatikusa) (61) i  $\text{AT}_2$  (ANG II izravnim

djelovanjem na AT2 receptor u membranama glatkih mišićnih stanica krvnih žila izaziva vazodilataciju, a isti učinak ostvaruje i stimuliranjem nastanka bradikinina i dušičnog oksida posrednim djelovanjem na ovaj receptor) (62). Sažeto govoreći o receptorima, aktivacijom AT1 receptora, ANG II stimulira staničnu proliferaciju i stvaranje ekstracelularnog matriksa dok djelovanjem na AT2 receptore krvnih žila izražava antiproliferativne i apoptotičke učinke na stanice glatke muskulature. Aldosteron, karika RAS-a, hormon je kojeg primarno luči zona glomeruloza kore nadbubrežne žlijezde, a smatra se najvažnijim mineralokortikoidom kojemu je glavna uloga održavanje volumena izvanstanične tekućine čuvanjem tjelesnog natrija (63) pri u stanicama sabirnih te završnih dijelova distalnih zavijenih kanalića bubrega potiče aktivnu reapsorpciju natrija iz tubularne tekućine, a izlučivanje kalija iz tubularnih stanica u tubularnu tekućinu. Uzevši u obzir tzv. "negenomski" spektar brzog djelovanja, rezultati aldosteronskog uplitanja povišen su oksidacijski stres u stanici, upala, fibroza, interferiranje s unutarstaničnim signaliziranjem te utjecaj na funkciju endotela što do izražaja posebno dolazi kod pretilih osoba koji u konačnici rezultira oštećenjem vitalnih organa (srca, bubrega, gušterače, mozga te krvotvornih stanica) (64).

Poznato je kako je funkcioniranje RAS-a isprepletano s funkcioniranjem adrenergičkog sustava kroz složenu interakciju brojnih signalnih puteva od kojih se najviše izdvaja ona između renina i simpatičke aktivnosti (39). Također, RAS ima značajnu ulogu u mehanizmima vaskularne relaksacije pri čemu pridonosi održavanju arteriolarne strukture i normalne reaktivnosti krvnih žila, koja je narušena u hipertenziji kada pridonosi razvoju visokih vrijednosti krvnoga tlaka kao posljedica povećanog perifernog otpora. Premda se istražuje desetljećima kako je povećanje aktivnosti RAS-a istaknuto u raznim patološkim stanjima, tek je unazad nekoliko godina postalo sve evidentnije da i supresija RAS-a i razine ANG II (što se događa kod visokog unosa soli u organizam) potiče više štetnih mehanizama koji su u konačnici povezani s povišenjem razine oksidativnog stresa u krvožilnom sustavu (39). Predložena je teorija kako uravnotežena interakcija između RAS-a, NO i  $O_2^-$  osigurava usklađenu regulaciju funkcije bubrega, dok je neravnoteža povezana s patofiziologijom osjetljivosti na sol i hipertenziju. Bilo je zanimljivih zapažanja kod istraživanja na transgeničnim štakorskim modelima hipertenzije ovisne o ANG II sa zamjetnom ekspresijom gena mišjeg renina koja je u konačnici dovela do povećane razine cirkulirajuće i tkive razine ANG II kao i oksidativnog stresa (65). U svojim istraživanjima vezanim uz ulogu gena renina u hipertenziji ovisne o soli, Drenjančević i suautori rabili su četiri genetska soja visoko

srodnih štakora u svrhu istraživanja uloge RAS-a u regulaciji normalnih obrazaca vaskularne relaksacije. Rezultati njihovih studija pokazali su kako štakori koji ne moduliraju RAS u odgovoru na sol i imaju stalno niske vrijednosti ANG II kao i konzomički štakori kojima je unesen zdravi gene drugog štakorkog soja i koji moduliraju RAS u odgovoru na sol kad su hranjeni hranom s visokim udjelom soli imaju narušen mehanizam vaskularne relaksacije, dok u uvjetima normalne prehrane, modulirajući RAS i fiziološke koncentracije ANG II, dovode do oporavka relaksirajućih mehanizama. Takve se promjene u vaskularnoj reaktivnosti nalaze u sustavu srednje moždane arterije te u sustavu mezenteričnih i otpornih arterija skeletnih mišića štakora (66 - 69). Druge studije pokazuju da prehrana s visokim unosom soli dovodi do povećanog oksidativnog stresa u mikrocirkulaciji te da utječe na promijenjene omjere između prooksidansne i antioksidansne razine enzima (70, 71). Pokazalo se da se gubitak sposobnosti vaskularne relaksacije, narušenost signalizacije endotelnih stanica (posredovano  $Ca^{2+}$ ), povećanje krvožilnog oksidativnog stresa i smanjenje ekspresije Cu/Zn superoksid dismutaze u rezistenciji arterija životinja hranjenih hranom s visokim udjelom soli može spriječiti kroničnom intravenskom infuzijom supresorske doze ANG II (72). Osim same supresije, time dolazi i do smanjene interakcije ANG II s njegovim AT1 receptorom što doprinosi oslabljenoj vaskularnoj relaksaciji kod štakora Sprague-Dawley hranjenih hranom s visokim udjelom soli (72, 73). Opisano upućuje na to da tonična aktivacija AT1 receptora normalnim razinama cirkulirajućeg ANG II igra važnu ulogu u održavanju mehanizama vaskularne relaksacije u normalnim fiziološkim uvjetima (39).

Mihalj i suautori proveli su istraživanje na animalnom i humanom modelu usmjereno na procjenu učinaka kratkotrajne prehrane s visokim udjelom soli na status aktivacije leukocita periferne krvi u zdravih štakora i mladih ljudi temeljeno na distribuciji subpopulaciji leukocita periferne krvi i površinskoj ekspresiji integrina mjereno protočnom citometrijom. Time se pokazalo da kratkotrajna visokosolana (VS) dijeta može promijeniti status aktivacije leukocita i potaknuti vaskularnu upalu niskoga stupnja (74). Korak je dalje istraživanje Knezović i suautori koje se temelji na humanom modelu, čiji je cilj bio pokazati posebnu ulogu oksidativnog stresa na početnu, nisku razinu upalnog odgovora kod primjerene kratkotrajne VS dijeta. Pokazali su kako se navedenim protokolom značajno povisila serumska razina proupalnih citokina interferona  $\gamma$  (INF- $\gamma$ ), tumor nekrotizirajućeg faktora  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukina 9 (IL-9) i interleukina 17A (IL-17A), ali i protuupalnih citokina interleukina 10 (IL-10) i transformirajućeg faktora rasta  $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1), sa zaključkom kako povećani oksidativni stres mijenja imunološke regulatorne mehanizme,

vjerojatno preko učinaka na regulatorne T stanice (75). Na negativne učinke oštećene funkcije endotela putem oksidativnog stresa u mladih zdravih osoba izazvano 7-dnevnom dijetom s visokim udjelom soli moguće je preventivno utjecati konzumacijom vitamina C i E.

Rezultati studije temeljene na mikrocirkulaciji kod ljudi, pokazale su kako se već nakon jednog tjedna konzumacije velike količine kuhinjske soli narušava endotelna funkcija bez promjene krvnoga tlaka (76, 77). Na animalnom je modelu također pokazano da nastaju promjene dilatacije ovisne o protoku nakon kratke VS dijeta (78).

Do sada su istraživanja provedena uglavnom na životinjskim modelima (prvenstveno štakorima) te se pokazala uzročno-posljedična veza povećanog unosa soli i promjena u vaskularnoj reaktivnosti (66, 69, 73, 79). Osim istraživanja na animalnim modelima, utjecaj kratkotrajnog unosa visokih doza soli istraživao se i na odabranom uzorku mladih zdravih ispitanika. Drenjančević i suautori osmislila je i utvrdila koncept studije na humanom modelu koja je poslužila kao osnova za daljnja istraživanja sličnog karaktera, a svrha je toga istraživanja bila istražiti pogoršava li kratkotrajno povećanje unosa soli u organizam protok krvi u mikrocirkulaciji oštećujući funkciju endotela te istražiti ulogu metabolita ciklooksigenaznoga podrijetla u regulaciji protoka krvi u mikrocirkulaciji u odgovoru na promjenu unosa soli u svakodnevnoj prehrani. To je istraživanje pritom pokazalo kako jedan tjedan prehrane s visokim udjelom soli pogoršava postokluzivni hiperemični protok u mikrocirkulaciji kože koji se bio oporavio kod ispitanica na VS protokolu nakon inhibicije ciklooksigenaznih enzima indometacinom, ali ne i celekoksibom. U istom je istraživanju i jedan tjedan prehrane s visokim udjelom soli uzrokovao značajan porast plazmatske razine tromboksana A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>), vazokonstriktora ciklooksigenaznoga podrijetla, čija je razina značajno smanjena nakon primjene celekoksiba, a promjene nisu zabilježene u kontekstu postokluzivnog hiperemičnog vaskularnog odgovora u mikrocirkulaciji kože.

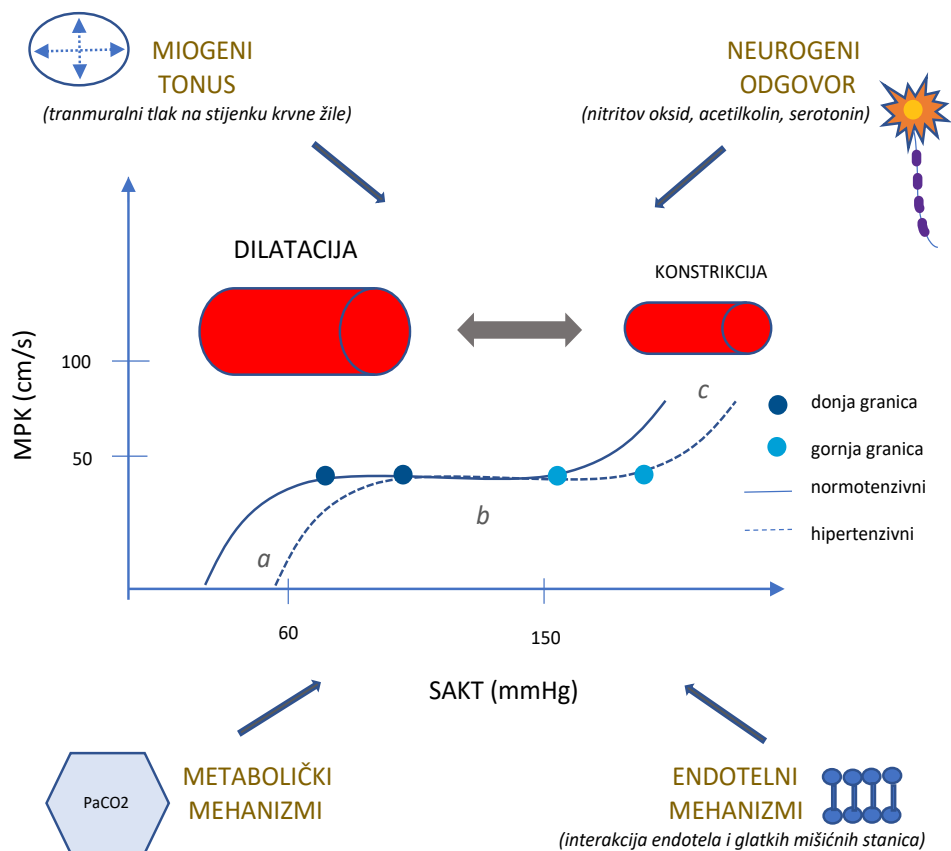
Animalno istraživanje koje je bilo jedno od uporišta i za postavljanje teze ove disertacije bilo je istraživanje Čosić i suautora. Cilj je te studije bio procijeniti vaskularni odgovor na dilataciju izazvanu protokom (engl. *flow-induced dilatation*, FID) i razjasniti ulogu vaskularnog oksidativnog stresa/antioksidativnog kapaciteta u srednjim moždanim arterijama (SMA) štakora hranjenih visokim dozama soli *in vitro*. Novost je ove studije bila u demonstriranju poremećene dilatacije SMA izazvane protokom i smanjene regulacije vaskularnih antioksidativnih gena s unosom soli što dovodi do povećanih razina oksidativnog stresa u krvnim žilama i perifernim limfnim organima, a sve zajedno doprinoseći oštećenju dilatacije izazvane protokom. Osim toga,

rezultati studije pokazali su i povećani oksidativni stres u leukocitima perifernih limfnih organa, što ukazuje na pojavu upalnih procesa zbog unosa visokih doza soli (78, 80).

### 1.5. Autoregulacija protoka kroz moždane krvne žile

Moždana cirkulacija ima funkciju dopremanja hranjivih tvari i kisika do moždanog parenhima te otpremanja produkata metabolizma, prvenstveno ugljičnog dioksida (CO<sub>2</sub>) (81, 82). Glavnu ulogu u konačnoj složenoj interakciji glavnih faktora poput moždanog perfuzijskog tlaka, moždane metaboličke aktivnosti, autonomne inervacije, vazodilatatora i uporabe lijekova, ima moždana autoregulacija (MA) (83). Moždana je autoregulacija intrinzični mehanizam koji omogućava održavanje moždanog protoka krvi ujednačenim unatoč kolebanjima sistemskog arterijskog krvnog tlaka (84). Unatoč tome što je ranije bila poznata uloga moždanog arterijskoga kruga na bazi mozga (tzv. Willisov krug) samo u kolateralnoj cirkulaciji prilikom smanjenog dotoka krvi neke od dovodnih arterija, danas je poznato kako komponentne moždane arterijske bazalne mreže služe u ograničavanju prijenosa vršnog sistoličkog tlaka (engl. *peak systolic value*, PSV) u preostale moždane arterije i tako čine pasivni sustav raspršenja energije. Time se postiže zaštitnička uloga većih moždanih arterija koje primaju veće opterećenje tlaka i štite manje arterije od eventualnih oštećenja (81, 85).

MA se može procijeniti mjerenjem relativnih promjena protoka krvi kao odgovor na promjenu krvnog tlaka u stabilnom stanju (statička metoda) ili tijekom odgovora na brzu promjenu krvnog tlaka (dinamička metoda) (86). Premda krvožilna autoregulacija nije samo svojstvena očuvanju i regulaciji potreba moždanog parenhima, najviše istraživano je područje autoregulacije krvnog protoka s obzirom na sve veću učestalost cerebrovaskularnih bolesti. Osnovni je mehanizam MA kontroverzan i nerazjašnjen u potpunosti. Najvjerojatnije su promjene širine žila posredovane međusobnim utjecajem miogenih i metaboličkih mehanizama, kao i međusobnog utjecaja perivaskularnih živaca i vaskularnog endotela. MA obično dobro djeluje između srednjih tlakova od 60 do 150 mmHg (87). Te granice nisu u potpunosti nepromjenjive, mogu se modulirati simpatičkom živčanom aktivnošću, vaskularnim RAS-om i bilo kojim čimbenikom, osobito promjenama u parcijalnom tlaku CO<sub>2</sub> (PaCO<sub>2</sub>) koji smanjuje ili povećava moždani protok krvi (MPK, engl. *cerebral blood flow*, CBF) (88).



**Slika 1.5.** Fiziologija moždane autoregulacije (odnos moždanog protoka krvi (MPK) i srednjeg arterijskog krvnog tlaka (SAKT)). Shema glavnih mehanizama koji doprinose moždanoj autoregulaciji (miogeni tonus, neurogeni odgovor, metabolički i endotelni mehanizmi), s prikazom pomaka krivulje hipertenzivnih pojedinaca u odnosu na normotenzivne  
 b – plato moždanog protoka krvi, a i c – period izvan kontrole autoregulacije  
 (Izvor: izradila autorica rada)

Na *Slici 1.5.* slikovito je prikazana krivulja ovisnosti moždanog protoka krvi o srednjem arterijskom tlaku s upečatljivom promjenom nagiba krivulje ispred i iza platoa, tj. kada odnos vrijednosti navedenih parametara nije linearan što ujedno znači da više ne podliježe predvidivom obrascu autoregulacije. Na originalan su način istaknute i četiri kategorije koje po autoru Andrewu Silvermanu direktno moduliraju učinak MA, a to su: miogeni tonus, neurogeni odgovor, metabolički te endotelni mehanizmi (89). Ilustracija prikazuje i da je oblik krivulje odnosa navedenih vrijednosti u kontekstu normotenzivnih i hipertenzivnih osoba identičan, s napomenom pomaka tzv. „prozora” aktivacije same MA. Pri tome se primjećuje kako autoregulacijski mehanizmi kod hipertenzivnih počinju funkcionirati tek pri višim vrijednostima krvnoga tlaka, no



kako plato traje jednako, sama se MA očituje i pri višim vrijednostima krvnoga tlaka nego kod normotenzivnih.

Proizvodnja endotelnog dušikovog oksida (NO) ključni je čimbenik u cerebrovaskularnom odgovoru na CO<sub>2</sub> (90). Bolesna stanja mozga mogu oslabiti ili čak potpuno onemogućiti autoregulaciju MPK (navedenog područja ili u cijelosti), a navedeno se najčešće događa kod teške ozljede glave ili akutnog ishemijskog moždanog udara, ostavljajući preživjelo tkivo mozga nezaštićenim od potencijalno štetnog učinka promjena krvnog tlaka. Isto tako, MA se može izgubiti u parenhimu oko lezija koja ima ekspanzivnu, prostorno zauzimajuću sastavnicu, bilo da se radi o tumoru ili hematomu. Teoretski, u mnogim takvim bolesnim stanjima, MA se može ponovno uspostaviti hiperventilacijskom hipokapnijom (91). MA također može biti oštećena kod neonatalne asfiksije mozga (92) i infekcije središnjeg živčanog sustava, ali čini se da je netaknuta kod depresije i migrene, unatoč smanjenju kemijske i metaboličke kontrole moždanog protoka krvi (87). Kod kronične hipertenzije, granice MA pomaknute su prema visokom krvnom tlaku. S druge strane, ako dođe do narušene MA pri visokim vrijednostima krvnoga tlaka, može nastupiti akutna hipertenzivna encefalopatija kao rezultat neuspješne zaštite tkiva mozga. Kod dugotrajnog dijabetesa melitusa (DM) može postojati kronično oštećenje autoregulacije moždanog protoka krvi, vjerojatno zbog dijabetičke mikroangiopatije (93, 94).

Preko miogenog tonusa, transmuralni tlak utječe na arterijski promjer kroz izravnu kontrakciju ili opuštanje glatkih mišića. U metaboličkom mehanizmu, fluktuacije PaCO<sub>2</sub> dovode do vazokonstrukcije ili vazodilatacije. Endotel također igra ključnu ulogu putem izlučivanja tvari poput endotelina 1 (ET-1) i TXA<sub>2</sub>; ove molekule mogu djelovati izravno na glatke mišićne stanice. Na kraju, u neurogenom odgovoru, neuroni i glija posreduju u fiziologiji glatkih mišića otpuštanjem različitih neurotransmitera s vazoaktivnim svojstvima.

### **1.6. Fiziološki čimbenici koji utječu na cerebrovaskularnu reaktivnost**

#### **1.6.1. Test ortostatske promjene**

Ortostatsko je opterećenje važan test za procjenu cerebrovaskularne reaktivnosti u ljudi. Odgovor na ortostazu fiziološki je kompenzacijski mehanizam simpatičkog živčanog sustava koji uključuje promjenu srčane frekvencije (SF) i sprječava značajan pad krvnog tlaka tijekom ustajanja (95) putem aktivacije baroreceptorskog refleksa s ciljem očuvanja moždanog tlaka perfuzije

(MTP). Poremećaj baroreceptora prognostički je pokazatelj lošeg ishoda kardiovaskularnih i cerebrovaskularnih bolesti (96). Funkcija baroreceptora obično se opisuje baroreceptorskom osjetljivošću (engl. *baroreceptor sensitivity*, BRS), što je mjera za kvantifikaciju baroreceptorske kontrole nad otkucajima srca. Na primjer, smanjena funkcija baroreceptora odgađa ubrzanje frekvencije srca kao odgovor na ustajanje. VS dijeta može promijeniti BRS čak i u ležećem položaju. Na primjer, parasimpatički krak BRS-i i promjenjivost srčane frekvencije PSF (engl. *heart rate variability*, HRV) povećani su nakon sedmodnevne VS dijete u zdravih odraslih osoba u ležećem položaju (97). Neka objašnjenja ovog učinka mogu biti u senzibilizaciji neurona u kardiovaskularnom centru (npr. *nucleus tractus solitarius*) (98), kao i hormonskim oscilacijama, posebno ANG II koji je potisnut unosom velike količine soli (99). Zanimljivo je da BRS nije prethodno proučavan u uvjetima VS prehrane, unatoč nedavnom otkriću da VS dijeta potiskuje simpatički doprinos autonomne kontrole u zdravih ljudi (77).

Ortostatski je test lako izvediva metoda kojom se može primjenjivati kod pokretnih i suradljivih osoba svih dobnih skupina. U brojnim je istraživanjima korišten navedeni test prilikom utvrđivanja održanosti MA. Tako je kod djece s trenutnom ortostatskom hipotenzijom pokazana ortostatska intolerancija posljedično asimetričnoj autoregulaciji između desnoga i lijevoga prefrontalnoga korteksa (100, 101). Ortostatski je test primjenu našao i prilikom uporabe minilaserske dopplerske protočnosti (engl. *mini laser Doppler flowmeter*, LDF) tijekom mjerenja kompenzatornog odgovora krvnoga tlaka putem MPK što bi bila indirektna procjena promjene krvnoga tlaka uzrokovanog ortostazom (102). S obzirom na veliku prevalenciju cerebrovaskularnih bolesti, ne čudi što je ovaj test veliku primjenu našao i kod ispitivanja pacijenata s preboljelim moždanim udarom. Tako se u studiji Panayiotoua i suautora pokazalo kako bolesnici s akutnim moždanim udarom, za razliku od kontrolne skupine zdravih osoba, imaju iznenađujuće povišenje vrijednosti dijastoličkog i srednjeg krvnoga tlaka kada su prešli iz ležećeg u sjedeći ili stojeći položaj, a vrijednosti srčane frkvencije bile su povišene kod obje skupine ispitanika (102). Novija su istraživanja pokazala i da vrijednost ortostatskog testa može biti u prepoznavanju osoba s aortalnom stenozom koje imaju veći rizik razvoja sinkope kod kojih pad brzina protoka karotidnih i vertebralnih arterija može imati veće posljedice nego kod onih koji imaju manji rizik razvoja sinkope, sve na temelju bilježenja veće promjene PSV-a (103).

Nedavno provedena velika studija na skupini od 9329 ispitanika (SPRINT baza podataka, engl. *The Systolic Blood Pressure Intervention Trial*) uporabom je ortostatskog testa pokazala da

postoji povezanost između promjene krvnoga tlaka potaknuta ortostatskom promjenom na pojavu velikog kardiovaskularnog štetnog događaja (engl. *major adverse cardiovascular event*, MACE) i to tako da je rizik MACE-a manji kod osoba kod kojih je manja, ortostatski uvjetovana promjena krvnoga tlaka te obrnuto, da je MACE rizik veći kod osoba s povećanom promjenom krvnoga tlaka (104).

### 1.6.2. Hiperkapnija (test zadržavanja daha)

Test zadržavanja daha (engl. *breath hold test* - BHT) fiziološki je, neškodljiv, jednostavno izvediv i po potrebi lako ponovljiv test. BHT se rabi u respiratornoj fiziologiji za mjerenje odgovora disanja, a u kontekstu kliničkog značaja može predvidjeti ishode kod pacijenata s različitim respiratornim abnormalnostima (105). Prvisu ga put izveli Ratnatunga i Adiseshiah 1990. g. u kliničke svrhe kako bi se pomoću transkranijuskog dopplerskog ultrazvuka (engl. *transcranial Doppler*, TCD) procijenio rizik od moždanog udara kod simptomatskih pacijenata sa stenotskim bolestima karotidnog stabla (106). U toj i sličnim studijama, vrijeme BHT-a se uzimalo kao pokazatelj jačine vazoaktivnog podražaja. BHT se izvodi na kraju izdaha u trajanju od približno 20-30 sekundi, pri čemu kontinuirani oksidativni metabolizam uz ograničeno respiratorno otplahivanje rezultira povišenjem PaCO<sub>2</sub> (107). BHT se smatra validnom, vazoaktivno provocirajućom metodom za procjenu cerebrovaskularnog odgovora mjereći cerebrovaskularnu reaktivnost (108, 109) koja govori o kapacitetu cerebrovaskularne autoregulacije u održavanju MPK-i, odnosno promjenu MPK-i po promjeni vazoaktivnog podražaja.

U svrhu mjerenja otpora moždane cirkulacije (OMC), proučavan je i uspoređivan učinak izazivanja hiperkapnije samostalnim izvođenjem BHT-a i kombinacijom udisanja CO<sub>2</sub> praćene hiperventilacijom (BHT indeks izračunat je kao postotak povećanja sistoličkog krvnog tlaka (SKT) u odnosu na početnu vrijednost, a po sekundi apneje, dok je indeks inhalacije CO<sub>2</sub> i hiperventilacije (CO<sub>2</sub>/HV) izračunat kao postotak razlike SKT-a između inhalacije CO<sub>2</sub> i HV) čime se došlo do zaključka da navedene metode umjereno koreliraju.

Mjerenje varijacija OMC tehnikom zadržavanja daha ima potencijal otkriti različitu cerebrovaskularnu patofiziologiju (110, 111). Nedostatak ove tehnike bi mogao biti slabiji odnos između vremenskog trajanja zadržavanja daha i podražaja izazvanim PaCO<sub>2</sub> koji kontrolira MPK s obzirom na to da je vrijeme zadržavanja daha samo jedan od nekoliko čimbenika koji određuju stvarnu promjenu PaO<sub>2</sub>. Ostali čimbenici uključuju brzinu metabolizma ispitanika, veličina pluća

(koja variraju s dobi, spolom, visinom, opsegom trbuha, položajem tijela, opsegom kompresije masnim tkivom, prisutnosti opstruktivnih i drugih bolesti pluća itd.). Sve navedeno, a pogotovo kada se uzme u obzir koji tip ventilacije je prethodio prije samog BHT-a, sugerira nelinearan odnos trajanja podražaja i rezultirajućeg podražaja  $\text{PaO}_2$ , stoga treba uzeti sve navedeno pri planiranju što učinkovitijeg rezultata (110).

BHT-om uzrokovana hiperkapnija metoda je korištena u brojnim kliničkim istraživanjima pa se tako primjenjivala kod procjene vaskularnog odgovora kod pacijenata s DM-om, također pomoću uporabe TCD-a te pristupom na srednju moždanu arteriju (112 - 114). Koliko je učinkovit BHT pokazuje i istraživanje u kojemu se pokazalo da brzina promjene moždanog protoka krvi posljedično hiperkapniji uzrokovanom BHT-om može dovesti i do promjena sistemskog krvnog tlaka. Navedeno svakako treba uzeti u obzir prilikom tumačenja cerebrovaskularne reaktivnosti (115).

### 1.6.3. Hipokapnija (hiperventilacija)

Dobro je poznat fiziološki mehanizam u kojem se hiperventilacijom izaziva hipokapnija koja pak dovodi do smanjene perfuzije moždanog parenhima, a u konačnici može rezultirati i prolaznim gubitkom svijesti. Moždane krvne žile osjetljive su na promjene u  $\text{PaCO}_2$  i parcijalnim tlakovima kisika ( $\text{PaO}_2$ ), tako da hiperkapnija/hipoksija povećava, a hipokapnija/hiperoksija smanjuje ukupni MPK. Bez obzira na izražene cerebrovaskularne učinke  $\text{PaCO}_2$ , doprinos je niskog  $\text{PaCO}_2$  smanjenju brzine krvotoka u srednjoj moždanoj arteriji prolazan (116). Pokazalo se da promjene  $\text{PaCO}_2$  utječu i na statičku i na dinamičku MA. Hipokapnija smanjuje MPK i proširuje područje platoa statičke autoregulacijske krivulje, što predstavlja bolji odgovor MA, dok smanjuje vrijeme odgovora brzine moždanog protoka krvi nakon nagle promjene u krvnome tlaku (82, 87). S druge strane, hiperkapnija uzrokuje pomak autoregulacijske krivulje prema gore, oštećujući i statičku i dinamičku moždanu regulaciju.

Hipokapnija izazvana hiperventilacijom može povećati moždanu metaboličku aktivnost kroz nekoliko različitih mehanizama. Hipokapnija povećava ekscitabilnost neurona što dovodi do povećane potrošnje kisika i glukoze, proizvodnje ekscitatornih aminokiselina i prebacivanja na anaerobni metabolizam. Alkalozu, nadalje, može dovesti do pomaka ulijevo krivulje disocijacije kisika i hemoglobina i inhibicije uobičajene negativne povratne sprege kojom nizak pH ograničava proizvodnju endogenih organskih kiselina. Ovi učinci hiperventilacije, uz smanjenje opskrbe

kisikom povezano sa smanjenjem MPK-a, naginju ravnotežu potrošnje i opskrbe mozga dalje prema većoj potražnji nego što je opskrba (91).

Settakis i suautori su zaključili kako hiperventilacija, jednako kao i BHT, čini praktičnu alternativu acetazolamidu i metodi inhalacije CO<sub>2</sub> u procjeni moždane hemodinamike (117). Period se trajanja hiperventilacije razlikuje od istraživanja do istraživanja pa se tako može primjetiti da se primjenjivao protokol od 90 sekundi (ujednačena hiperventilacija pomoću ritma metronoma), zatim umjereni ritam hiperventilacije u trajanju od 2 minute (88), ujednačeno tijekom 60 sekundi (svaka sekunda jedan udah) (118), a najčešće u trajanju od 30 sekundi (119 - 122).

Zanimljivi su rezultati funkcionalnih neuro-slikovnih (engl. *neuroimaging*) studija koja pokazuju tumačenje provođenja hiperventilacije s jedne strane uz, dobro poznati, povišeni regionalni MPK povezan s pojačanom neuronskom aktivnošću prilikom kognitivnih radnji, rezultirajući oprečnim učinkom svjesne ili nesvjesne hiperventilacije tijekom umnog napora (što dovodi do hipokapnije) od umnim naporom izazvane vazodilatacije (123).

### 1.6.4. Hiperoksija

Premda je poznato kako kisik ima veliku ulogu u središnjoj regulaciji krvnoga tlaka, nije do kraja poznato kojim mehanizmima dolazi do promjena u SF, srčanom indeksu, sustavnom vaskularnom otporu te protoku krvi i krvome tlaku, posebice kod ljudi. Iako temeljni mehanizmi nisu do kraja poznati, poznate su dvije osnovne reakcije koje se lako mogu detektirati u gotovo svakom tkivu: vazodilatacija kao odgovor na niske razine PaO<sub>2</sub> koju spominje Hutchins 1974. godine i vazokonstrikcija kao posljedica visokog PaO<sub>2</sub> opisana po Dulingu 1972. godine (124). Iznimke su plućna cirkulacija i vjerojatno fetoplacentarna cirkulacija gdje su učinci kisika obrnuti (125). U više je studija pokazano kako su metaboliti arahidonske kiseline, kao što su tromboksan i prostaglandini, uključeni kao važni medijatori vaskularnih odgovora na promjene u dostupnosti kisika (126 - 128). TXA<sub>2</sub> stimulira agregaciju trombocita i ima vazokonstriksijsko djelovanje, dok je PGI<sub>2</sub> snažan inhibitor agregacije trombocita i vazodilatator. Pokazano je kako posreduje u odgovoru otpornih žila na promjene u dostupnost kisika (68). Utvrđeno je i da dolazi do hipoksične dilatacije SMA zbog hiperpolarizacije glatkih mišića krvnih žila posredovane prostaciklinom izazvane aktivacijom K<sup>+</sup> kanala osjetljivog na glibenklamid što je prikazano na modelima štakora (129). S druge strane, TXA<sub>2</sub> posreduje paradoksalnu konstrikciju srednjih moždanih arterija kao odgovor na SMA u štakora hranjenih s visokim udjelom soli (79).

Na studijama na životinjama pokazan je način posredovanja navedenih metabolita arahidonske kiseline u odgovoru otporničkih žila na promjene u dostupnosti kisika (68, 130). Utvrđeno je da dolazi do hipoksične dilatacije SMA što je rezultat hiperpolarizacije glatkih mišića krvnih žila, a sve posredovano posredovano prostaciklinom izazvanom aktivacijom  $K^+$  kanala osjetljivih na glibenklamid (129). S druge strane,  $TXA_2$  posreduje paradoksalnu konstrikciju SMA u odgovoru na hipoksiju kod štakora hranjenih visokim udjelom soli (69). Takav očekivani cerebrovaskularni odgovor na kisik može biti promijenjen u različitim patološkim stanjima, ali mehanizmi uključeni u ovaj proces su još uvijek uglavnom nepoznati (131, 132).

Promjene se mogu promatrati na dvijema razinama – mikrocirkulaciji i makrocirkulaciji. Kod ljudi, opažanja promjena promjera krvnih žila u mikrocirkulaciji izazvanih hiperoksijom ograničena su na površinske vaskularne slojeve kao što je retina (133, 134) i sublingvalni vaskularni sloj (135). Ovi su organi vjerojatno reprezentativni za promjene promjera krvnih žila u kritičnim organima povezane s hipoksijom. Posljedično, učinci kisika na vaskularni tonus u dubljim organima proučavani su uglavnom na životinjskim modelima, korištenjem intravitalne mikroskopije (*in vivo*) i miografije izoliranih arterija (*ex vivo*). Međutim, rezultati ovih istraživanja uvelike variraju. Premda porast zasićenosti kisikom do hiperoksične razine najčešće dovodi do vazokonstrikcije (136, 137), u nekim slučajevima je učinak izostao (138, 139) ili čak paradoksalno došlo do vazodilatacije (140). Uzroci ove heterogenosti nisu jasni, ali mogu uključivati razlike među vrstama, različite metodologije istraživanja, vaskularnim slojevima i/ili mjestosenzora hiperoksije (npr. stijenka žile ili ekstravaskularno tkivo). Identificiranje izvora heterogenosti može pridonijeti boljem razumijevanju mehanizama uključenih u hiperoksičnu vazokonstrikciju (133).

Pokazano je da postoji linearna korelacija između hiperkapničnog i hiperoksičnog ventilacijskog odgovora. Odnosno, izokapnička hiperoksija stimulira ventilaciju na način ovisan o dozi, pri čemu se minutna ventilacije više nego udvostručuje nakon 30 minuta 75 %  $O_2$ . U slučaju da se izokapnija ne održava, hiperventilacija je oslabljena smanjenjem  $PaCO_2$ . Zaključno se može reći da postoji upravna povezanost između hiperoksičnog i hiperkapničnog ventilacijskog odgovora (141).

Hipertenzija je jedan od najvećih javnozdravstvenih izazova današnjice s obzirom na moderan stil života, a samim time ne prestaje biti predmetom istraživanja istraživačkih skupina diljem svijeta. Svaka nova spoznaja o uzrocima nastanka hipertenzije daje mogućnost korjenitog rješavanja uzroka problema. Sol je vodeći uzrok hipertenzije, no sol je postala predmetom još većeg

interesa nakon što se otkrilo kako sol ima nepovoljni učinak na endotel i prije manifestiranja hipertenzije, odnosno posljedice su mjerljive i kod normotenzivnih pojedinaca. Animalne su studije od neprocjenjive važnosti u proučavanju mogućih mehanizama utjecaja soli na krvožilni sustav, no zbog općenite ograničenosti animalnih studija te kako bi se saznanja mogla primjenjivati i u kliničko-terapijske svrhe, od iznimne je važnosti provesti što veći broj istraživanja i na ljudima. S obzirom na to da su osobe koje boluju od hipertenzije najčešće osobe srednje i starije životne dobi, a često imaju i druga komobiditetna stanja, izazovno je razdvojiti čimbenike koji su doveli do hipertenzije od čimbenika koji leže u podlozi ostalih patoloških stanja organizma, pogotovo jer su oni vrlo često i preklapajući. Temeljeno na tome, potrebno je izvojiti pojedince određene skupine kod kojih bi se moglo provoditi ciljano istraživanje. Mlade, zdrave osobe, koje ne boluju od kroničnih bolesti i koje ne uzimaju medikamentoznu terapiju bilo koje vrste (a ujedno su i nepušači), mogu poslužiti kao adekvatna istraživačka skupina za proučavanje utjecaja soli na krvožilni sustav. Ovo istraživanje nastoji dati neke od odgovora kako sol, intenzivnim konzumiranjem u kraćem vremenskom periodu dovodi do promjena moždane i sistemske cirkulacije kod mladih, zdravih osoba. Uvažavajući koncept studija koje su prethodile, a uvođenjem primjene uređaja za procjenu moždane i sistemske hemodinamike, cilj je da ovi rezultati pomognu u rasvjetljavanju do sada manje poznatih okolnosti štetnog utjecaja soli.

### **2. HIPOTEZA**

Primjena kratke visokoslane dijeta kod mladih zdravih ljudi dovodi do promjene reaktivnosti rezistentnih moždanih krvnih žila na fiziološke podražaje poput ortostaze, hiperkapnije, hiperventilacije i hiperoksije, bez značajnih promjena arterijskog krvnog tlaka (ili uz normalan arterijski krvni tlak).



### 3. CILJ

Cilj je istraživanja utvrditi utjecaj visokog unosa NaCl na promjene reaktivnosti i krvnog protoka SMA (u odgovoru na fiziološke podražaje – ortostazu, hiperkapniju, hiperventilaciju i hiperoksiju) kod mladih zdravih ljudi obaju spolova. To se želi postići podjelom u nekoliko kategorija:

1. Antropološkim mjerenjima utvrditi i pratiti status osnovnih vrijednosti te kategorije (ITM, omjer stuka i bokova) kao i ručno izmjerenih vrijednosti krvnoga tlaka (sistolički krvni tlak SKT, dijastolički krvni tlak DKT, srednji arterijski krvni tlak SAKT) i srčane frekvencije SF
2. Utvrditi postojanje razlika u dinamici cerebrovaskularnih parametara, a to su: moždani perfuzijski tlak MTP - CPP (engl. *cerebral perfusion pressure*), integral brzine u vremenu - VTI (engl. *velocity time integral*), srednji moždani protok krvi MPK - CBF (engl. *mean cerebral blood flow*), sistolički moždani protok krvi SMPK - SCBF (engl. *sistolic cerebral blood flow*), dijastolički moždani protok krvi DMPK - dCBF (engl. *diastolic cerebral blood flow*), otpor moždane cirkulacije OMC - CVR (engl. *cerebral vascular resistance*), indeks moždane pulzatilnosti IMP - CPI (engl. *cerebral pulsatility index*)
3. Utvrditi postojanje razlika u dinamici sistemskih hemodinamskih parametara, a to su: srčana frekvencija SF - HR (engl. *heart rate*), sistolički krvni tlak SKT - SBP (engl. *sistolic blood pressure*), dijastolički krvni tlak DKT - DBP (engl. *diastolic blood pressure*), udarni volumen UV - SV (engl. *stroke volume*), indeks udarnog volumena IUUV - SI (engl. *sistolic index*), srčani minutni volumen SMV - CO (engl. *cardiac output*), indeks srčanog minutnog volumena ISMV - CI (engl. *cardiac index*), ukupni periferni otpor UPO - TPR (engl. *total peripheral resistance*), indeks ukupnog perifernog otpora IUPO -TPRI (engl. *total peripheral resistance index*)
4. Potvrditi promjene PRA (plazma reninska aktivnost) i aldosterona uslijed pridržavanja protokola unosa soli
5. Utvrditi osnovne biokemijske sastavnice u serumu (ureja, kreatinin, natrij, kalij)

### 3. CILJ

6. Analizirati biokemijske sastavnice u 24-satnom urinu (ukupni proteini, albumini, urea, urati, natrij, kalij, metanefrin, normetanefrin, vanilmandelična kiselina, homovanilinska kiselina, adrenalin, noradrenalin, dopamin)

### 4. ISPITANICI I METODE

#### 4.1. Ustroj studije

Studija je dizajnirana kao kontrolirana intervencijska studija u kojoj su svi ispitanici podloženi istom protokolu, s ponovljenim istovjetnim mjerenjima.

#### 4.2. Ispitanici

U studiju je bio uključen 51 ispitanik, no iz više razloga (nedovoljno pridržavanje dijetnog protokola, nemogućnost dolaska na pojedino mjerenje točno određeni dan, tehnički problemi tijekom protokola itd.), u konačnici je uključeno 27 mladih, zdravih osoba studentske populacije obaju spolova (21 žena i 6 muškaraca), starosti u rasponu od 19 do 24 godine. Svi su ispitanici bili pozvani oglašavanjem na Medicinskom fakultetu Osijek te su se istraživanju priključili dobrovoljno, nakon što su bili usmeno i pismeno iscrpno informirani o svrsi istraživanja te protokolu mjerenja. Svoje dobrovoljno sudjelovanje potvrdili su vlastoručnim potpisom. Svoje su sudjelovanje u istraživanju mogli prekinuti u bilo kojoj fazi bez obveze obrazloženja. Nadalje, prilikom procjene kako sudjelovanje izaziva prevelik psiho-fizički izazov, pojedincima je savjetovan prekid daljnjeg sudjelovanja.

Isključni kriteriji pri odabiru ispitanika su bili anamnestički podaci o kroničnim bolestima (autoimune bolesti, metaboličke, cerebrovaskularne, kardiovaskularne i dr.), uporaba hormonskih kontracepcijskih sredstava te bilo kakva druga terapija koja može modificirati funkciju endotela (npr. kontinuirana uporaba analgetika). Podatak o menstrualnoj fazi ciklusa bilježio se prilikom svakog dolaska na mjerenje, a žene su uključivane u protokol u različitim fazama menstrualnog ciklusa kako bi se izbjegli utjecaj i interakcije trenutnog hormonskog statusa na same učinke slanog protokola.

Istraživanje je odobrilo Etičko povjerenstvo Medicinskog fakulteta Osijek, Sveučilišta Josipa Juraj Strossmayera (Klasa 602-04/15-08/08, br. 2158-61-07-15-98), a usklađeno je s posljednjom revizijom Helsinške deklaracije iz 1964. g.

### 4.3. Metode

#### 4.3.1. Protokol istraživanja

Protokol istraživanja uključivao je dva dolaska na set mjerenja koji je uključivao antropometrijska mjerenja, mjerenje moždanog protoka (srednja moždana arterija) i mjerenje parametara sistemske hemodinamike. Mjerenja su se odvijala na istome mjestu, u Laboratoriju za Kliničku fiziologiju i fiziologiju sporta, Katedre za fiziologiju i imunologiju Medicinskog fakulteta Osijek pri sobnoj temperaturi i kontroliranim uvjetima. Svi testovi rađeni su pri svakom dolasku. Redoslijed podražaja bio je randomiziran, kako bi se izbjeglo uvjetovanje redoslijedom. Svi testovi rađeni su u jutarnjim terminima.

#### 4.3.2. Dijetni protokol

Na ispitanicima je proveden identičan protokol korištenja slane prehrane pri čemu su dobili detaljne pisane i usmene upute o pridržavanju pravila prehrane tijekom perioda istraživanja. Protokol je prehrane predviđen u trajanju od dva tjedna. Nakon prvoga tjedna provedeno je mjerenje nakon intervencije niskog unosa soli (NS), a potom, nakon tjedan dana, mjerenje nakon intervencije visokog unosa soli (VS). Pod pojmom NS dijete (u prvom tjednu) podrazumijevalo se u potpunosti izbacivanje iz uporabe kuhinjske soli u smislu dodatku soli pri pripremanju jela te dodatno kao pojačivača okusa. Nadalje, strogo je bila zabranjena konzumacija pekarskih proizvoda, proizvoda brze hrane i suhomesnatih proizvoda. Poticao se unos nerafiniranih namirnica sa što nižim udjelom soli u svome sastavu. Ukupni je predviđeni unos soli limitiran na 2,3 g/dan, tj. 40 mmol natrija na dan (prehrana za savladavanje hipertenzije - *DASH*). Niskoslanom je tjednu slijedio visokoslani tjedan koji je podrazumijevao standardizirani dodatak kuhinjske soli dnevnim obrocima, ukupno 11,7 g, tj. 200 mmol natrija na dan (uniformne, unaprijed pripremljene vrećice). Ukupno su tih dana VS protokola ispitanici konzumirali više od 13 g soli na dan što je viša vrijednost od prosječnog dnevnog unosa soli u RH (za odrasle osobe  $11,6 \pm 4,3$  g na dan;  $13,3 \pm 4,3$  za muškarce i  $10,2 \pm 4,2$  g na dan za žene). Unos tekućine bio je po volji ispitanika. Ispitanici su prilikom svakog dolaska na eksperimentalna mjerenja bili podvrgnuti randomiziranom redoslijedu izvođenja fizioloških podražaja (hiperoksija, hiperventilacija, test zadržavanja daha, ortostatska promjena). Randomizacijom njihova redoslijeda izvođenja nastojao se izbjeći eventualni učinak preklapanja njihovih utjecaja na vaskularnu reaktivnost. U istu svrhu, između

svakog se stimulusa koristila pauza, tzv. normalizacija mjerenih signala u trajanju od 5 minuta tijekom kojih bi se snimanje bez prekida i dalje odvijalo. Odabrani redosljed primjenjivanih podražaja, ispitanik bi zadržao svaki put.

### 4.3.3. Antropometrijska mjerenja

Pri svakom dolasku na početku samog protokola mjerenja, a nakon 15 minuta odmora u sjedećem položaju, pomoću poluautomatskoga tlakomjera (tvrtka Omron, Japan) izmjerena je vrijednost krvnoga tlaka. Konačne vrijednosti arterijskoga krvnog tlaka predstavljale su srednju vrijednost triju ponovljenih mjerenja.

Visina je izmjerena na inicijalnom mjerenju, a težina svake ispitanice izmjerena je prilikom svakoga posjeta kako bi se odredio indeks tjelesne mase (ITM). Na temelju vrijednosti opsega struka i bokova, odredio se omjer struk - bokovi (engl. *Waist-to-Hip Ratio*, WHR).

### 4.3.4. Laboratorijska mjerenja iz uzoraka krvi, seruma i urina

Analize urina i krvi obavljene su u Kliničkom zavodu za laboratorijsku dijagnostiku Kliničkog bolničkog centra Osijek te na Odsjeku za fiziologiju Istraživačkog centra Otto Loewi Medicinskog sveučilišta u Grazu, Austrija. Integritet uzoraka koju su bili analizirani u Grazu bio je očuvan na način da su se uzorci, prethodno zamrznuti na  $-80^{\circ}\text{C}$ , transportirali na suhome ledu. Uzorkovanje venske krvi učinjeno je pri svakom dolasku, 30 minuta nakon faze mirovanja u sjedećem položaju. Iz uzorka su se analizirale vrijednosti elektrolita plazme (natrij, kalij, kalcij), glukoze te ureje i kreatinina. Serumaska se osmolarnost računala prema formuli:

$$\text{Serumska osmolarnost} = 2 \times [\text{natrij}] + [\text{glukoza}] + [\text{ureja}]$$

Vrijednosti plazma reninske aktivnosti (PRA) i serumskog aldosterona analizirane su komercijalno dostupnim tzv. kitovima (CrystalChem, Downers Grove, Illinois, SAD).

Urin se prikupljao tijekom 24 sata neposredno prije dolaska na mjerenje, prema standardnim uputama (pri skupljanju urina u dobivene karnistere izuzeti prikupljanje prvog jutarnjeg urina, a volumenu cjelodnevnog urina pridodati i jutarnji urin idućeg dana). Dobiveni se urin analizirao na vrijednosti natrija, kalija, ureje, koeficijenta kreatinina, albumina i ukupne razine proteina. Rabio se instrument kemijske analize AU 680 (Olympus, Tokyo, Japan). Uređaj tekućinske kromatografije visoke učinkovitosti Nexera (engl. *high-performance liquid chromatography*, HPLC; Shimadzu, Kyoto, Japan) i njihovi reagensi (Recipe, München,

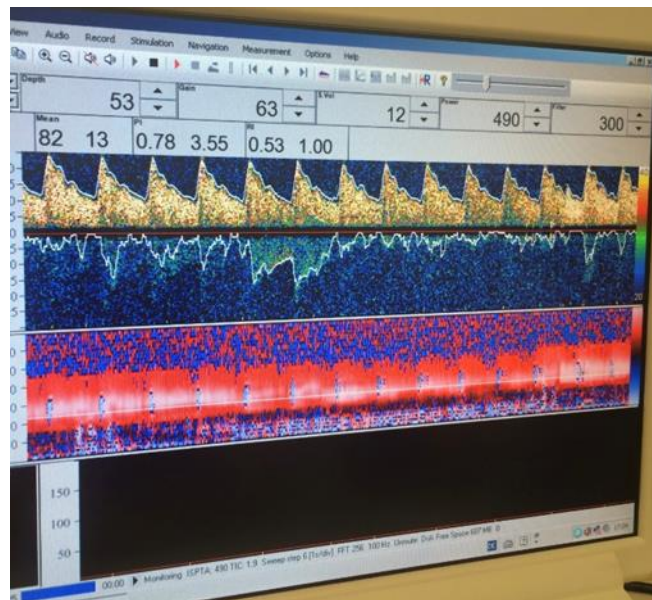
Njemačka) upotrijebljeni su za određivanje vrijednosti katekolamina i njihovih metabolita (metanefrina, normetanefrina, vanilmandelične kiseline, homovanilične kiseline, adrenalina, noradrenalina i dopamina) u navedenim uzorcima 24-satnog urina.

Računanje dnevnog unosa soli bazirano na ekskreciji soli u 24-satnom urinu učinjeno je prema formuli:

$$1\text{g soli [NaCl]} = 393,4\text{ mg Na}^+ = 17,1\text{ mmol Na}^+$$

### 4.3.5. Procjena funkcije moždane cirkulacije pomoću transkranijuskog dopplerskog ultrazvuka

Transkranijuski doppler (Multi-Dop® T digital, Compumedics Germany GmbH, Singen, Njemačka), neinvazivna je, neionizirajuća, jeftina, dostupna i sigurna metoda u čijoj se osnovi rabi pulsni izvor dopplerskih valova čiji je izvor ultrazvučna sonda, a rabi se za procjenu MPK (142). Sonda emitira mehaničke valove, a potom prima njihove refleksije s površine najbrojnijih, crvenih krvnih stanica (eritrocita) unutar intrakranijske vaskulature.



**Slika 4.1.** Zapis mjerenja pomoću transkranijuskog dopplerskog ultrazvuka (TCD). Zapis je prikazan na monitoru u stvarnome vremenu. U gornjem su dijelu prikazane vrijednosti koje se moraju podesiti prije snimanja, a unaprijed su određene uz mogućnost naknadne prilagodbe u svrhu traženja optimalnog signala srednje moždane arterije. Spektralne linije omogućuju lakšu vizualizaciju i praćenje parametara od interesa. (Izvor: izradila autorica rada)

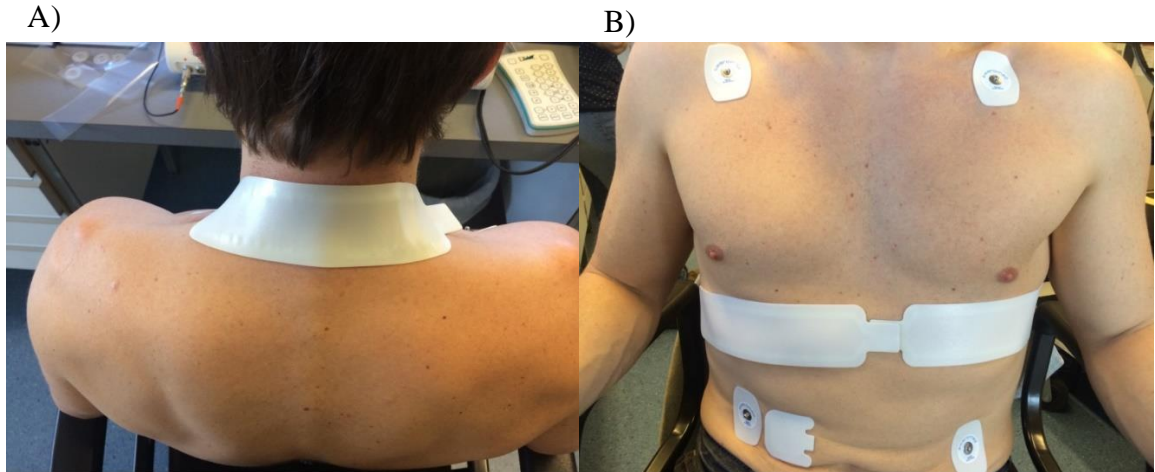
## 4. ISPITANICI I METODE

Podaci o protoku krvi u SMA dobiveni su traženjem signala kroz tzv. temporalni prozor (najjednostavniji pristup), postavljanjem dubine pretrage na 30-60 mm od površine glave. Nakon što je pronađen odgovarajući signal, pomoću posebnog obruča, sonda je čvrsto pričvršćena za glavu kako bi se izbjegle smetnje ili gubitak signala uslijed nužnih pokreta tijekom izvođenja mjerenja. Signal je analiziran pomoću originalnog softvera navedenog uređaja kako bi se dobio i numerički i vizualni rezultat, koji je potreban za karakterizaciju protoka unutar promatranog dijela vaskulature (*Slika 4.1.*).

Na taj način, TCD se može koristiti za procjenu moždanih vazodilatacijskih i vazokonstriksijskih odgovora na vanjski podražaj (143). Mjerenje daje podatke o moždanom tlaku perfuzije MTP (engl. *cerebral perfusion pressure*, CPP; mmHg), moždanom protoku krvi MPK (engl. *cerebral blood flow*, CBF; cm/s), vremenskom integralu brzine VTI (engl. *velocity time intergral*, VTI; cm), sistoličkom moždanom protoku krvi SMPK (engl. *sistolic cerebral blood flow*, SCBF; mmHg), dijastoličkom moždanom protoku krvi DMPK (engl. *diastolic cerebral blood flow*, DCBF; mmHg), otporu moždane cirkulacije OMC (engl. *cerebrovascular resistance*, CVR; mmHg\*s/cm) i indeksu moždane pulzatilnosti IMP (engl. *cerebral pulsatility indeks*, CPI).

### 4.3.6. Procjena sustavne hemodinamike

The Task Force Monitor (TFM, CNSystems, Graz, Austrija) je tzv. *all-in-one* uređaj za neinvazivno mjerenje i bilježenje hemodinamičkih i sistemskih parametara tijekom kontinuiranog bilježenja signala, uz potpunu sinkronizaciju sa svakim otkucajem srca. Glavna mu prednost je rano uočavanje brzih i kratkotrajnih promjena (144, 145). Pomoću jednokratnih elektroda dobivali su se podaci potrebni za računanje udarnog volumena (*Slika 4.2.*).



**Slika 4.2.** Mjerenje impedancijske kardiografije (pomoću jednokratnih samoljepljivih elektroda - prikupljanje podataka za izračunavanje udarnog volumena)

A) Dio elektrode (jedna od ukupno tri) koja se stavlja na vrat

B) Druge dvije elektrode (od ukupno tri) stavlja se s prednje strane oba donja rebrena luka Prikazane su i tipične elektrodne naljepnice EKG-a.

(Izvor: original autorice rada)

Tijekom protokola za mjerenje krvnog tlaka rabljeni su prstni pletizmograf i sfigmomanometar za nadlakticu (*Slika 4.3.*).



**Slika 4.3.** Pletizmografija (mjerena na prstu) - svrha joj je, zajedno s manžetom postavljenom u područje brahijalne arterije, odrediti vrijednosti krvnoga tlaka za svaki otkucaj srca.

(Izvor: original autorice rada)

Nakon što je sudionik sjeo, manšeta pletizmografa prsta stavljena je na srednji prst desne



ruke u razini srca. Sfigmomanometar za nadlakticu postavljen je na lijevu ruku, a upotrijebljen je i bipolarni 3-kanalni EKG dodatak.

Hemodinamski i autonomni parametri dobiveni s Task Force Monitora su: SF (engl. *heart rate*, HR; bpm), SKT (engl. *systolic blood pressure*, SBP; mmHg) i DKT (engl. *diastolic blood pressure*, DBP; mmHg). Podaci su dobiveni i za omjer niske frekvencije/visoke frekvencije NF/VF (engl. *low frequency/high frequency*, LF/HF; 1), koja predstavlja promjenjivost srčane frekvencije (PSF), a služi za procjenu autonomne živčane funkcije. Vrijednosti se NF/VF temelje na međudjelovanju simpatikusa i parasimpatikusa, a taj odnos je složen, nelinearan i često nrecipročan, a poznat je i pod nazivom „simpato-vagalni“ balans (146).

Prema zadanoj softverskoj formuli (CNSystems®, Graz, Austrija), vrijednosti se automatski ispisuju u tabličnom obliku, kao i vrijednosti BRS. BRS je intrinzična sposobnost srca da odgovori u skladu s promjenama krvnoga tlaka (promjena SF po mmHg promjene krvnoga tlaka) ili promjena u međuotkucajnom intervalu (engl. *interbeat interval*, IBI ili R-R interval) u milisekundama po jedinici promjene krvnoga tlaka (ms/mmHg) (147). Srednji arterijski krvni tlak SAKT (engl. *mean arterial blood pressure*, MABP; mmHg) i srčani udarni volumen UV (engl. *stroke volume*, SV; mL) izračunati su iz složenih algoritamskih formula.

$$SMV = UV \times SF \text{ (l/min)}$$

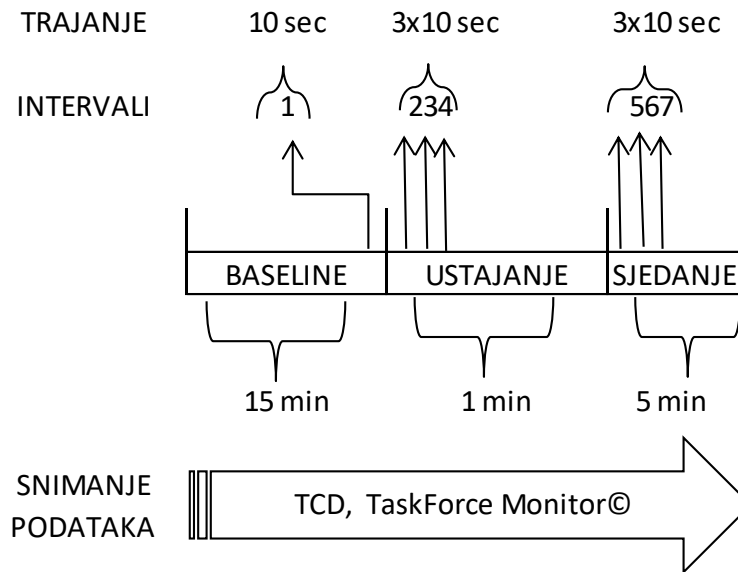
$$UPO = SAKT/SMV \text{ [dyne} \times \text{s/cm}^5\text{]}$$

Dijeleći udarni volumen, srčani minutni volumen i ukupni periferni otpor s površinom tijela (engl. *body surface area*, BSA), dobiveni omjeri predstavljaju njihove indekse – indeks udarnog volumena IUUV (engl. *stroke indeks*, SI; ml/m<sup>2</sup>), indeks srčanog minutnog volumena ISMV (engl. *stroke volume index*, SVI; L/(min × m<sup>2</sup>)) i indeks ukupnog perifernog otpora IUPO (engl. *total peripheral resistance indeks*, TRPI; din × s × m<sup>2</sup>/cm).

### 4.3.7. Protokol izvođenja ortostatskog opterećenja

Test ortostatskog opterećenja izvođen je iz sjedećeg položaja. Nakon odbrojavanja, uslijedio bi signal za, prethodno uvježbanim, naglim ustajanjem. U mirnom stojećem položaju ispitanik se zadržavao 1 minutu, nakon čega je uslijedio povratak u početni, sjedeći položaj. Tijekom izvođenja svih podražaja u oba dolaska, kod ispitanika nije došlo do subjektivnih i objektivnih poteškoća koje bi sugerirale isključivanje iz slijedećih dijelova protokola ispitivanja.

Shematski prikaz protokola izvođenja ortostatotskog opterećenja prikazan je pod *Slikom 4.4.*



**Slika 4.4.** Shematski prikaz protokola ortostatotske promjene (obzirom na vremenske intervale odabrane za analizu podataka pri podražaju ortostatotskog opterećenja tijekom snimanja transkranijalnim dopplerskim ultrazvukom (TCD) i The Task Force® Monitor uređajima). Brojevi od 1 do 7 označavaju vremenske intervale od 10 sekundi u kojima se uzimao prosjek vrijednosti izmjerenih parametara. Kao osnovna vrijednost (tzv. *baseline*), odredio se prvi interval (10 sekundi neposredno prije ustajanja), a za vrijednosti podražaja uzete su vrijednosti intervala 2 (prvih 10 sekundi nakon ustajanja).

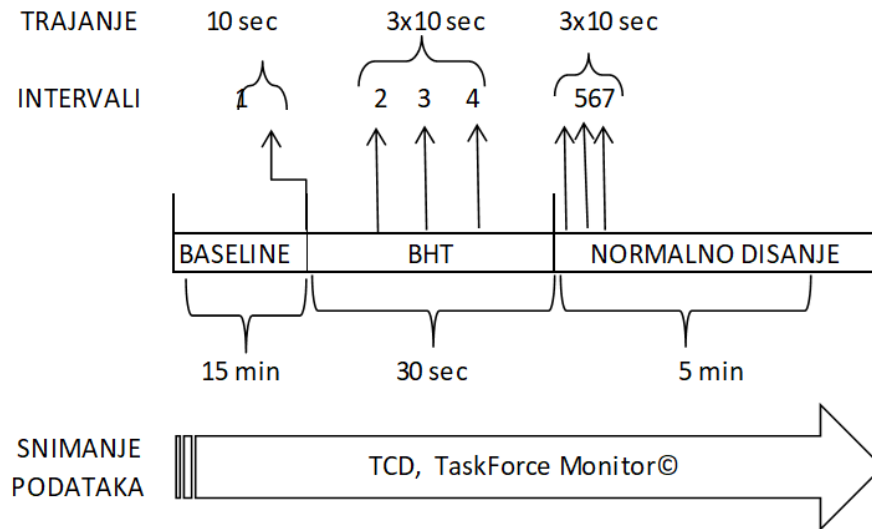
(Izvor: izradila autorica rada)

### 4.3.8. Protokol izvođenja testa zadržavanja daha

Test zadržavanja daha provodio se u mirnom sjedećem položaju u trajanju od 30 sekundi (117). S obzirom na to kako se uočilo da sposobnost zadržavanja daha varira u uspješnosti izvođenja, navedeni podražaj izvođeni su u uzastopnom slijedu od tri identična ponavljanja. Između svakog ponavljanja učinila se pauza od 5 minuta kao i između različitih podražaja. Vrijednosti koje su se analizirale uzete su kao srednja, aritmetička vrijednost svih triju pokušaja ukoliko su pokušaji izvedeni pravilno, a isključili su se podaci iz onog pokušaja zadržavanja daha koji se nije uspio izvesti u punom trajanju od 30 sekundi. Od velike je važnosti bilo unaprijed isprobati metodu kako bi testirali ispitanikovu sposobnost istoga, ali i zbog same tehnike izvođenja

koja je morala biti precizno izvođena (plitki udah) kako bi se izbjegao učinak Valsave te eventualno međudjelovao s mjerenim protocima.

Shematski prikaz protokola izvođanja testa zadržavanja daha prikazan je pod *Slikom 4.5*.



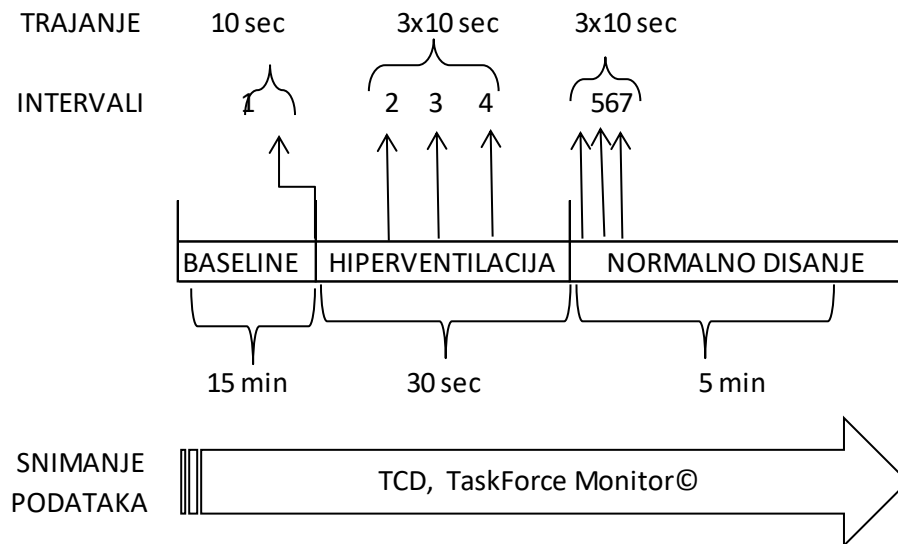
**Slika 4.5.** Shematski prikaz protokola testa zadržavanja daha (obzirom na vremenske intervale odabrane za analizu podataka pri podražaju zadržavanja daha (BHT) tijekom snimanja transkranijalnim dopplerskim ultrazvukom (TCD) i The Task Force® Monitor uređajima). Brojevi od 1 do 7 označavaju vremenske intervale od 10 sekundi u kojima se uzimao prosjek vrijednosti izmjerenih parametara. Kao osnovna vrijednost (tzv. *baseline*), odredio se prvi interval (10 sekundi prije početka zadržavanja daha), a za vrijednosti podražaja uzete su vrijednosti intervala 4 (zadnjih 10 sekundi zadržavanja daha).

(Izvor: izradila autorica rada)

### 4.3.9. Protokol izvođanja hiperventilacije

Na početku svakog protokola, ispitaniku se objasnio postupak hiperventilacije i što se tim postupkom željelo postići, kako bi se bolje razumio i izvodio sam test. Uvažavajući razlike u toleranciji metode od ispitanika do ispitanika, nastojalo se postići da ispitanik ujednačenim ritmom, u mirnom sjedećem položaju, uspije izvesti postupak u trajanju od 30 sekundi. Kod pojedinih ispitanika se javila blaža omaglica nakon provedene hiperventilacije, no nije zabilježena niti jedna ozbiljnija neželjena reakcija. Nakon toga bi uslijedila 5-minutna pauza što je bilo dostatno da se frekvencija disanja, ali i srčani puls, vrate na vrijednosti prije izvođanja podražaja.

Shematski prikaz protokola hiperventilacije prikazan je *Slikom 4.6*.

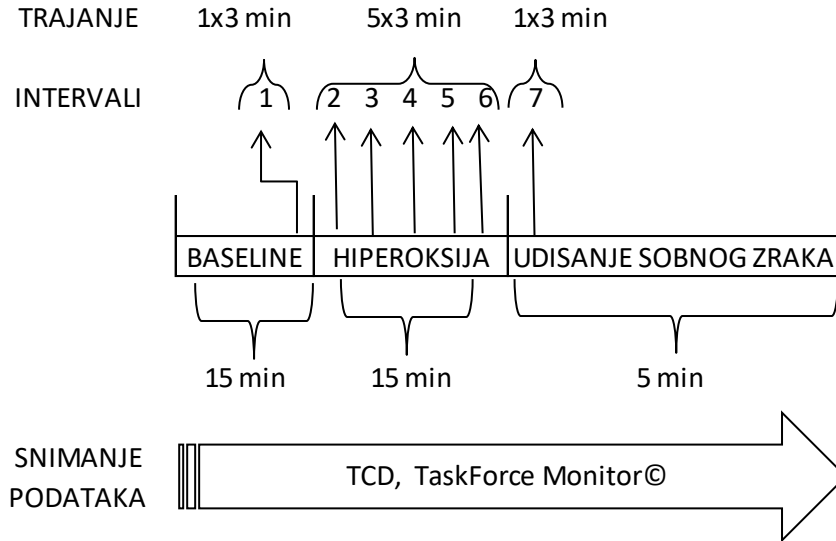


**Slika 4.6.** Shematski prikaz protokola hiperventilacije (obzirom na vremenske intervale odabrane za analizu podataka pri podražaju hiperventilacije tijekom snimanja transkranijalnim dopplerskim ultrazvukom (TCD) i The Task Force® Monitor uređajima). Brojevi od 1 do 7 označavaju vremenske intervale od 10 sekundi u kojima se uzimao prosjek vrijednosti izmjerenih parametara. Kao osnovna vrijednost (tzv. *baseline*) odredio se prvi interval (zadnjih 10 sekundi prije početka hiperventilacije), a za vrijednosti podražaja uzete su vrijednosti intervala 4 (zadnjih 10 sekundi hiperventilacije).

(Izvor: izradila autorica rada)

#### 4.3.10. Protokol izvođenja hiperoksije

Postupak hiperoksije izvodio se u trajanju od 15 minuta, a uključivao je boravak u opuštenom, sjedećem položaju uz kontinuirano udisanje 100%-tnog kisika preko pričvršćene maske, protokom od 10-15 L/min (148, 149). Tijekom izvođenja nije došlo do negativnih popratnih pojava. Shematski prikaz protokola hiperoksije prikazan je *Slikom 4.7.*



**Slika 4.7.** Shematski prikaz protokola hiperoksije (obzirom na vremenske intervale odabrane za analizu podataka pri podražaju hiperoksije tijekom snimanja transkranijalnim doplerskim ultrazvukom (TCD) i The Task Force® Monitor uređajima). Brojevi od 1 do 7 označavaju vremenske intervale od 3 minute u kojima se uzimao prosjek vrijednosti izmjerenih parametara. Kao osnovna vrijednost (tzv. *baseline*), odredio se prvi interval (3 minute prije početka udisanja kisika na masku), a za vrijednosti podražaja uzete su vrijednosti intervala 6 (zadnje 3 minute udisanja kisika na masku).

(Izvor: izradila autorica rada)

#### 4.3.11. Statistička analiza

Za procjenu normalnosti distribucije podataka upotrijebljen je Shapiro–Wilkov test normalnosti. Kada su varijable bile normalno raspoređene, razlike između bazalnog mjerenja i odgovora na podražaj, kao i razlike između vrijednosti izmjerenih prije i nakon VS dijete, testirane su studentovim t-testom za zavisne uzorke (dva ponavljanja mjerenja) u slučaju normalne distribucije podataka, dok je za varijable koje nisu normalno raspodijeljenih upotrijebljen Wilcoxonov test sume ranga. U slučaju više ponavljanih mjerenja (bazalno mjerenje i intervali nakon podražaja) prije i poslije VS dijete upotrijebljen je One Way ANOVA test zaponovljena mjerenja (engl. *One Way ANOVA Repeated Measures*) te odgovarajući post-hoc test ovisno o normalnosti distribucije podataka.

$P < 0,05$  smatra se statistički značajnim. Statistička analiza provedena je uporabom SigmaPlot, inačica 11.2 (Systat Software, Inc., Chicago, IL, SAD).

## 5. REZULTATI

Tijekom razdoblja 2016. - 2018. g. od ukupnog broja ispitanika (ukupan broj ispitanika na početku mjerenja bio je 51), 27 mladih, zdravih ispitanika oba spola u potpunosti je završilo i zadovoljilo kriterije istraživanja.

## 5.1. Antropometrijska i laboratorijska mjerenja u uzorcima urina i seruma

U Tablici 1. prikazane su vrijednosti antropometrijskih mjerenja i arterijskog krvnog tlaka. Iz prikazanih se podataka vidi kako prilikom oba dolaska nije došlo do kolebanja u vrijednostima izmjerenih antropometrijskih parametara, a isto tako, vrijednosti su krvnoga tlaka (sistoličkog, dijastoličkog i srednjeg arterijskog) bez odstupanja iz čega se može zaključiti kako nisu bile pod utjecajem NS i VS dijete, odnosno da su ispitanici ostali normotenzivni. Srčana frekvencija mjerena pri dolasku nije pokazala značajno odstupanje.

**Tablica 1.** Vrijednosti antropometrijskog mjerenja i krvnoga tlaka nakon niskoslane i visokoslane dijete

|   | NS         | VS         | p - vrijednost |
|---|------------|------------|----------------|
| <b>Antropometrijska mjerenja</b>                |            |            |                |
| Indeks tjelesne mase (ITM) [kg/m <sup>2</sup> ] | 22 ± 3     | 22 ± 3     | p = 0,32       |
| Omjer struka i bokova                           | 0,73 ± 0,4 | 0,74 ± 0,4 | p = 0,6        |
| <b>Mjerenje krvnoga tlaka</b>                   |            |            |                |
| SKT [mmHg]                                      | 116 ± 11   | 117 ± 15   | p = 0,38       |
| DKT [mmHg]                                      | 71 ± 8     | 73 ± 12    | p = 0,39       |
| SAKT [mmHg]                                     | 87 ± 7     | 90 ± 12    | p = 0,3        |
| SF [otkucaja/min]                               | 72 ± 10    | 74 ± 12    | p = 0,64       |

Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost ± standardna devijacija

DKT – dijastolički krvni tlak, NS – niskoslana dijeta, SAKT – srednji arterijski krvni tlak

SKT – sistolički krvni tlak, SF – srčana frekvencija, VS – visokoslana dijeta

upareni studentov t-test

## 5. REZULTATI

U Tablici 2. prikazane su vrijednosti biokemijske analize 24-satnog urina i seruma te aktivnost RAS-a nakon sedmodnevne prehrane s niskim unosom soli (NS) i visokim unosom soli (VS).

Izračunat je i dnevni unos soli koji je pokazao pridržavanje uputa o unosu soli tijekom dva tjedna protokola prema formuli [1g soli (NaCl) = 393,4 mg Na = 17,1 mmol Na]. Izračunate su vrijednosti nakon NS tjedna bile  $4 \pm 2$  [g/dan], a nakon VS tjedna  $11 \pm 6$  [g/dan].

**Tablica 2.** Analiza 24-satnog urina nakon niskoslane i visokoslane dijeta

|   | NS             | VS             | p - vrijednost |
|---|----------------|----------------|----------------|
| Volumen [mL]  | $1248 \pm 548$ | $1290 \pm 429$ | $p = 0,461$    |
| Koeficijent kreatinina [ $\mu\text{mol}/24\text{h}/\text{kg}$ ] | $178 \pm 38$   | $164 \pm 45$   | $p = 0,242$    |
| Ukupni proteini [mg/dU]   | $77 \pm 3$     | $78 \pm 23$    | $p = 0,871$    |
| Albumini [mg/dU]  | $11 \pm 15$    | $6 \pm 4$      | $p = 0,14$     |
| Ureja [mmol/dU]   | $259 \pm 99$   | $283 \pm 90$   | $p = 0,175$    |
| Natrij [mmol/dU]  | $70 \pm 37$    | $180 \pm 82^*$ | $p < 0,001$    |
| Kalij [mmol/dU]   | $43 \pm 17$    | $47 \pm 16$    | $p = 0,206$    |
| Izračunat dnevni unos soli [g/dan]                              | $4 \pm 2$      | $11 \pm 6^*$   | $p < 0,001$    |

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

NS – niskoslani protokol, VS – visokoslani protokol; upareni studentov t-test

Nakon VS dijeta, razine natrija u 24-satnom urinu (Tablica 2.) bile su značajno povećane, a koncentracija plazma reninske aktivnosti (PRA) i aldosterona u serumu (Tablica 3.) smanjene, potvrđujući pridržavanje sudionika VS dijetetskog protokola. Koncentracija natrija u serumu bila je značajno povećana (ali unutar normalnog raspona) nakon konzumacije VS dijeta, dok se izračunata osmolalnost seruma nije promijenila nakon VS dijeta. Pokazatelji bubrežne funkcije – koeficijent kreatinina, ukupni proteini, albumini, ureja iz urina i seruma (Tablica 2. i 3.), ostali su u okviru početnih vrijednosti.

**Tablica 3.** Biokemijska analiza seruma nakon niskoslane i visokoslane dijete

|  | NS         | VS           | p - vrijednost |
|--|------------|--------------|----------------|
| Ureja [mmol/L]                         | 4 ± 1      | 4,7 ± 1,2    | p = 0,104      |
| Kreatinin [μmol/L]                     | 74 ± 15    | 68 ± 15      | p = 0,09       |
| Natrij [mmol/L]                        | 134 ± 3    | 137 ± 1*     | p < 0,001      |
| Kalij [mmol/L]                         | 4 ± 0,2    | 4 ± 0,3      | p = 0,88       |
| Izračunata serumska osmolalnost        | 276 ± 3    | 282 ± 2      | p = 0,75       |
| Aktivnost plazmatskog renina [ng/mL/h] | 0,91 ± 0,9 | 0,52 ± 0,41* | p = 0,018      |
| Aldosteron [pmol/L]                    | 380 ± 172  | 254 ± 147*   | p < 0,001      |

Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost ± standardna devijacija

NS – niskoslani protokol, VS – visokoslani protokol; upareni studentov t-test

## 5.2. Metaboliti katekolamina

Što se tiče vrijednosti katekolamina, nakon VS dijete se značajno snizila vrijednost noradrenalina i vanilmandelične kiseline, dok su dopamin, noradrenalin, homovanilinska kiselina, normetanefrin i metanefrin ostali nepromijenjeni u odnosu na početne vrijednosti prije konzumacije soli (Tablica 4.).

**Tablica 4.** Metaboliti katekolamina u uzorcima 24-satnog urina nakon niskoslane i visokoslane dijete

|                                    | NS            | VS            | p - vrijednost |
|------------------------------------|---------------|---------------|----------------|
| Dopamin [μmol/dU]                  | 1,42 ± 0,50   | 1,30 ± 0,49   | p = 0,42       |
| Noradrenalin [μmol/dU]             | 0,18 ± 0,07   | 0,15 ± 0,06*  | p = 0,027      |
| Adrenalin [μmol/dU]                | 0,024 ± 0,017 | 0,025 ± 0,015 | p = 0,71       |
| Homovanilinska kiselina [μmol/dU]  | 22,7 ± 9,3    | 23,4 ± 8,7    | p = 0,12       |
| Normetanefrin [μmol/dU]            | 1,12 ± 0,46   | 1,03 ± 0,29   | p = 0,85       |
| Metanefrin [μmol/dU]               | 0,50 ± 0,18   | 0,47 ± 0,17   | p = 0,49       |
| Vanilmandelična kiselina [μmol/dU] | 19,2 ± 6,7    | 14,9 ± 4,3*   | p = 0,041      |

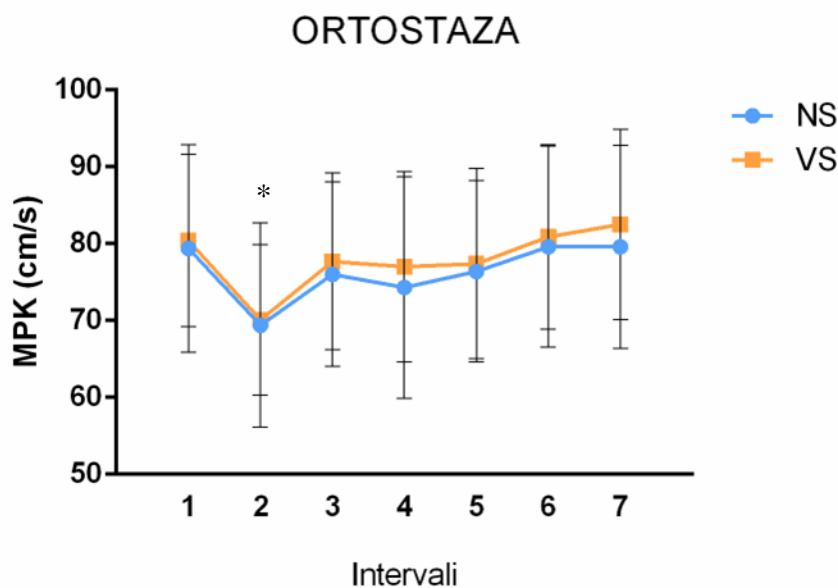
Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost ± standardna devijacija

NS – niskoslani protokol, VS – visokoslani protokol; upareni studentov t-test



### 5.3. Odgovor moždane i sistemske hemodinamike u uvjetima niskoslane i visokoslane dijete na ortostatsko opterećenje

Cjelokupni podaci iz skupine moždane i sistemske hemodinamike kao odgovor na ortostatsko opterećenje prikazani su u Tablici 5. Srednja vrijednost moždanog protoka krvi (MPK) značajno se i u podjednakoj mjeri smanjila nakon ustajanja i u protokolu NS i VS dijete. *Slika 5.1.* predočuje kako izgleda linija promjena vrijednosti MPK u zadanim intervalima od 10 sekundi (prva vrijednost, odnosno interval 1 označava mirovanje, a svaki idući interval označava period od 10 sekundi s tim da drugi interval predstavlja vrijednost nakon ustajanja). Prilikom ustajanja, vrijednost MPK podjednako opada, uz bolji oporavak i manje kolebanje vrijednosti neposredno nakon sjedanja.



*Slika 5.1. Promjene moždanog protoka krvi pri ortostatskom testu (tijekom odabranih intervala od 10 sekundi (interval 1 - mirovanje, interval 2 - prvih 10 sekundi nakon ustajanja, interval 3 - drugih 10 sekundi nakon ustajanja, interval 4 - trećih 10 sekundi nakon ustajanja, interval 5 - prvih 10 sekundi nakon sjedanja, interval 6 - drugih 10 sekundi nakon sjedanja, interval 7 - trećih 10 sekundi nakon sjedanja))*

MPK – moždani protok krvi, NS – niskoslana dijete, VS – visokoslana dijete

Točke predstavljaju srednje vrijednosti  $\pm$  standardnu devijaciju

\* predstavlja značajno smanjenje vrijednosti MPK nakon ustajanja tijekom oba dijetetska protokola (\* $p < 0,0001$ , interval 1 u odnosu na interval 2 u NS i u VS)

Tablica 5. prikazuje brojčane vrijednosti parametara moždane i sistemske hemodinamike prilikom izvođenja ortostatskog testa. Prehrana ili promjena položaja nisu utjecali na moždani tlak

perfuzije (MTP). Integral brzine u vremenu (engl. *velocity time integral*, VTI), koji je ekvivalentan površini ispod krivulje brzine i vremena (što je alternativna mjera protoka krvi), značajno je smanjen nakon ustajanja u NS skupini i u VS skupini u usporedbi s odgovarajućim vrijednostima u sjedećem položaju. Značajno smanjenje dijastoličkog moždanog protoka krvi (DMPK) nakon ustajanja primijećeno je i u uvjetima NS i VS djetete, dok promjena u položaju ili prehrani nije utjecala na sistolički moždani protok krvi (SMPK). Otpor moždane cirkulacije OMC (engl. *cerebrovascular resistance*, CVR), automatski izračunat iz omjera moždanog protoka krvi MPK (engl. *cerebral blood flow*, CBF) i moždanog tlaka perfuzije, MTP-a (engl. *cerebral perfusion pressure*, CPP; razlika srednjeg arterijskog tlaka i intrakranijskog tlaka), bio je značajno povećan nakon ustajanja u VS dijete u usporedbi sa sjedećim položajem, a nije bilo promjena otpora moždane cirkulacije u protokolu NS dijete. Indeks moždane pulzabilnosti (engl. *cerebral pulsatility index*, CPI) značajno je povećan nakon promjene položaja iz sjedećeg u stojeći i u NS i VS dijete.

Što se tiče mjerenih vrijednosti sistemske cirkulacije, značajna je razlika zabilježena kod srčane frekvencije (SF) koja se manifestirala povišenim vrijednostima poslije podražaja i nakon NS i nakon VS dijete. Sistemski arterijski tlakovi (sistolički SKT, dijastolički DKT i srednji arterijski SAKT) ostali su nepromijenjeni prilikom testa ortostatskog opterećenja.

Nadalje, podaci iz Tablice 5. (Tablica 5a) pokazuju da su u okviru nepromijenjenih vrijednosti i vrijednosti udarnog volumena (UV) i indeksa udarnog volumena (IUV). Apsolutne vrijednosti srčanog minutnog volumena (SMV) značajno su porasle nakon provocirajućeg ustajanja pri oba dijetna protokola, a promjena njihovog indeksa (ISMV) samo kod VS dijete. Promjena apsolutnih vrijednosti u smislu tendencije smanjenja zabilježena je i kod parametra ukupnog perifernog otpora UPO. Indeks potonjeg parametra IUPO ostao je nepromijenjen.

Analizirajući razliku vrijednosti nakon podražaja ustajanja, odnosno podražaja ortostaze i početne faze mirovanja između dviju dijete, nije bilo statistički značajnih vrijednosti kod analiziranih parametara, uz iznimku VTI-ja gdje se u VS dijete zabilježi veća razlika u smislu pada vrijednosti (Tablica 5b).

Tablica 5. Moždana i sistemska hemodinamika pri izvođenju ortostatskog testa

## 5a Vrijednosti moždane i sistemske hemodinamike pri izvođenju ortostatskog testa pri niskoslanjoj i visokoslanjoj dijete

|  | NS               |                  |              | VS               |                  |              |
|--|------------------|------------------|--------------|------------------|------------------|--------------|
|  | mirovanje        | ustajanje        | p vrijednost | mirovanje        | ustajanje        | p vrijednost |
| <i>Vrijednosti moždane hemodinamike</i>            |                  |                  |              |                  |                  |              |
| MTP [mmHg]   | 88,02 ± 4,32     | 91,25 ± 2,71     | p = 0,168    | 88 ± 3,8         | 84,77 ± 4,99     | p = 0,406    |
| MPK [cm/s]   | 80,42 ± 2,7      | 70,43 ± 2,73*    | p < 0,001    | 80,5 ± 2,38      | 70,04 ± 2,09*    | p < 0,001    |
| VTI [cm]   | 51,23 ± 2,57     | 40,72 ± 2,14*    | p < 0,001    | 54,49 ± 2,64     | 41,66 ± 1,85*    | p < 0,001    |
| SMPK [cm/s]  | 111,93 ± 3,52    | 112,36 ± 4,21    | p = 0,076    | 113,41 ± 3,9     | 112,41 ± 4,59    | p = 0,492    |
| DMPK [cm/s]  | 59,27 ± 2,23     | 47,97 ± 2,31*    | p < 0,001    | 59,52 ± 1,93     | 47,71 ± 1,78*    | p < 0,001    |
| OMC [mmHg/cm]                                      | 1,21 ± 0,11      | 1,26 ± 0,08      | p = 0,104    | 1,13 ± 0,06      | 1,29 ± 0,07*     | p = 0,003    |
| IMP [1]  | 0,69 ± 0,03      | 0,96 ± 0,05*     | p < 0,001    | 0,68 ± 0,02      | 0,95 ± 0,03*     | p < 0,001    |
| <i>Vrijednosti sistemske hemodinamike</i>          |                  |                  |              |                  |                  |              |
| SF [otkucaj/min]                                   | 93 ± 2,62        | 102 ± 2,15*      | p < 0,001    | 89 ± 2,03        | 100 ± 1,84*      | p < 0,001    |
| SKT [mmHg]   | 114,83 ± 6,45    | 114,36 ± 5,84    | p = 0,944    | 117,56 ± 3,17    | 116,69 ± 5,22    | p = 0,849    |
| DKT [mmHg]   | 82,72 ± 7,4      | 72,49 ± 3,2      | p = 0,203    | 70,52 ± 3,99     | 69,75 ± 4,47     | p = 0,451    |
| SAKT [mmHg]  | 90,9 ± 3,68      | 86,7 ± 8,89      | p = 0,575    | 86,9 ± 3,52      | 86,13 ± 4,54     | p = 0,921    |
| UV [mL]  | 74,06 ± 2,97     | 74,39 ± 1,64     | p = 0,85     | 77,11 ± 2,68     | 78,42 ± 2,96     | p = 0,096    |
| IUV [mL/m <sup>2</sup> ]                           | 41,24 ± 1,92     | 41,36 ± 1,13     | p = 0,848    | 41,98 ± 1,08     | 42,6 ± 1,26      | p = 0,128    |
| SMV [l/min]  | 6,89 ± 0,34      | 7,68 ± 0,23*     | p = 0,002    | 6,83 ± 0,22      | 7,92 ± 0,31*     | p < 0,001    |
| ISMV [l/min x m <sup>2</sup> ]                     | 4,07 ± 0,37      | 4,44 ± 0,24      | p = 0,093    | 3,8 ± 0,12       | 4,39 ± 0,14*     | p < 0,001    |
| UPO [dyne x s/cm <sup>5</sup> ]                    | 1119,17 ± 77,39  | 901,21 ± 61,62*  | p = 0,024    | 1028,26 ± 66,13  | 869,19 ± 74,76*  | p = 0,018    |
| IUPO [dyne x s x m <sup>2</sup> /cm <sup>5</sup> ] | 1996,82 ± 181,45 | 1648,82 ± 116,85 | p = 0,054    | 1811,38 ± 119,74 | 1564,22 ± 148,56 | p = 0,063    |

NS - niskoslanjo; VS - visokoslanjo; MTP - moždani tlak perfuzije; MPK - moždani protok krvi; VTI - integral brzine u vremenu; SMPK - sistolički moždani protok krvi; DMPK - dijastolički moždani protok krvi; OMC - otpor moždane cirkulacije; IMP - indeks moždane pulzabilnosti; SF - srčana frekvencija; SKT - sistolički krvni tlak; DKT - dijastolički krvni tlak; SAKT - srednji arterijski krvni tlak; UV - udarni volumen; IUV - indeks udarnog volumena; SMV - srčani minutni volumen; ISMV - indeks srčanog minutnog volumena; UPO - ukupni periferni otpor; IUPO - indeks ukupnog perifernog otpora.

Rezultati su prikazani kao aritmetička sredina ± standardna devijacija.

5a \*p < 0,05 upareni studentov t-test (mirovanje u usporedbi s ustajanjem),

**5b Promjene vrijednosti moždane i sistemske hemodinamike pri izvođenju ortostatskog testa**

|  | NS                               | VS                               |              |
|--|----------------------------------|----------------------------------|--------------|
|  | razlika ortostaza<br>- mirovanje | razlika ortostaza -<br>mirovanje | p vrijednost |
| <b><i>Vrijednosti moždane hemodinamike</i></b>     |                                  |                                  |              |
| MTP [mmHg]   | 4,33 ± 0,29                      | -3,42 ± 0,25                     | p = 0,196    |
| MPK [cm/s]   | -10,0 ± 0,13                     | -10,5 ± 0,11                     | p = 0,323    |
| VTI [cm]   | -10,51 ± 0,14                    | -12,82 ± 0,12†                   | p = 0,048    |
| SMPK [cm/s]  | 0,41 ± 0,18                      | -1,00 ± 0,12                     | p = 0,721    |
| DMPK [cm/s]  | -11,3 ± 0,13                     | -11,8 ± 0,12                     | p = 0,776    |
| OMC [mmHg/cm]                                      | 0,05 ± 0,04                      | 0,15 ± 0,03                      | p = 0,108    |
| IMP [1]  | 0,27 ± 0,02                      | 0,27 ± 0,02                      | p = 0,967    |
| <b><i>Vrijednosti sistemske hemodinamike</i></b>   |                                  |                                  |              |
| SF [otkucaj/min]                                   | 9,43 ± 0,12                      | 11,5 ± 0,1                       | p = 0,2      |
| SKT [mmHg]   | -0,26 ± 0,34                     | -0,64 ± 0,32                     | p = 0,89     |
| DKT [mmHg]   | -9,02 ± 0,48                     | -0,78 ± 0,21                     | p = 0,156    |
| SAKT [mmHg]  | -3,63 ± 0,23                     | -0,27 ± 0,24                     | p = 0,925    |
| UV [mL]  | 0,43 ± 0,14                      | 1,51 ± 0,09                      | p = 0,632    |
| IUV [mL/m <sup>2</sup> ]                           | 0,15 ± 0,10                      | 0,72 ± 0,06                      | p = 0,645    |
| SMV [l/min]  | 0,79 ± 0,04                      | 1,09 ± 0,04                      | p = 0,681    |
| ISMV [l/min x m <sup>2</sup> ]                     | 0,37 ± 0,04                      | 0,59 ± 0,03                      | p = 0,637    |
| UPO [dyne x s/cm <sup>5</sup> ]                    | -195 ± 1,18                      | -180 ± 1,1                       | p = 0,898    |
| IUPO [dyne x s x m <sup>2</sup> /cm <sup>5</sup> ] | -319,6 ± 1,78                    | -221 ± 1,57                      | p = 0,471    |

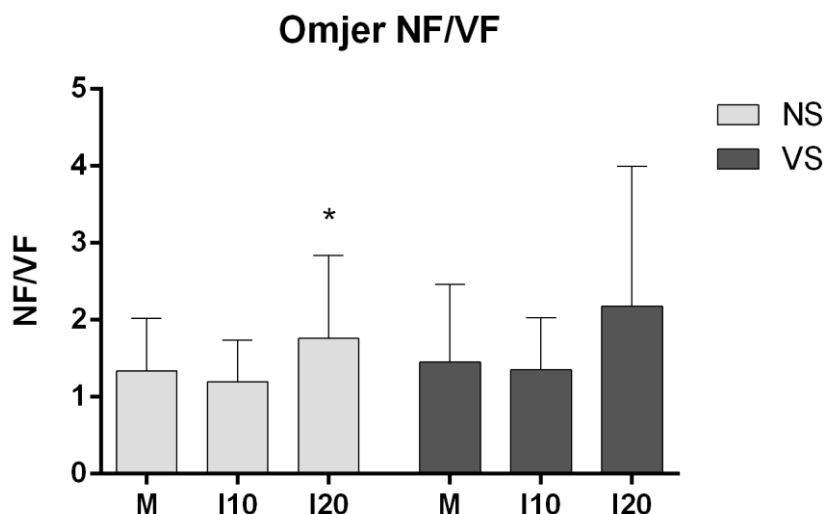
NS - niskoslano; VS - visokoslano; MTP - moždani tlak perfuzije; MPK - moždani protok krvi; VTI - integral brzine u vremenu; SMPK - sistolički moždani protok krvi; DMPK - dijastolički moždani protok krvi; OMC - otpor moždane cirkulacije; IMP - indeks moždane pulzabilnosti; SF - srčana frekvencija; SKT - sistolički krvni tlak; DKT - dijastolički krvni tlak; SAKT - srednji arterijski krvni tlak; UV - udarni volumen; IUV - indeks udarnog volumena; SMV - srčani minutni volumen; ISMV - indeks srčanog minutnog volumena; UPO - ukupni periferni otpor; IUPO - indeks ukupnog perifernog otpora.

Rezultati su prikazani kao aritmetička sredina ± standardna devijacija.

5b †p < 0,05 upareni studentov t - test (NS u usporedbi s VS)

Dodatne analize su se učinile pri ortostatskom opterećenju kako bi se pokušala još bolje predočiti interakcija utjecaja simpatikusa i baroreceptorske kontrole. Promjenjivost srčane frekvencije (PSF) prikazana je na *Slici 5.2*. Dinamika omjera niske frekvencije i visoke frekvencije NF/VF analizirana je tijekom mirovanja, nakon prvih 10 sekundi ustajanja, u prvom intervalu (I10) te u drugih 10 sekundi nakon ustajanja, odnosno u drugom intervalu (I20). Vrijednosti omjera

NF/VF u I20 bile su značajno povećane u usporedbi s vrijednostima I10 u uvjetima NS dijete, dok promjene u VS dijete nisu bile značajne, što sugerira da je VS dijeta oslabila simpatički odgovor na ortostazu u usporedbi s NS dijedom.



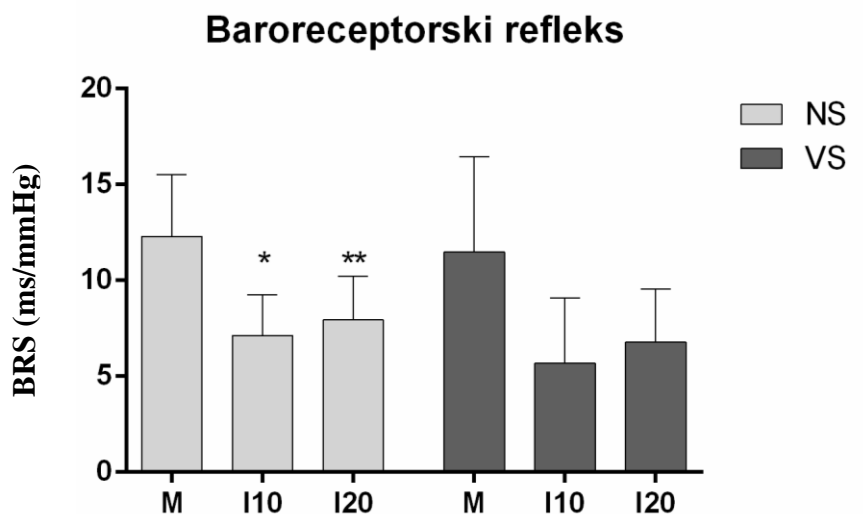
**Slika 5.2.** Promjenjivost srčane frekvencije pri ortostatskom testu (izražena NF/VF pri NS i VS dijete). VS dijete slabi odgovor simpatikusa na ortostazu. Dinamika NF/VF analizira se tijekom osnovne vrijednosti, nakon prvih 10 sekundi ustajanja (I10) i drugih 10 sekundi nakon ustajanja (I20).

Podaci su prikazani kao srednja vrijednosti + SD.

M – mirovanje; NF/VF – omjer niske frekvencije/visoke frekvencije, NS – niskoslana dijete, VS – visokoslana dijete

One Way ANOVA ponovljena mjerenja, \* $p < 0,05$  I20 u usporedbi s M, I10 (NS)

*Slika 5.3.* prikazuje promjene baroreceptorske osjetljivosti, odnosno baroreceptorskog refleksa (BRS) u odnosu na protokol unosa soli. BRS se značajno smanjio tijekom prvih 10 sekundi nakon ustajanja (I10) te tijekom drugih 10 sekundi (I20) u odnosu na M (mirovanje). Međutim, iako su promjene u BRS-u u uvjetima VS slijedile isti obrazac, promjene BRS-a nisu se značajno razlikovale tijekom I10 i I20 u usporedbi s osnovnom vrijednošću u VS dijete, što sugerira da je BRS također prigušen VS dijedom.



**Slika 5.3.** Osjetljivost baroreceptorskog refleksa pri ortostatskom testu

Automatski su izračunate vrijednosti kao promjena međuotkucajnog intervala (engl. *interbeat interval*, IBI) u milisekundama po jedinici promjene krvnog tlaka. Dinamika BRS-a analizirana je tijekom mirovanja (M), nakon prvih 10 sekundi (I10) i nakon 20 sekundi (I20) od ustajanja.

M - mirovanje, NS - niskoslane dijete, VS - visokoslane dijete

One Way ANOVA ponovljena mjerenja;  $p < 0,05$  (\*NS I10 u odnosu na M, a \*\* NS I20 u odnosu na M)

#### 5.4. Odgovor moždane i sistemske hemodinamike u uvjetima niskoslane i visokoslane dijete na hiperkapniju

Cjelokupni podaci iz skupine moždane i sistemske hemodinamike kao odgovor na hiperkapniju izazvanu testom zadržavanja daha (engl. *breath hold test*, BHT) prikazani su u Tablici 6. Apsolutne su vrijednosti analizirane u Tablici 6a, a usporedba razlika vrijednosti podražaja hiperkapnije uslijed testa zadržavanja daha i početne vrijednosti tijekom mirovanja predočena je u dijelu Tablice 6b.

Zadržavanje daha dovelo je do očekivano značajno povišenih vrijednosti MPK-a, VTI-ja kao i SMPK-a i DMPK-a, dok se OMC značajno smanjio nakon oba dijetna režima. Nepromijenjene su MTP i IMP pri NS i VS uvjetima prehrane.

U sustavnoj hemodinamici, hiperkapnija, odnosno zadržavanje daha na 30 sekundi, rezultirala je značajno smanjenom SF izmjereno nakon NS i VS dijete. Kao i SF, u uvjetima NS i

VS dijete zabilježene su i niže vrijednosti SMV-a, odnosno ISMV-a. UV je porastao samo uslijed NS dijete, a njegov indeks IUV uslijed obiju dijeta. Hiperkapnija izazvana BHT-om nije značajno promijenila vrijednosti SKT-a, DKT-a niti SAKT-a. Bez značajne razlike u oba protokola su i vrijednosti UPO-a i IUPO-a.

VS dijeta nije značajno utjecala na moždanu hemodinamiku u odgovoru na hiperkapniju izazvanu BHT-om u usporedbi s početnom vrijednošću (razlika između BHT-a i početne vrijednosti) što se vidi u dijelu Tablice 6b. Dodatna analiza odgovora sistemske hemodinamike na hiperkapniju u usporedbi s osnovnim vrijednostima (promjena između BHT-a i početne vrijednosti u uvjetima NS i VS dijete) pokazala je da se tijekom BHT-a SF, UV i IUV ta razlika smanjila.

**Tablica 6.** Moždana i sistemska hemodinamika pri izvođenju testa zadržavanja daha

### 6a Vrijednosti moždane i sistemske hemodinamike pri izvođenju testa zadržavanja daha

|  | NS           |               |              | VS           |              |              |
|--|--------------|---------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
|  | mirovanje    | BHT           | p vrijednost | mirovanje    | BHT          | p vrijednost |
| <i>Vrijednosti moždane hemodinamike</i>            |              |               |              |              |              |              |
| MTP [mmHg]   | 90,4 ± 12,0  | 89,5 ± 12,8   | p = 0,899    | 90,2 ± 19,0  | 90 ± 16,6    | p = 0,925    |
| MPK [cm/s]   | 79,2 ± 12,4  | 85,7 ± 17,5*  | p = 0,002    | 82,6 ± 12,3  | 88,9 ± 16,4* | p = 0,007    |
| VTI [cm]   | 52,6 ± 12,4  | 66,2 ± 16,3*  | p < 0,001    | 57,2 ± 9,6   | 69,6 ± 15,8* | p < 0,001    |
| SMPK [cm/s]  | 108,2 ± 18,2 | 113,4 ± 18,5* | p = 0,019    | 115,1 ± 14,9 | 118,8 ± 17,* | p = 0,008    |
| DMPK [cm/s]  | 59,9 ± 10,4  | 65,8 ± 16,6*  | p = 0,006    | 62,3 ± 10,7  | 68,9 ± 15,2* | p = 0,005    |
| OMC [mmHg/cm]                                      | 1,16 ± 0,27  | 1,07 ± 0,28*  | p = 0,037    | 1,10 ± 0,15  | 1,05 ± 0,17* | p = 0,04     |
| IMP [l]  | 90,4 ± 12,0  | 89,5 ± 12,8   | p = 0,899    | 90,2 ± 19,0  | 90 ± 16,6    | p = 0,8      |
| <i>Vrijednosti sistemske hemodinamike</i>          |              |               |              |              |              |              |
| SF [otkucaj/min]                                   | 92,5 ± 17,1  | 79,1 ± 14,7*  | p < 0,001    | 89,9 ± 10,0  | 80 ± 12,3*   | p = 0,004    |
| SKT [mmHg]   | 115,1 ± 18,9 | 114,8 ± 18,6  | p = 0,241    | 117,6 ± 22,2 | 117,7 ± 18,4 | p = 0,542    |
| DKT [mmHg]   | 73,7 ± 11,5  | 74,9 ± 10,6   | p = 0,679    | 72,8 ± 18,3  | 74,1 ± 15,3  | p = 0,561    |
| SAKT [mmHg]  | 89,3 ± 12,8  | 90,2 ± 13,1   | p = 0,674    | 91,3 ± 19,2  | 86,9 ± 20,8  | p = 0,31     |
| UV [mL]  | 69,2 ± 12,0  | 76,0 ± 14,9*  | p = 0,007    | 74,1 ± 11,3  | 75,5 ± 12    | p = 0,289    |
| IUV [mL/m <sup>2</sup> ]                           | 38,3 ± 5,4   | 42,1 ± 7,4*   | p = 0,022    | 40 ± 4,5     | 41,1 ± 6,3*  | p = 0,005    |
| SMV [l/min]  | 6,3 ± 1,0    | 5,9 ± 1,3*    | p = 0,021    | 6,4 ± 1      | 5,9 ± 1,1*   | p = 0,005    |
| ISMV [l/(min x m <sup>2</sup> )]                   | 3,5 ± 0,5    | 3,3 ± 0,7*    | p = 0,017    | 3,5 ± 0,5    | 3,2 ± 0,5*   | p = 0,015    |
| UPO [dyne x s/cm <sup>5</sup> ]                    | 1171 ± 290   | 1252 ± 265    | p = 0,096    | 1144 ± 318   | 1158 ± 329   | p = 0,09     |
| IUPO [dyne x s x m <sup>2</sup> /cm <sup>5</sup> ] | 2098 ± 621   | 2243 ± 519    | p = 0,087    | 2139 ± 708   | 2130 ± 648   | p = 0,09     |

BHT - test zadržavanja daha; NS - niskoslano; VS - visokoslano; MTP - moždani tlak perfuzije; MPK - moždani protok krvi; VTI - integral brzine u vremenu; SMPK - sistolički moždani protok krvi; DMPK - dijastolički moždani protok krvi; OMC - otpor moždane cirkulacije; IMP - indeks moždane pulzabilnosti; SF - srčana frekvencija; SKT - sistolički krvni tlak; DKT - dijastolički krvni tlak; SAKT - srednji arterijski krvni tlak; UV - udarni volumen; IUV - indeks udarnog volumena; SMV - srčani minutni volumen; ISMV - indeks srčanog minutnog volumena; UPO - ukupni periferni otpor; IUPO - indeks ukupnog perifernog otpora.

Rezultati su prikazani kao aritmetička sredina ± standardna devijacija.

6a \*p < 0,05 upareni studentov t - test (mirovanje u usporedbi s BHT)

### 6b Promjene vrijednosti moždane i sistemske hemodinamike pri izvođenju testa zadržavanja daha

|  | NS                        | VS                        | p vrijednost |
|--|---------------------------|---------------------------|--------------|
|  | razlika (BHT - mirovanje) | razlika (BHT - mirovanje) |              |
| <i>Vrijednosti moždane hemodinamike</i>            |                           |                           |              |
| MTP [mmHg]   | -0,9 ± 14,3               | 0,63 ± 10,86              | p = 0,822    |
| MPK [cm/s]   | 6,4 ± 9,5                 | 6,3 ± 10,3                | p = 0,814    |
| VTI [cm]   | 13,6 ± 9,1                | 12,4 ± 12,5               | p = 0,362    |
| SMPK [cm/s]  | 5,2 ± 9,8                 | 3,7 ± 6,0                 | p = 0,358    |
| DMPK [cm/s]  | 5,9 ± 9,2                 | 6,7 ± 10,3                | p = 0,82     |
| OMC [mmHg/cm]                                      | -0,09 ± 0,17              | -0,05 ± 0,13              | p = 0,85     |
| IMP [1]  | -0,9 ± 14,3               | 0,6 ± 10,9                | p = 0,822    |
| <i>Vrijednosti sistemske hemodinamike</i>          |                           |                           |              |
| SF [otkucaj/min]                                   | -13,4 ± 10,8              | -7,6 ± 12,2†              | p = 0,02     |
| SKT [mmHg]   | -6,0 ± 37,3               | 1,5 ± 10,9                | p = 0,438    |
| DKT [mmHg]   | -0,04 ± 10,90             | 1,3 ± 9,7                 | p = 0,861    |
| SAKT [mmHg]  | 0,4 ± 14,8                | -3,4 ± 18,6               | p = 0,826    |
| UV [mL]  | 6,8 ± 11,6                | 1,3 ± 13,4†               | p = 0,002    |
| IUV [mL/m <sup>2</sup> ]                           | 3,8 ± 6,4                 | 1,1 ± 6,9†                | p = 0,006    |
| SMV [l/min]  | -0,3 ± 0,7                | -0,5 ± 0,8                | p = 0,253    |
| ISMV [l/(min x m <sup>2</sup> )]                   | -0,2 ± 0,4                | -0,3 ± 0,4                | p = 0,267    |
| UPO [dyne x s/cm <sup>5</sup> ]                    | 68 ± 328                  | 49 ± 324                  | p = 0,759    |
| IUPO [dyne x s x m <sup>2</sup> /cm <sup>5</sup> ] | 114 ± 631                 | 71 ± 658                  | p = 0,73     |

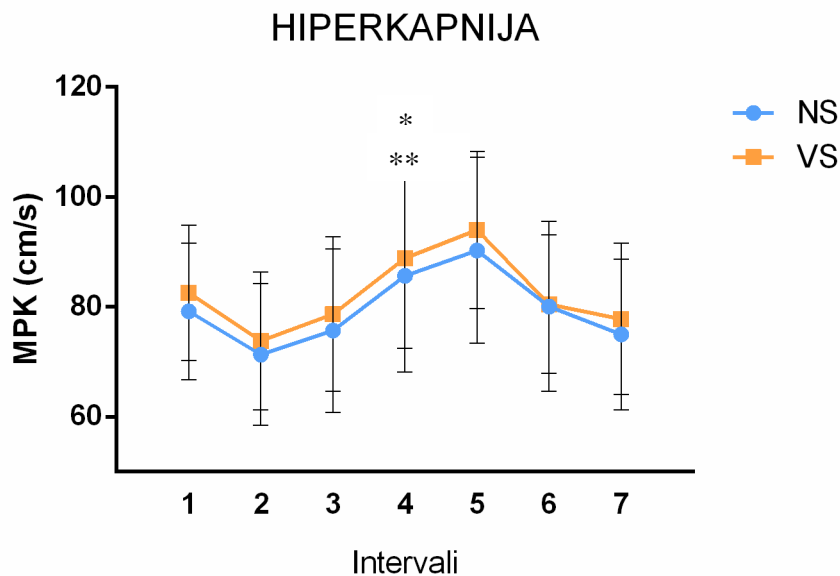
BHT - test zadržavanja daha; NS - niskoslano; VS - visokoslano; MTP - moždani tlak perfuzije; MPK - moždani protok krvi; VTI - integral brzine u vremenu; SMPK - sistolički moždani protok krvi; DMPK - dijastolički moždani protok krvi; OMC - otpor moždane cirkulacije; IMP - indeks moždane pulzabilnosti; SF - srčana frekvencija; SKT - sistolički krvni tlak; DKT - dijastolički krvni tlak; SAKT - srednji arterijski krvni tlak; UV - udarni volumen; IUV - indeks udarnog volumena; SMV- srčani minutni volumen; ISMV - indeks srčanog minutnog volumena; UPO - ukupni periferni otpor; IUPO - indeks ukupnog perifernog otpora.

Rezultati su prikazani kao aritmetička sredina ± standardna devijacija.

6b †p < 0,05 upareni studentov t - test (NS u usporedbi s VS)



Nadalje, hiperkapnija je dovela do značajnog povećanja vrijednosti moždanog protoka krvi (MPK) i nakon NS i nakon VS dijete što je prikazano na *Slici 5.4*.



**Slika 5.4.** Promjene moždanog protoka krvi pri hiperkapniji (tijekom odabranih intervala od 10 sekundi izazvanim BHT-om (interval 1 - mirovanje, interval 2 - prvih 10 sekundi BHT-a, interval 3 - drugih 10 sekundi BHT-a, interval 4 - trećih 10 sekundi BHT-a, interval 5 - prvih 10 sekundi nakon BHT-a, interval 6 - drugih 10 sekundi nakon BHT-a, interval 7 - trećih 10 sekundi nakon BHT-a))

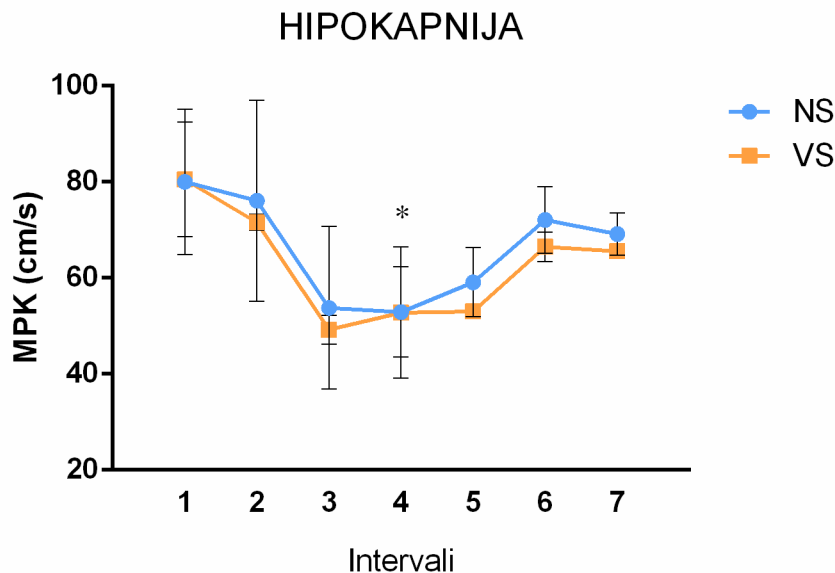
BHT – test zadržavanja daha, MPK – moždani protok krvi, NS – niskoslana dijete, VS – visokoslana dijete

Točke predstavljaju srednje vrijednosti  $\pm$  standardnu devijaciju

\* predstavlja značajno povećanje vrijednosti MPK-a nakon NS dijete u intervalu od zadnjih 10 sekundi BHT-a u odnosu na period od 10 sekundi prije BHT-a ( $p=0,002$ ), a \*\* predstavlja značajno povećanje vrijednosti MPK-a nakon VS dijete u intervalu od zadnjih 10 sekundi BHT-a u odnosu na period od 10 sekundi prije BHT-a ( $p=0,007$ )

### 5.5. Odgovor moždane i sistemske hemodinamike u uvjetima niskoslane i visokoslane dijete na hipokapniju

S obzirom na dobivene značajne razlike većine mjerenih parametara, hiperventilacija se pokazala kao potentan podražaj za izazivanje spomenutih promjena. Što se tiče moždane hemodinamike, hiperventilacija je izazvala očekivano smanjenje vrijednosti MPK-a što je predočeno na *Slici 5.5*.



**Slika 5.5.** Promjene moždanog protoka krvi pri hipokapniji (tijekom odabranih intervala od 10 sekundi pri testu hiperventilacije (interval 1 - mirovanje, interval 2 - prvih 10 sekundi hiperventilacije, interval 3 - drugih 10 sekundi hiperventilacije, interval 4 - trećih 10 sekundi hiperventilacije, interval 5 - prvih 10 sekundi nakon hiperventilacije, interval 6 - drugih 10 sekundi nakon hiperventilacije, interval 7 - trećih 10 sekundi nakon hiperventilacije))

MPK – moždani protok krvi, NS – niskoslana dijete, VS – visokoslana dijete

Točke predstavljaju srednje vrijednosti  $\pm$  standardnu devijaciju.

\* predstavlja značajno povećanje vrijednosti MPK-a nakon NS i VS dijete u intervalu od zadnjih 10 sekundi hiperventilacije u odnosu na period od 10 sekundi prije hiperventilacije,  $p < 0,001$

Cjelokupni podaci iz skupine moždane i sistemske hemodinamike kao odgovor na hipokapniju izazvanu hiperventilacijom prikazani su u Tablici 7. Smanjenje vrijednosti uočeno je kod MTP-a, VTI-ja, SMPK-a i DMPK-a, podjednako i nakon NS i nakon VS protokola. Povišena je vrijednost poslije navedenog podražaja i kod IMP-a te OMC-a. U sistenskoj hemodinamici, vrijednosti SF-a, SMV-a i ISMV-a promijenile su se pri NS i VS prehrani, rezultirajući višim vrijednostima nakon podražaja. Hiperventilacija je izazvala značajno sniženje vrijednosti SKT-a, DKT-a kao i SAKT-a, a isto se uočava i kod UPO-a i IUPO-a. UV kao i vrijednosti IUV-a nisu značajnije promjenjene nakon hiperventilacije.

Dodatna analiza odgovora sistemske hemodinamike na hiperventilaciju u usporedbi s osnovnim vrijednostima (razlika promjena između hiperventilacije i početne vrijednosti u uvjetima NS i VS dijete) pokazala je da se sistemski hemodinamski odgovori na hiperventilaciju ne razlikuju značajno između NS i VS dijete, uz napomenu kako su oba protokola unosa soli pridonijela istom trendu promjene vrijednosti (prikazano u dijelu Tablice 7b).

Tablica 7. Moždana i sistemska hemodinamika pri izvođenju hiperventilacije

## 7a Vrijednosti moždane i sistemske hemodinamike pri izvođenju hiperventilacije

|  | NS           |                  |              | VS           |                  |              |
|--|--------------|------------------|--------------|--------------|------------------|--------------|
|  | mirovanje    | hiperventilacija | p vrijednost | mirovanje    | hiperventilacija | p vrijednost |
| <i>Vrijednosti moždane hemodinamike</i>            |              |                  |              |              |                  |              |
| MTP [mmHg]   | 91,2 ± 14,5  | 79,7 ± 18,2*     | p = 0,012    | 92,5 ± 10,8  | 81,3 ± 16,3*     | p = 0,005    |
| MPK [cm/s]   | 80,0 ± 15,1  | 52,9 ± 9,4*      | p < 0,001    | 80,4 ± 11,9  | 52,8 ± 13,7*     | p < 0,001    |
| VTI [cm]   | 58,0 ± 30,2  | 26,0 ± 10,5*     | p < 0,001    | 55,6 ± 22,3  | 27,7 ± 18,4*     | p < 0,001    |
| SMPK [cm/s]  | 112,8 ± 16,7 | 97,9 ± 14,2*     | p < 0,001    | 110,6 ± 20,3 | 100,6 ± 14,5*    | p = 0,001    |
| DMPK [cm/s]  | 60,9 ± 12,2  | 32,3 ± 8,9*      | p = 0,01     | 59,9 ± 9,0   | 19,3 ± 0,7*      | p = 0,018    |
| OMC [mmHg/cm]                                      | 1,20 ± 0,32  | 1,56 ± 0,35*     | p < 0,001    | 1,15 ± 0,18  | 1,59 ± 0,36*     | p = 0,001    |
| IMP [1]  | 0,65 ± 0,12  | 1,30 ± 0,33*     | p < 0,001    | 0,66 ± 0,10  | 1,38 ± 0,37*     | p < 0,001    |
| <i>Vrijednosti sistemske hemodinamike</i>          |              |                  |              |              |                  |              |
| SF [otkucaj/min]                                   | 90,7 ± 11,0  | 122,8 ± 22,5*    | p < 0,001    | 89,3 ± 10,7  | 124,6 ± 13,6*    | p < 0,001    |
| SKT [mmHg]   | 116,3 ± 19,2 | 102,1 ± 20,5*    | p = 0,006    | 122,5 ± 16,7 | 104,1 ± 14,9*    | p < 0,001    |
| DKT [mmHg]   | 75,0 ± 12,0  | 63,9 ± 9,9*      | p < 0,001    | 78,5 ± 12,8  | 67,1 ± 16,0*     | p < 0,001    |
| SAKT [mmHg]  | 89,7 ± 15,0  | 82,6 ± 15,9*     | p = 0,038    | 93,3 ± 12,1  | 78,6 ± 14,2*     | p < 0,001    |
| UV [mL]  | 72,6 ± 17,1  | 73,0 ± 14,1      | p = 0,303    | 74,2 ± 8,5   | 77,0 ± 19,5      | p = 0,414    |
| IUV [mL/m <sup>2</sup> ]                           | 41,0 ± 11,1  | 41,1 ± 8,5       | p = 0,243    | 41,5 ± 8,5   | 43,0 ± 11,3      | p = 0,366    |
| SMV [l/min]  | 6,5 ± 1,6    | 8,9 ± 2,3*       | p < 0,001    | 6,5 ± 1,0    | 9,4 ± 2,3*       | p < 0,001    |
| ISMV [l/(min x m <sup>2</sup> )]                   | 10,8 ± 15,2  | 11,4 ± 14,6*     | p = 0,012    | 12,1 ± 19,4  | 14,1 ± 20,2*     | p = 0,006    |
| UPO [dyne x s/cm <sup>5</sup> ]                    | 1225 ± 252   | 706 ± 180*       | p < 0,001    | 1151 ± 176   | 722 ± 237*       | p < 0,001    |
| IUPO [dyne x s x m <sup>2</sup> /cm <sup>5</sup> ] | 2158 ± 594   | 1238 ± 378*      | p < 0,001    | 2125 ± 316   | 1306 ± 448*      | p < 0,001    |

NS - niskoslano; VS - visokoslano; MTP - moždani tlak perfuzije; MPK - moždani protok krvi; VTI - integral brzine u vremenu; SMPK - sistolički moždani protok krvi; DMPK - dijastolički moždani protok krvi; OMC - otpor moždane cirkulacije; IMP - indeks moždane pulzabilnosti; SF - srčana frekvencija; SKT - sistolički krvni tlak; DKT - dijastolički krvni tlak; SAKT - srednji arterijski krvni tlak; UV - udarni volumen; IUV - indeks udarnog volumena; SMV - srčani minutni volumen; ISMV - indeks srčanog minutnog volumena; UPO - ukupni periferni otpor; IUPO - indeks ukupnog perifernog otpora.

Rezultati su prikazani kao aritmetička sredina ± standardna devijacija.

\*p < 0,05 upareni studentov t - test (mirovanje u usporedbi s hiperventilacijom)

## 7b Promjene vrijednosti moždane i sistemske hemodinamike pri hiperventilaciji

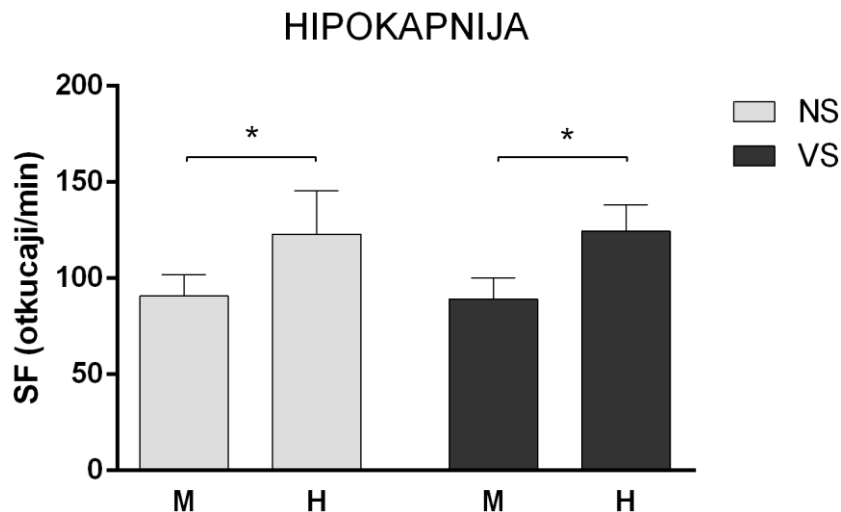
|  | NS   | VS   | p vrijednost |
|--|--|--|--------------|
|  | razlika<br>(hiperventilacija -<br>mirovanje) | razlika<br>(hiperventilacija -<br>mirovanje) |              |
| <b><i>Vrijednosti moždane hemodinamike</i></b>     |  |  |              |
| MTP [mmHg]   | -11,5 ± 16,6                                 | -11,5 ± 13,3                                 | p = 0,966    |
| MPK [cm/s]   | -28,0 ± 11,1                                 | -27,7 ± 9,1                                  | p = 0,806    |
| VTI [cm]   | -32,0 ± 21,9                                 | -27,9 ± 12,8                                 | p = 0,571    |
| SMPK [cm/s]  | -14,8 ± 12,7                                 | -10 ± 17                                     | p = 0,369    |
| DMPK [cm/s]  | -28,3 ± 13,8                                 | -41,4 ± 1,6                                  | p = 0,455    |
| OMC [mmHg/cm]                                      | 0,33 ± 0,23                                  | 0,43 ± 0,27                                  | p = 0,404    |
| IMP [1]  | 0,65 ± 0,31                                  | 0,73 ± 0,33                                  | p = 0,463    |
| <b><i>Vrijednosti sistemske hemodinamike</i></b>   |  |  |              |
| SF [otkucaj/min]                                   | 34,4 ± 15,3                                  | 35,3 ± 13,5                                  | p = 0,871    |
| SKT [mmHg]   | -15,8 ± 17,3                                 | -15,8 ± 14,7                                 | p = 0,221    |
| DKT [mmHg]   | -11,5 ± 9,3                                  | -12,5 ± 12,6                                 | p = 0,7      |
| SAKT [mmHg]  | -9,8 ± 14,6                                  | -14,1 ± 12,1                                 | p = 0,703    |
| UV [mL]  | 1,7 ± 21,4                                   | 2,7 ± 14,9                                   | p = 0,671    |
| IUV [mL/m <sup>2</sup> ]                           | 0,78 ± 12,21                                 | 1,6 ± 7,8                                    | p = 0,811    |
| SMV [l/min]  | 2,6 ± 2,5                                    | 3,0 ± 1,9                                    | p = 0,296    |
| ISMV [l/(min x m <sup>2</sup> )]                   | 1,2 ± 1,7                                    | 2,0 ± 3,7                                    | p = 0,386    |
| UPO [dyne x s/cm <sup>5</sup> ]                    | -535 ± 189                                   | -448 ± 210                                   | p = 0,415    |
| IUPO [dyne x s x m <sup>2</sup> /cm <sup>5</sup> ] | -938 ± 381                                   | -800 ± 366                                   | p = 0,418    |

NS - niskoslano; VS - visokoslano; MTP - moždani tlak perfuzije; MPK - moždani protok krvi; VTI - integral brzine u vremenu; SMPK - sistolički moždani protok krvi; DMPK - dijastolički moždani protok krvi; OMC - otpor moždane cirkulacije; IMP - indeks moždane pulzatilnosti; SF - srčana frekvencija; SKT - sistolički krvni tlak; DKT - dijastolički krvni tlak; SAKT - srednji arterijski krvni tlak; UV - udarni volumen; IUV - indeks udarnog volumena; SMV - srčani minutni volumen; ISMV - indeks srčanog minutnog volumena; UPO - ukupni periferni otpor; IUPO - indeks ukupnog perifernog otpora.

Rezultati su prikazani kao aritmetička sredina ± standardna devijacija.

\*p < 0,05 upareni studentov t-test (NS u usporedbi s VS),

U sustavnoj je hemodinamici hiperventilacija rezultirala značajnim porastom vrijednosti SF-a u oba protokola različitog unosa soli što je prikazano na *Slici 5.6*.



**Slika 5.6.** Prikaz dinamike vrijednosti srčane frekvencije pri hipokapniji (pri protokolu NS i VS dijete u fazi M i H)

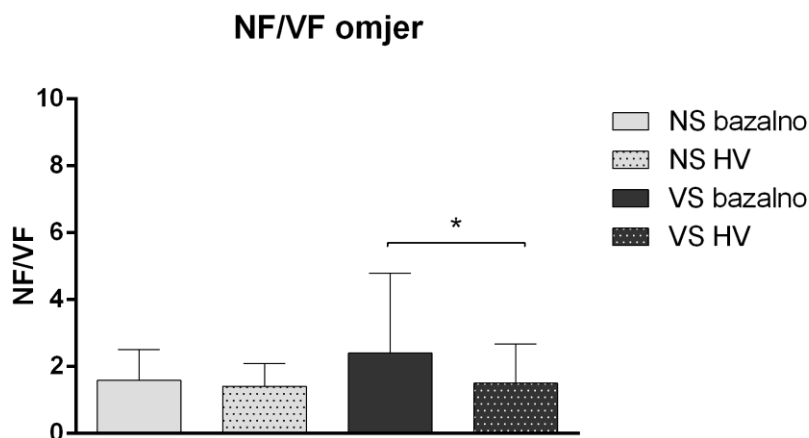
H – hipokapnija izazvana hiperventilacijom (zadnjih 10 sekundi podražaja), M – mirovanje (10 sekundi prije podražaja), NS – niskoslana dijeta, SF – srčana frekvencija, VS – visokoslana dijeta

Podaci su prikazani kao srednja vrijednost + standardna devijacija

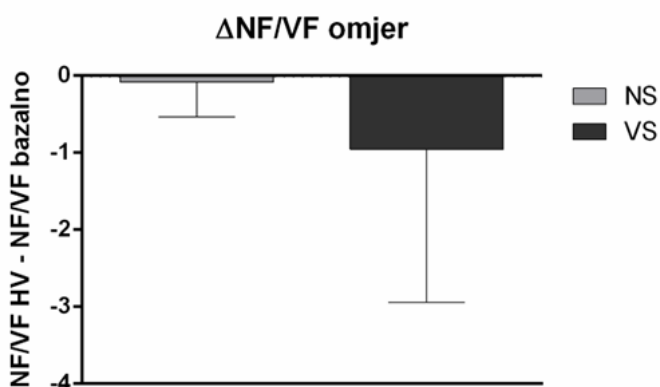
\* predstavlja značajno povećanje vrijednosti MPK-a nakon NS i VS dijete u intervalu od zadnjih 10 sekundi hiperventilacije u odnosu na period od 10 sekundi prije hiperventilacije,  $p < 0,001$  (upareni studentov t-test)

Kako bi se utvrdio utjecaj simpatikusa na moždanu i sistemsku hemodinamiku u odgovoru na hiperventilaciju, analizirana je promjenjivost srčane frekvencije (PSF). Promjene u PSF-u prilikom hiperventilacije prikazane su na *Slici 5.7*. Dinamika omjera niske frekvencije i visoke frekvencije NF/VF analizirana je tijekom mirovanja te zadnjih 10 sekundi hiperventilacije kada je opažen najveći učinak. Vrijednosti omjera NF/VF analizirane su pri niskoslanosti i pri visokoslanosti dijete. Prilikom podražaja, u obama dijetnima protokolima, vrijednosti su se smanjivale u periodu hipokapnije, a otklon vrijednosti u VS dijete je bio statistički značajno veći u odnosu na NS dijete, što se vidi na *Slici 5.7*. pod a). Pod b) se prikazuje veći pad vrijednosti koja predstavlja razliku vrijednosti poslije podražaja i onih u mirovanju u VS dijete u odnosu na NS dijete, koji nije statistički značajan.

a)



b)



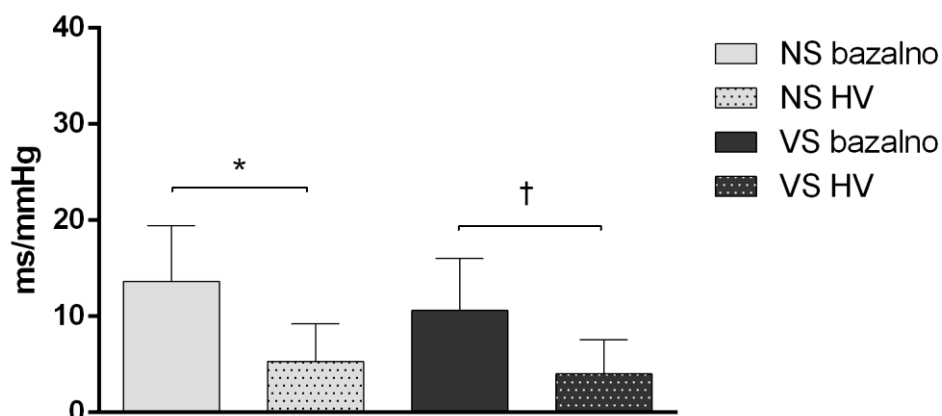
**Slika 5.7.** Promjenjivost srčane frekvencije pri hipokapniji - a) u fazi mirovanja (bazalno) i nakon podražaja (faza hipokapnije izazvane hiperventilacijom, zadnjih 10 sekundi podražaja), b) razlika vrijednosti nakon podražaja i vrijednosti u fazi mirovanja

HV – hiperventilacija, NF/VF – niska frekvencija/visoka frekvencija, NS – niskoslana dijeta, VS – visokoslana dijeta

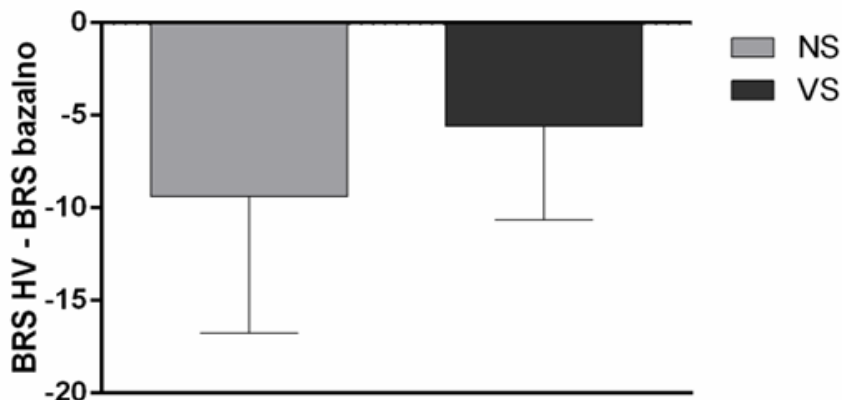
\* predstavlja značajno sniženje vrijednosti NF/VF nakon VS dijete u intervalu od zadnjih 10 sekundi hiperventilacije u odnosu na period od 10 sekundi prije hiperventilacije (bazalno),  $p=0,009$  (upareni studentov t - test)

Na *Slici 5.8.* prikazuju se promjene baroreceptorske osjetljivosti (BRS) u odnosu na protokol unosa soli. Vrijednosti BRS-a značajno su se smanjile odabranim podražajima (a), no bez statističke značajnosti između NS i VS dijete (b). Drugim riječima, prekomjerni unos soli nije utjecao na BRS.

a)

**Baroreceptorski refleks (BRS)**

b)

 **$\Delta$  Baroreceptorski refleks ( $\Delta$ BRS)**

Slika 5.8. Osjetljivost baroreceptorskog refleksa pri hipokapniji - Automatski su izračunate vrijednosti kao promjena međuotkucajnog intervala (engl. *interbeat interval*, IBI) u milisekundama po jedinici promjene krvnog tlaka. Dinamika BRS-a analizirana je a) tijekom mirovanja (bazalno) i zadnjih 10 sekundi hiperventilacije (HV) te b) kao razlika vrijednosti nakon podražaja s onim u mirovanju.

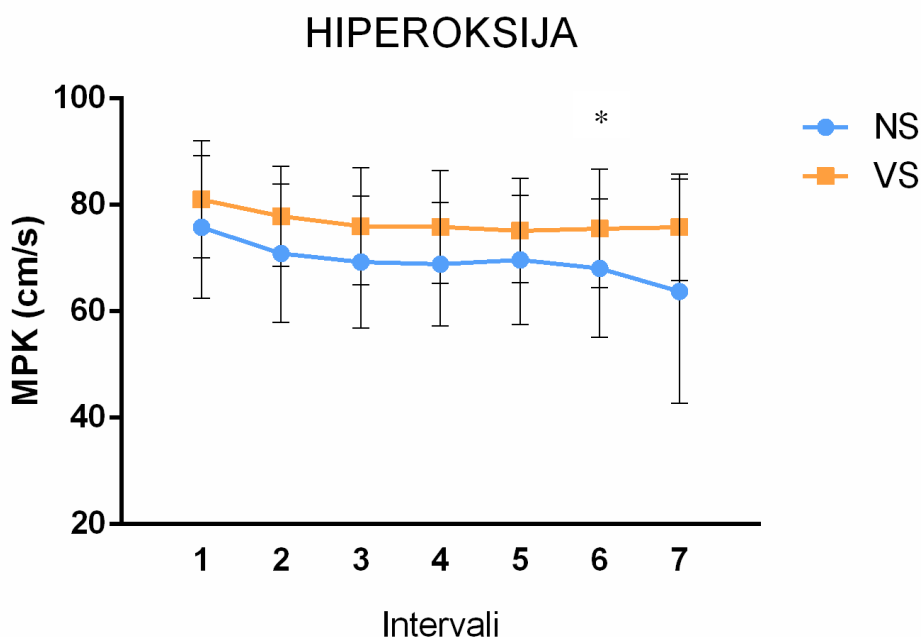
HV – hiperventilacija, NS – niskoslana dijeta, VS – visokoslana dijeta

Rezultati su predočeni kao srednja vrijednost + standardna devijacija

\* predstavlja značajno sniženje vrijednosti intervala BRS-a zadnjih 10 sekundi hiperventilacije ( $p=0,005$ , upareni studentov t-test) NS bazalno u odnosu na NS HV, †  $p<0,001$  VS bazalno u odnosu na VS HV (upareni studentov t - test)

### 5.6. Odgovor moždane i sistemske hemodinamike u uvjetima niskoslane i visokoslane dijete na hiperoksiju

Hiperoksija je uzrokovala značajno smanjenje MPK-a u intervalu zadnje 3 minute udisanja kisika na masku (od ukupno 15 minuta koliko je trajao cijeli podražaj) (Tablica 8.). Na *Slici 5.7.* prikazane su promjene MPK-a tijekom intervala od 3 minute.



**Slika 5.9.** Promjene moždanog protoka krvi pri hiperoksiji (tijekom odabranih intervala (interval 1 - 3 minute prije hiperoksije, interval 2 - prve 3 minute hiperoksije, interval 3 - druge 3 minute hiperoksije, interval 4 - treće 3 minute hiperoksije, interval 5 - četvrte 3 minute hiperoksije, interval 6 - pete 3 minute hiperoksije, interval 7 - prve 3 minute nakon hiperoksije) MPK - moždani protok krvi, NS - niskoslane dijete, VS - visokoslane dijete  
Točke predstavljaju srednje vrijednosti  $\pm$  standardnu devijaciju.  
\* predstavlja značajno sniženje vrijednosti MPK-a nakon NS i VS dijete u intervalu od zadnje 3 minute hiperoksije u odnosu na period od 3 minute prije hiperoksije;  $p < 0,001$  (upareni studentov t-test)



Cjelokupni podaci iz skupine moždane i sistemske hemodinamike kao odgovor hiperoksiju prikazani su u Tablici 8.

U moždanoj je hemodinamici vidljivo značajno smanjenje MPK-a, SMPK-a i DMPK-a te povećanje IMP-a kod oba dijetna protokola, dok se ostale vrijednosti (MTP, VTI i OMC) nisu značajno promijenjene s hiperoksijom te se ne razlikuju značajno između dijetnih protokola.

U sustavnoj hemodinamici, hiperoksija je rezultirala značajno smanjenim vrijednostima SF-a u oba dijetna protokola. Hiperoksija je izazvala sniženje SMV-a i ISMV-a u oba dijetna protokola. Preostale vrijednosti sistemske cirkulacije (SKT, DKT, UV, UVI i UPO) nisu značajno promijenjene u odgovoru na hiperoksiju u uvjetima NS i VS prehrane.

Dodatna analiza odgovora moždane i sistemske hemodinamike na hiperoksiju u usporedbi s osnovnim vrijednostima (razlika promjena između hiperoksije i početne vrijednosti u uvjetima NS i VS dijete) pokazala je da se parametri moždane i sistemske cirkulacije u odgovoru na hiperoksiju značajno ne razlikuju prije i nakon konzumacije VS dijete.

Tablica 8. Moždana i sistemska hemodinamika pri izvođenju hiperoksije

## 8a Vrijednosti moždane i sistemske hemodinamike pri izvođenju hiperoksije

|  | NS           |              |              | VS           |               |              |
|--|--------------|--------------|--------------|--------------|---------------|--------------|
|  | mirovanje    | hiperoksija  | p vrijednost | mirovanje    | hiperoksija   | p vrijednost |
| <i>Vrijednosti moždane hemodinamike</i>            |              |              |              |              |               |              |
| MTP [mmHg]   | 89,4 ± 6,0   | 89,0 ± 10,9  | p = 0,874    | 94,6 ± 15,6  | 89,6 ± 11,7   | p = 0,252    |
| MPK [cm/s]   | 75,8 ± 13,4  | 68,1 ± 13,0* | p < 0,001    | 81,0 ± 10,9  | 75,6 ± 11,2*  | p < 0,001    |
| VTI [cm]   | 53,3 ± 10,5  | 51,4 ± 10,9  | p = 0,132    | 61,4 ± 11,6  | 60,5 ± 12,0   | p = 0,485    |
| SMPK [cm/s]  | 107,0 ± 19,5 | 99,6 ± 21,1* | p = 0,001    | 113,0 ± 14,8 | 108,0 ± 15,8* | p < 0,001    |
| DMPK [cm/s]  | 57,1 ± 10,3  | 50,5 ± 9,9*  | p < 0,001    | 59,3 ± 9,8   | 55,2 ± 8,3*   | p = 0,007    |
| OMC [mmHg/cm]                                      | 1,23 ± 0,34  | 1,48 ± 0,42  | p = 0,084    | 1,21 ± 0,22  | 1,20 ± 0,28   | p = 0,131    |
| IMP [1]  | 0,66 ± 0,10  | 0,71 ± 0,12* | p = 0,049    | 0,68 ± 0,13  | 0,71 ± 0,10*  | p = 0,048    |
| <i>Vrijednosti sistemske hemodinamike</i>          |              |              |              |              |               |              |
| SF [otkucaj/min]                                   | 84,7 ± 10,0  | 81,3 ± 9,6*  | p = 0,036    | 81,1 ± 10,3  | 76,9 ± 9,1*   | p = 0,004    |
| SKT [mmHg]   | 117,2 ± 7,9  | 112,5 ± 15,3 | p = 0,173    | 123,5 ± 22,2 | 118,2 ± 13,5  | p = 0,168    |
| DKT [mmHg]   | 73,6 ± 5,6   | 71,0 ± 11,5  | p = 0,219    | 76,9 ± 14,6  | 75,4 ± 10,1   | p = 0,648    |
| SAKT [mmHg]  | 90,6 ± 5,8   | 86,8 ± 11,9  | p = 0,206    | 94,4 ± 17,4  | 92,5 ± 10,5   | p = 0,428    |
| UV [mL]  | 72,0 ± 12,1  | 71,3 ± 11,0  | p = 0,436    | 76,5 ± 11,3  | 75,7 ± 12,7   | p = 0,098    |
| IUV [mL/m <sup>2</sup> ]                           | 38,2 ± 9,3   | 38,0 ± 9,5   | p = 0,626    | 41,2 ± 5,4   | 40,8 ± 5,5    | p = 0,405    |
| SMV [l/min]  | 6,1 ± 1,0    | 5,7 ± 0,9*   | p = 0,012    | 6,1 ± 0,9    | 5,7 ± 0,8*    | p < 0,001    |
| ISMV [l/(min x m <sup>2</sup> )]                   | 3,4 ± 0,4    | 3,2 ± 0,4*   | p = 0,009    | 3,3 ± 0,5    | 3,1 ± 0,4*    | p < 0,001    |
| UPO [dyne x s/cm <sup>5</sup> ]                    | 1196 ± 178   | 1199 ± 212   | p = 0,94     | 1249 ± 324   | 1263 ± 268    | p = 0,783    |
| IUPO [dyne x s x m <sup>2</sup> /cm <sup>5</sup> ] | 2129 ± 320   | 2153 ± 444   | p = 0,723    | 2296 ± 597   | 2367 ± 523    | p = 0,713    |

NS - niskoslano; VS - visokoslano; MTP - moždani tlak perfuzije; MPK - moždani protok krvi; VTI - integral brzine u vremenu; SMPK - sistolički moždani protok krvi; DMPK - dijastolički moždani protok krvi; OMC - otpor moždane cirkulacije; IMP - indeks moždane pulzabilnosti; SF - srčana frekvencija; SKT - sistolički krvni tlak; DKT - dijastolički krvni tlak; SAKT - srednji arterijski krvni tlak; UV - udarni volumen; IUV - indeks udarnog volumena; SMV - srčani minutni volumen; ISMV - indeks srčanog minutnog volumena; UPO - ukupni periferni otpor; IUPO - indeks ukupnog perifernog otpora.

Rezultati su prikazani kao aritmetička sredina ± standardna devijacija.

\*p < 0,05 upareni studentov t - test (mirovanje u usporedbi s hiperoksijom)

## 8b Promjene vrijednosti moždane i sistemske hemodinamike pri hiperoksiji

|  | NS<br>razlika<br>(hiperoksija -<br>mirovanje) | VS<br>razlika<br>(hiperoksija -<br>mirovanje) | p vrijednost |
|--|---|---|--------------|
| <i>Vrijednosti moždane hemodinamike</i>            |   |   |              |
| MTP [mmHg]   | -0,5 ± 9,1                                    | -4,3 ± 12,5                                   | p = 0,423    |
| MPK [cm/s]   | -7,6 ± 4,8                                    | -6,0 ± 6,3                                    | p = 0,378    |
| VTI [cm]   | -1,9 ± 4,2                                    | -1,3 ± 7,3                                    | p = 0,999    |
| SMPK [cm/s]  | -7,5 ± 6,6                                    | -5,8 ± 5,7                                    | p = 0,47     |
| DMPK [cm/s]  | -6,6 ± 5,0                                    | -4,4 ± 7,6                                    | p = 0,389    |
| OMC [mmHg/cm]                                      | 0,20 ± 0,42                                   | 0,05 ± 0,11                                   | p = 0,249    |
| IMP [1]  | 0,05 ± 0,08                                   | 0,02 ± 0,13                                   | p = 0,818    |
| <i>Vrijednosti sistemske hemodinamike</i>          |   |   |              |
| SF [otkucaj/min]                                   | -3,4 ± 6,8                                    | -4,0 ± 6,3                                    | p = 0,781    |
| SKT [mmHg]   | -4,7 ± 13,1                                   | -5,6 ± 17,1                                   | p = 0,853    |
| DKT [mmHg]   | -3,2 ± 10,0                                   | -1,4 ± 12,7                                   | p = 0,644    |
| SAKT [mmHg]  | -3,6 ± 11,0                                   | -2,3 ± 12,0                                   | p = 0,74     |
| UV [mL]  | -0,7 ± 4,0                                    | -1,1 ± 4,7                                    | p = 0,773    |
| IUV [mL/m <sup>2</sup> ]                           | -0,2 ± 2,2                                    | -0,5 ± 2,7                                    | p = 0,761    |
| SMV [l/min]  | -0,3 ± 0,4                                    | -0,4 ± 0,6                                    | p = 0,796    |
| ISMV [l/(min x m <sup>2</sup> )]                   | -0,1 ± 0,2                                    | -0,2 ± 0,3                                    | p = 0,824    |
| UPO [dyne x s/cm <sup>5</sup> ]                    | 3 ± 166                                       | 11 ± 159                                      | p = 0,429    |
| IUPO [dyne x s x m <sup>2</sup> /cm <sup>5</sup> ] | 24 ± 277                                      | 26 ± 281                                      | p = 0,989    |

NS - niskoslano; VS - visokoslano; MTP - moždani tlak perfuzije; MPK - moždani protok krvi; VTI - integral brzine u vremenu; SMPK - sistolički moždani protok krvi; DMPK - dijastolički moždani protok krvi; OMC - otpor moždane cirkulacije; IMP - indeks moždane pulzabilnosti; SF - srčana frekvencija; SKT - sistolički krvni tlak; DKT - dijastolički krvni tlak; SAKT - srednji arterijski krvni tlak; UV - udarni volumen; IUV - indeks udarnog volumena; SMV - srčani minutni volumen; ISMV - indeks srčanog minutnog volumena; UPO - ukupni periferni otpor; IUPO - indeks ukupnog perifernog otpora.

Rezultati su prikazani kao aritmetička sredina ± standardna devijacija.

## 6. RASPRAVA

Hipoteza ovog istraživanja bila je kako primjena kratke visokoslane dijeta kod mladih zdravih ljudi dovodi do promjene reaktivnosti rezistentnih moždanih krvnih žila na fiziološke podražaje poput ortostaze, hiperkapnije, hiperventilacije i hiperoksije uz održan normalan arterijski krvni tlak.

Široko je prihvaćeno mišljenje da visok unos soli u svakodnevnoj prehrani predstavlja osnovni nezavisni rizični čimbenik u razvoju i napredovanju hipertenzije (150), a sve je veći broj dokaza koji pokazuju da je endotelna disfunkcija rana manifestacija negativnog učinka uporabe velike količine soli u svakodnevnoj prehrani (37, 38, 151). Istraživanje provedeno u okviru ove doktorske disertacije za cilj je imalo utvrditi utjecaj prekomjernog unosa soli na moždanu vaskularnu reaktivnost, autoregulaciju moždanog protoka krvi i sustavne hemodinamske funkcije u odgovoru na odabrane fiziološke podražaje (test ortostatske promjene, hiperkapnija zadržavanjem daha, hipokapnija hiperventilacijom te hiperoksija). Nadalje, procjenjivala se uloga modulacije kontrole autonomnog sustava i promjena u osjetljivosti baroreceptorskog refleksa u odgovoru na ortostatski test i hiperventilaciju u mladih, zdravih osoba na VS dijeti.

Poznato je da visok prehrambeni unos soli nepovoljno utječe na krvne žile u raznim organima, uključujući srce, bubrege, kožu, mozak i kosti, što dovodi do oštećenja tih organa. Kao što je naglašeno u Uvodu, prekomjerni unos soli može se smatrati globalnim problemom gotovo svih dijelova svijeta, kako razvijenih, tako i nerazvijenih, a podaci o unosu soli u Republici Hrvatskoj ne odstupaju od negativnog trenda modernoga doba. Tako je prosječni unos soli kod muškaraca u Hrvatskoj  $13,3 \pm 4,3$  grama dnevno ( $223,6 \pm 74,0$  mmol Na/24-satni urin), dok je kod žena  $10,2 \pm 4,2$  grama dnevno ( $177,3 \pm 69,1$  mmol Na/24-satni urin), izraženo kao prosječna vrijednost i SD (27). Ispitanici koji su sudjelovali u ovom istraživanju prosječno su konzumirali  $8,0 \pm 3,8$  grama soli na dan prije provođenja prehrambenog protokola ( $134,3 \pm 64,1$  mmol/dU), što je određeno mjerenjem količine natrija u 24-satnom uzorku urina. To je značajno ispod prosjeka u Hrvatskoj, a može ići u prilog boljoj osviještenosti o štetnosti konzumacije velikih količina soli u odabranoj populaciji koju su činili studenti pretežno Medicinskoga fakulteta Osijek. Niže vrijednosti natrija u urinu kod ispitanika nakon NS protokola i povišene razine natrija u urinu kod ispitanika koji su provodili VS protokol potvrđuje da su protokol provodili pravilno te da su se pridržavali unaprijed dogovorenih uputa o unosu soli. Odnos vrijednosti PRA i razina aldosterona

također su se promijenile u očekivanom smjeru u smislu viših vrijednosti nakon NS protokola, a nižih nakon VS protokola, čime je dodatno utvrđeno kvalitetno pridržavanje danih uputa. Ovaj je rezultat u skladu s istraživanjima koja su potvrdila postojanje snažne pozitivne povezanosti između PRA i serumske koncentracije aldosterona u zdravih mladih žena i muškaraca, a osim toga pronađena je značajna negativna međuovisnost između dnevnoga unosa kuhinjske soli i aktivnosti RAS-a u zdravih mladih ispitanika obaju spolova (152).

Mnoga epidemiološka i intervencijska istraživanja pokazala su jasnu povezanost između količine unosa soli u organizam i hipertenzije (153, 154). Ipak, nije još u potpunosti poznato koliko treba trajati i u kojoj mjeri biti povišen unos soli koji bi mogao izazvati povišenje krvnoga tlaka u mladih zdravih pojedinaca. Neovisne studije koje su se temeljile na različitom vremenskom trajanju unosa soli (sve u okviru kratkotrajnog unosa) pokazale su kako sedam dana pojačanoga unosa soli utječe na razinu brahijalnoga sistoličkog tlaka kod mladih zdravih ispitanika pa je tako Tzemos sa svojim suautorima pokazao kako je i sedam dana dovoljno da se izazove povišenje vrijednosti AKT-a (155), dok su Starmans-Kool i suradnici pokazali kako je period od četrnaest dana prehrane s visokim udjelom soli izazivao tek minimalne promjene u arterijskom krvnom tlaku, prema su u istom aktu iskazali i snažnu povezanost između modifikacije soli u prehrani i karotidnoga krvnog tlaka (156). Čavka i suautori u svojoj studiji nisu pronašli značajnu razliku u sistoličkom, dijastoličkom, kao niti u SAKT nakon jednoga tjedna prehrane s visokim udjelom soli, međutim, utvrdili su značajno sniženje sistoličkog, dijastoličkog i srednjeg arterijskog tlaka nakon sedmodnevne prehrane s niskim udjelom soli (41, 76, 130). Navedeno odgovara rezultatima istraživanja koje se temeljilo na utjecaju DASH pravila prehrane na krvni tlak u populaciji zdravih, normotenzivnih ljudi (157), no ipak, čini se da je ispravnije govoriti o pozitivnim učincima niskoslane dijeta na niže vrijednosti krvnoga tlaka u kontekstu šire populacije, a ne promatrajući pojedinca, s obzirom na nepredvidivost individualnog odgovora (158, 159). Rezultati ovog istraživanja pokazali su da nema značajnih promjena AKT-a nakon primjene jednog tjedna VS dijeta kod mladih zdravih ispitanika.

Osim na promjene u općoj hemodinamici sistemskih krvnih žila, VS prehrana utječe i na moždanu vaskularnu reaktivnost, također već u kratkom razdoblju od tjedan dana, kako na životinjskim modelima (178, 160), tako i kod ljudi (76, 161, 162). Primjerice, Čosić i suautori (78) pokazali su oslabljenu FID srednjih moždanih arterija kod Sprague-Dowley štakora na VS prehrani. Prethodno je pokazano da je VS prehrana oslabila perifernu vaskularnu funkciju mjereno

dilatacijom posredovanim protokom brahijalne arterije (97, 163). Zanimljivo je da je u ovoj studiji moždani protok krvi bio očuvan, budući da je VS prehrana izazvala pojačani moždani vazokonstriksijski odgovor. Slično tome ukazuju i drugi podaci VS prikazani na humanom modelu (161).

U svim mjerenjima tijekom istraživanja, sudionici su ostali normotenzivni na VS dijete, a sistemska hemodinamika bila je slična na VS i NS dijete.

### 6.1. Odgovor moždane i sistemske cirkulacije na ortostatski test

Najvažniji rezultati ovog dijela doktorata koji je ispitivao hemodinamski odgovor na ortostatsko opterećenje jesu sljedeći: a) moždani protok krvi (MPK) ostao je očuvan u uvjetima VS dijete u mirovanju, odnosno MPK je pokazao značajan fiziološki pad nakon ustajanja, slično između NS i VS protokola prehrane; b) zabilježen je značajan porast otpora moždane cirkulacije (OMC) nakon ustajanja poslije protokola VS dijete što sugerira da je VS dijete promijenila odgovor moždanih krvnih žila na ortostatski podražaj; c) nakon VS dijete ne postoji značajna razlika u smislu aktivacije baroreceptora, odnosno baroreceptorskog odgovora tijekom prvih (I10) i tijekom drugih (I20) 10 sekundi stajanja (ortostatski podražaj), a nakon NS dijete postoji značajno smanjenje BRS tijekom I10 i I20 u odnosu na početno stanje M, što potencijalno ukazuje na oslabljen baroreceptorski refleks u odgovoru na ortostazu nakon VS dijete; d) u intervalu između 10 i 20 sekundi stajanja (I20) nakon NS dijete došlo je do značajnog povećanja omjera NF/VF što ukazuje na povećanje aktivnosti simpatikusa. Rezultat, da navedeni porast NF/VF omjera (kao pokazatelja obnavljanja simpatičke aktivnosti, odnosno značajnog smanjenja baroreceptorskog odgovora nakon ortostaze) nije zabilježen nakon VS dijete, ukazuje na promjenu simpatičke aktivnosti nakon VS dijete. To je potkrijepljeno i promjenama vrijednosti izlučenih metabolita katekolamina u urinu, od kojih su neki značajno sniženi nakon VS dijete, što nije uočeno kod NS dijete. Uzevši u obzir sve zajedno, ova studija pokazuje da je sedmodnevna VS dijete u mladih, zdravih, tj. normotenzivnih osoba utjecala na cerebrovaskularni odgovor na ortostatsko opterećenje promjenom otpora protoku moždane cirkulacije prvih 10 sekundi od ustajanja, ali istodobno očuvanim MPK-om, vjerojatno zbog MA. Nadalje, izostanak značajnog smanjenja osjetljivosti baroreceptora (BRS-a), a kasnije i promjena simpatičke aktivnosti nakon ortostaze kod VS dijete ukazuju da VS dijete prigušuje BRS i smanjuje simpatičku aktivnost u zdravih mladih pojedinaca.

PSF predstavlja kolebanje u trajanju perioda između otkucaja srca, a pokazatelj je složene neurosrčane aktivnosti ostvarene međudjelovanjem funkcije srca i mozga te autonomnog živčanog sustava (146). Kolebanja su srčane frekvencije složena i nelinearna što omogućuje prilagodljivost i brzi odgovor kada je to potrebno, a odgovor PSF-a uvijek treba biti optimalan. Na kratkotrajne promjene PSF-a utječe složeno međudjelovanje simpatikusa (sporije djelovanje) i parasimpatikusa (brže djelovanje) s jedne strane te s druge strane kontrolni mehanizmi koji nadziru SF putem respiratorne sinusne aritmije, baroreceptorski refleks te ritmična promjena vaskularnog tonusa (164). Iako simpatikus može potisnuti aktivnost parasimpatikusa, također ju može i povećati, a povišena aktivnost parasimpatikusa može biti povezana sa snižavanjem, povećanjem, ali i nepromijenjenom aktivnošću simpatikusa (165). Pretpostavka na kojoj se temelji omjer NF/VF jest da je u podlozi povišenog omjera simpatikus, a sniženog parasimpatikus, uz napomenu nelinearnog međusobnog učinka simpatikusa i parasimpatikusa (146). Primijenivši danu teoriju na naše rezultate, u NS dijetei značajna razlika NF/VF nakon ustajanja u odnosu na fazu mirovanja govori u prilog očuvanom odgovoru simpatikusa za razliku od VS dijete kod koje nema značajnosti u porastu NF/VF nakon podražaja ustajanja. Uz autonomni živčani sustav, kardiovaskularni sustav, središnji živčani sustav, endokrini i respiratorni sustav, baroreceptori i kemoreceptori utječu na PSF već u kratkom intervalu doprinoseći širokom rasponu frekvencija (od jako niskih do visokih). Baroreceptorski refleks ujedinjuje ulogu SF-a, KT-a i vaskularnog tonusa tako da pomoću akcijskih potencijala daje informaciju centralnim strukturama u mozgu (lat. *nucleus tractus solitarius*) o vrijednostima krvnoga tlaka te se potom eferentnim putevima u konačnici suprimira učinak simpatikusa, a pojačava učinak parasimpatikusa (jačina eferentnog odgovora proporcionalna je broju odaslanih baroreceptorskih impulsa). Inhibicija simpatikusa smanjuje periferni otpor, dok aktivacija parasimpatikusa deprimira SF i srčanu kontraktilnost (166). Smanjenje učinka BRS-a povezano je s narušenim regulatornim kapacitetom i starenjem. U kontekstu naših rezultata niskoslanog protokola, od desete do dvadesete sekunde nakon naglog ustajanja prilikom ortostatskog podražaja, značajno se povećala vrijednost NF/VS što tumačimo fiziološkim odgovorom simpatikusa, a neposredno nakon ustajanja primjećujemo značajnu razliku u odgovoru BRS-a što također smatramo fiziološkim odgovorom na naglu promjenu krvnoga tlaka. S druge strane, premda su slijedile isti obrazac kretanja vrijednosti, u VS dijetei nije došlo do značajne razlike NF/VF i BRS-a na istovjetno izveden ortostatski podražaj, a izostanak njihova

pravovremenog odgovora tumači se narušenim fiziološkim odgovorom nakon razdoblja primjene velike količine soli.

Aktivacija simpatikusa, osim što povećava srčanu frekvenciju, djeluje i na venske spremnike tako što dovodi do vazokonstrukcije velikih vena i time povećava venski priljev u srce. Povećani venski priljev povećava tlak punjenja klijetki i time, zbog Frank-Starlingova mehanizma (167), dolazi do povećanja UV (u ovom slučaju vraćanja prema normalnim razinama UV). To bi moglo objasniti, s fiziološkog aspekta, zašto bi UV nakon nekog vremena ortostaze i aktivacije kompenzacijskih mehanizama mogao biti bez značajnijih promjena vrijednosti, odnosno bez uočenog smanjenja. Uz to, povišena SF u tom slučaju može dovesti do povišenja SMV.

Test ortostaze podrazumijeva uspostavljanje uspravnog položaja tijela što uzrokuje redistribuciju krvi u donji dio tijela (posredstvom gravitacijske sile) i smanjenje krvnog tlaka. U tom slučaju simpatički živčani sustav reagira povećanjem broja otkucaja srca i srčane kontraktilnosti čime se sprječava kolaps sistemskog krvnog tlaka i moždane perfuzije (168, 169). U ovom radu, SF je značajno porastao kod promjene položaja tijela (ustajanja), što je u skladu s prethodno citiranim studijama, ali nije bilo značajne razlike između NS i VS djeteta dok kontraktilnost srca nije bila mjerena.

Del Pozzi je sa svojim suautorima vrlo jezgrovito prikazao fiziološku kaskadu reakcija koja nastupa nakon izvođenja ortostaze te pritom može doći do tzv. sindroma posturalne tahikardije (engl. *postural tachycardia syndrome*, POTS) koju smo prihvatili i testirali uporabom VS djeteta. Prema njihovih zapažanjima, ortostatsko opterećenje dovodi do trenutnog smanjenja brzine moždanog protoka krvi s pretpostavkom da rezultirajuća ishemijska hipoksija karotidnog tijela uzrokuje kemorefleksnu aktivaciju, hipokapničku hiperpneju, simpatičku aktivaciju te povećan broj otkucaja srca (170). Posljedična hiperpneja nije bila opažena. Kompenzatorna reakcija simpatikusa putem povišenja srčane frekvencije uočena je podjednako i nakon NS i nakon VS djeteta, a bez značajnijih promjena sistemskih tlakova što je isto moguć uzrok stabilnim vrijednostima moždanog tlaka perfuzije.

Rezultati ove disertacije korak su dalje u istraživanju potencijalnog mehanizma i uključenosti autonomne neuralne kontrole moždanog krvotoka, zajedno s analizom moždane vaskularne reaktivnosti u uvjetima VS prehrane, a pokazala je kako povećan otpor moždane cirkulacije s VS prehranom može doprinijeti očuvanju moždanog protoka krvi.



Simpatički živčani sustav vrlo je važan u kontroli regulacije krvnog tlaka i tkivne perfuzije (171, 172). U ortostazi, ovisno o početnom vaskularnom tonusu, pri promjeni položaja iz sjedećeg u stojeći, dolazi do pada krvnog tlaka nakon 10-15 sekundi pomoću djelovanja kompenzacijskih mehanizama, odnosno simpatičkog živčanog sustava preko arterijskih i kardiopulmonalnih barorefleksa i mišićnog mehanoreceptora, ali i kemoreceptorskih mreža uslijed MA (169). Mancina i Grassi (173) te Mancini i suautori (163) demonstrirali su da postoji značajno prekomjerno izlučivanje noradrenalina u urinu kod pacijenata s hipertenzijom kao i povećana simpatička aktivnost u mišićima (engl. *sympathetic nerve muscle activity*) dok je odgovor krvnog tlaka na noradrenalin značajno smanjen kod hipertenzivnih osoba na NS dijete. Nedavna studija periferne cirkulacije naše istraživačke grupe pokazala je značajno smanjeno izlučivanje kateholamina urinom (noradrenalin, normetanefrin i metanefrin) u 24-satnom urinu uz smanjenu NF 5-minutnu promjenjivost srčane frekvencije PSF-a (engl. *heart rate variability*, HRV) i NF/VF omjer što ukazuje na potisnutu aktivnost simpatičkog živčanog sustava zajedno s oslabljenom perifernom mikrovaskularnom reaktivnošću u zdravih osoba na VS dijete (77). Rezultati ove studije u skladu su s gore navedenim zapažanjima budući da je u ovoj studiji 24-satno izlučivanje metabolita katekolamina (neovisno o ortostatskom podražaju, jer su mjerenja katekolamina napravljena prije samog ortostatskog testa) značajno smanjeno nakon sedmodnevne VS dijetete. Nadalje, simpatički odgovor na ortostazu bio je oslabljen nakon VS dijetete u usporedbi s NS dijetom što ukazuje na fiziološku supresiju simpatičkog dijela kardiovaskularne regulacije VS dijetom. Dinamička regulacija moždanog protoka krvi integrativni je proces koji uključuje više homeostatskih mehanizama (174, 175). Preko simpatičke i vagalne kontrole otkucaja srca i simpatičke kontrole kontraktilnosti miokarda i ukupnog perifernog otpora kod ljudi, arterijski barorefleks ima središnju ulogu održavajući relativno stabilnim gradijent perfuzijskog tlaka u cerebrovaskularnom krvotoku (176). Zhang i suautori (177) pokazali su da MA djeluje na razini krajnjeg organa stabilizirajući MPK-a nasuprot dinamičkim promjenama krvnoga tlaka kroz miogene i neurogene mehanizme. Sinkrono djelovanje arterijskog barorefleksa i MA osigurava stabilnu opskrbu mozga krvlju. U pokusima na životinjama, tj. na štakorima, Shimoura i suautori (178) otkrili su da bi poremećena funkcija baroreceptora mogla biti glavni mehanizam koji pridonosi neurohumoralnoj aktivaciji i posljedičnoj promjeni vaskularnog otpora, ravnoteže natrija i vode te izlučivanja renina. Slično je otkrio Takeda sa svojim suautorima (179) kako, npr., opterećenje soli smanjuje odgovor simpatičkog BRS-a tijekom ortostatskog testa u usporedbi sa smanjenjem soli u zdravih žena u

premenopauzi s prethodno normalnom trudnoćom. Rezultati ovog dijela doktorata u skladu su s gore navedenim istraživanjima budući da se BRS značajno promijenio nakon ustajanja u NS dijete u usporedbi s izostankom promjene BRS-a nakon VS dijete što ukazuje na bolji kompenzacijski SŽS u NS dijete u usporedbi s VS dijete te da su regulatorni SŽS mehanizmi bili potisnuti VS prehranom. SŽS ima učinak na reaktivnost moždanih krvnih žila što je pokazano i na eksperimentalnim životinjskim modelima (180) i na ljudima (181).

Važno je istaknuti kako simpatička kontrola sprječava nagla povećanja MPK-a povezana s hipertenzijom i hiperkapnijom. Neurogena kontrola preuzima regulatornu dominaciju u nepovoljnim situacijama kao što je moždana ishemija ili krvarenje u usporedbi s normalnim fiziološkim stanjima u kojima neurogena kontrola ima mali utjecaj na kontrolu MA u usporedbi s drugim mehanizmima kao što su vazomotorni, kemijski i metabolički (181). Istaknuti nalaz ove studije jest da je VS dijete prigušila BRS, ali je otpor moždane cirkulacije promijenjen tijekom ortostaze što je rezultiralo očuvanim MPK-om i MTP-om, a sve u skladu s prethodnim opažanjima da se kod osoba sa smanjenom baroreceptorskom senzitivnošću MPK-a može očuvati uravnotežujući s relativno učinkovitom MA (174, 182, 183). Doista, neke prethodne studije pokazale su da je BRS obrnuto povezan s MA, npr. muškarci s oslabljenom regulacijom MPK-a imaju veći simpatički BRS, ali i obrnuto (174, 182, 183).

### 6.2. Odgovor moždane i sistemske cirkulacije na test zadržavanja daha

Test zadržavanja daha (engl. *breath hold test*, BHT) neinvazivna je metoda koja se može koristiti u svrhu procjene moždane vaskularne reaktivnosti (MVR), a analize su otkrile da duljina zadržavanja daha i MVR-a nisu nužno povezani (184). Nasuprot metodi BHT-a, kompjuterizirana metoda procjene ciljnog parcijalnog tlaka završnog respiracijskog volumena CO<sub>2</sub> (engl. *End-Tidal CO<sub>2</sub> Partial Pressure*, PETCO<sub>2</sub>) smatra se superiornijom metodom zbog prednosti dostizanja ciljne razine PETCO<sub>2</sub> unutar nekoliko udisaja te zadržavanja postignute razine i umanjivanja međusubjektne varijabilnosti, no unatoč svim prednostima, metoda je skupa i time slabije dostupna (185). Feiner i suautori pokazali su kako periferni kemoreceptori daju najveći doprinos trajanju zadržavanja daha (186), koju je kasnije potvrdila i skupina vođena Trembachom (187). Dok se testiranje metodom BHT-a kod bolesnih osoba često provodi u kraćem trajanju (npr. 10, 15 ili 20 sekundi) (188), kod zdravih se ispitanika učinak može očekivati pri trajanju od 30 sekundi. Ako bi

se test izvodio mimo zadanih uputa, koristeći se Valsalvinim ili Mullerovim manevrom, interpretacija dobivenih rezultata bi mogla biti otežana (189).

Očekivano, izvođenjem BHT-a i postizanjem hiperkapnije, postignuta je razlika u MPK-u, s obzirom na to da je porast PaCO<sub>2</sub> vrlo snažan provocirajući čimbenik za izazivanje moždane vazodilatacije. Hiperkapnija izaziva moždanu vazodilataciju i povećava MPK, a hipokapnija izaziva moždanu vazokonstrikciju i smanjuje MPK (190). Budući da je vaskularni odgovor na vazodilatator u mozgu s nedovoljnim tlakom moždane perfuzije smanjen autoregulacijskom vazodilatacijom, hiperkapnija se može upotrijebiti za procjenu rezerve moždane perfuzije u okluzivnoj cerebrovaskularnoj bolesti (191). Ito i suautori su proveli istraživanje na devet osoba u kojem su koristili stanja hiperkapnije i hipokapnije za proučavanje nedovoljno istraženog odnosa MPK-a i volumena moždane krvi (VMK). Uz poznati učinak hiperkapnije koja izaziva moždanu vazodilataciju i povećava MPK, a hipokapnije koja izaziva moždanu vazokonstrikciju i smanjuje MPK, povećanje MPK-a bilo je veće od povećanja VMK-a tijekom hiperkapnije, što ukazuje na povećanje vaskularne brzine krvi. Nadalje, odnos između promjena MPK-a i VMK-a tijekom hiperkapnije bio je sličan onom tijekom neuralne aktivacije (192). Perry i suautori pokazali su kako je regulacija moždane cirkulacije dodatno komplicirana interakcijom između srednjeg arterijskog tlaka (SAKT) i PaCO<sub>2</sub> pri čemu hiperkapnija povećava simpatičku aktivnost i podiže krvni tlak putem kemorefleksa. Dok je većina uočenog povećanja MPK-a posljedica izravnog vazoaktivnog učinka CO<sub>2</sub>, vazodilatacija izazvana hiperkapnijom smanjuje učinkovitost dinamičke moždane regulacije i posljedično sposobnost obrane od dinamičkih promjena u moždanom tlaku perfuzije (MTP) (190). Prema tome, povišenje MTP-a posredovano kemoreceptorima povećava brzinu protoka krvi u srednjoj moždanoj arteriji (SMA) iznad one izazvane samo hiperkapničkom vazodilatacijom (193) preko pasivnog efekta tlaka (194).

U skladu s našim rezultatima, i Battisti-Charbonney sa svojim je suautorima pokazao kako ispod određene razine CO<sub>2</sub> krvni tlak nije promijenjen, ali se protok krvi povećava kao odgovor na CO<sub>2</sub>. Taj je odgovor imao sigmoidni oblik u centralnom dijelu, a iznad praga te su protok krvi i tlak porasli s porastom CO<sub>2</sub> (194). Ispitivanje reaktivnosti u odgovoru na promjene PaCO<sub>2</sub> postaje sve popularnije u kliničkoj evaluaciji cerebrovaskularne bolesti (195). U bolesnika s poznatom cerebrovaskularnom bolešću pokazalo se da promjene SAKT-a utječu na rezultate testova reaktivnosti CO<sub>2</sub> (196). Promjene krvnog tlaka iz dana u dan stoga mogu pridonijeti varijabilnosti u mjerenjima reaktivnosti na promjene PaCO<sub>2</sub> unutar pojedinog pacijenta, a ista

studija navodi i kako se čak i blagu hiperkapniju treba izbjegavati ako se pokušava očuvati MA (197). Vrijednost OMC-a smatramo osnovnom mjerom cerebrovaskularne reaktivnosti (198). Singht i suautori ukazali su na činjenicu kako hiperkapnija dovodi do povećanog MPK-a i poremećaja autoregulacije promjenom OMC-a uz proučavanje učinka hiperkapnije na kritični tlak zatvaranja, odnosno MTP i produkt područja otpora (engl. *resistance area product*) (199) koji učinkovito odražavaju ulogu vaskularnog tonusa i otpora u mijenjanju cerebrovaskularnog otpora i održavanju MA tijekom prolazne hipotenzije. U istraživanju na uzorku od 26 ljudi na kraju su zaključili kako hiperkapnija dovodi do oštećenja miogene komponente autoregulacije tijekom prolaznih promjena arterijskog krvnog tlaka kao što sugerira oslabljeni produkt područja otpora (199). U kontekstu naših rezultata, može se zaključiti kako je fiziološki obrazac isti jer se i u istraživanju u ovom doktoratu prati smanjenje otpora moždane cirkulacije (OMC) u odgovoru na hiperkapniju izazvanu zadržavanjem daha. Uz to, BHT je doveo do očekivano značajno povišenih vrijednosti MPK-a, VTI-ja kao i SMPK-a i DMPK-a, a nepromijenjeni su ostali MTP i IMP i pri NS i VS uvjetima prehrane. Hiperkapnija je u sustavnoj hemodinamici rezultirala značajno smanjenom SF-om, SMV-om i ISMV-om. UV je porastao samo uslijed NS dijete, a njegov indeks IUV uslijed obiju dijeta. Vrijednosti SKT-a, DKT-a i SAKT-anisu se značajno promijenile, kao ni UPO i IUPO. VS dijeta nije značajno utjecala na moždanu hemodinamiku u odgovoru na hiperkapniju izazvanu BHT-om u usporedbi s početnom vrijednošću (razlika između BHT-a i početne vrijednosti). Dodatna analiza odgovora systemske hemodinamike na hiperkapniju u usporedbi s osnovnim vrijednostima (promjena između BHT-a i početne vrijednosti u uvjetima NS i VS dijete) pokazala je da se tijekom BHT-a SF, UV i IUV ta razlika smanjila.

Proučavajući učinak akutne hiperkapnije i acidoze na parametre kardiovaskularnog sustava, Stengl i suautori pokazali su pokusima na svinjama kako hiperkapnijska acidoza dovodi do povećanja SAKT-a u systemskoj cirkulaciji, a smanjuje UPO što u ovom doktoratu nije uočeno u odgovoru na hiperkapniju, a može biti dijelom i zbog toga što našim postupkom hiperventilacije nismo izazvali odgovarajući stupanj acidoze (200). Premda je u istome radu, ali i u nekim drugim radovima (201) došlo do povišenja vrijednosti srčane frekvencije nakon hiperkapnije, za razliku od ovog istraživanja, gdje se bilježi suprotno, tj. sniženje vrijednosti, navedeno se može objasniti time što je navedeni istraživački tim radio mjerenja 30 minuta nakon kontinuiranog postizanja hiperkapnije udisanjem odgovarajuće mješavine plina, a u protokolu rabljenom u ovoj disertaciji metodom se zadržavanja daha od 30 sekundi postizao kratkotrajni učinak hiperkapnije pri čemu je

došlo do sniženja srčane frekvencije, neovisno o provedenom protokolu soli. Smanjenje srčane frekvencije u ovom je istraživanju najvjerojatnije odgovor na samo zadržavanje daha, a ne na učinak izazivanja hiperkapnije, kao što je pokazano u istraživanju Parkesa (202). Vrijednosti srčanog minutnog volumena (SMV), odnosno izračunatog indeksa, snizile su se nakon oba protokola konzumacije soli što je u skladu s navedenim u radu Pauleva i Weterquista (203) koji su pokazali kako, prilikom zadržavanja daha, stupanj Valsavinog manevra (postizanja povišenog intrapulmonalnog tlaka) može smanjiti vrijednosti SMV.

Možemo zaključiti kako je test zadržavanjem daha postigao očekivani, fiziološki učinak izazivanja hiperkapnije pri čemu su promjene vrijednosti parametara pratile fiziološka načela uz zabilježene niže vrijednosti MPK, no bez značajne razlike između NS i VS dijete.

### 6.3. Odgovor moždane i sistemske cirkulacije na podražaj hiperventilacijom

Testom hiperventilacije izazvali smo hipokapniju, koja je, premda možda manje snažan podražaj centralnih središta u usporedbi s hiperkapnijom, i dalje odgovarajući provocirajući čimbenik za promjene u vaskularnom odgovoru. Hiperventilacija se provodila u trajanju od 30 sekundi što se može nazivati standardnom metodom koja je opisana prije više od 50 godina (204 - 206). Hipokapnička hiperventilacija ima jak, ali vjerojatno privremen, učinak na MPK, što dovodi do približno 2 % pada MPK-a za svaki pad od 1 torra (oko 133,32 Pascala), a posljedične promjene pripisivale su se promjeni pH oko otporničkih moždanih krvnih žila (207). Ovaj neposredni vaskularni učinak uzrokovan je pH-ovisnim suženjem prekapilarnih otporničkih žila i, prema Kontosovoj teoriji, lokalna acidoza izazvana hiperkapnijom prilikom izlaganja moždane površine CO<sub>2</sub> ili kiselim otopinama dovodi do vazodilatacije moždanih krvnih žila, a sve bez promjene u PaCO<sub>2</sub> arterijske krvi (208).

Rezultati ovog istraživanja pokazali su snižavanje vrijednosti MTP-a, VTI-ja, SMPK-a i DMPK-a, podjednako i nakon NS i nakon VS protokola. Povišena vrijednost poslije navedenog podražaja zabilježena je i kod IMP-a te OMC-a. U sistemske hemodinamici, vrijednosti SF-a, SMV-a i ISMV-a promjenile su se pri NS i VS prehrani rezultirajući višim vrijednostima nakon primjene soli. Hiperventilacija je izazvala značajno sniženje vrijednosti SKT-a, DKT-a kao i SAKT-a, a isto se uočava i kod UPO-a i IUPO-a. UV, baš kao i vrijednosti IUV-a, nisu značajnije promijenjene nakon hiperventilacije.

Hiperventilacija ima značajne učinke na moždanu fiziologiju, uključujući moždani protok krvi, volumen krvi i metaboličku aktivnost (91). Smanjenje MPK-a povezano s hiperventilacijom može dovesti do suboptimalne ili nedovoljne moždane perfuzije, ali i do posljedičnog smanjenja ukupnog intrakranijskog tlaka. Bez obzira na očit utjecaj navedenog podražaja, posljedice utjecaja hiperventilacije na moždanu metaboličku aktivnost tek treba utvrditi (91).

Vaskularne promjene u smislu snižavanja MPK-a i intrakranijskog tlaka koja slijede hipokapniju izazvanu hiperventilacijom, dovele su do toga da se hiperventilacija rabi u terapijske svrhe nakon akutnih, pretežito traumom izazvanih, intrakranijskih promjena (16, 209). Rezultati ovog doktorata pokazali su da hiperventilacija izaziva snižavanje vrijednosti MPK-a te SMK-a i DMK -a, no ostaje djelomično neobjašnjeno zašto konzumacija soli nije značajnije utjecala na vrijednosti moždane i sistemske vaskularne reaktivnosti i hemodinamike, premda su istraživanja na animalnim modelima pokazala da konzumacija velikih količina soli narušava regulaciju moždanog protoka krvi mjereno smanjenjem MA (1) i smanjenom dilatacijom SMA izazvanom protokom (78). i suautori objašnjavaju kako bi jedan od uzroka izostanka očitije promjene cerebrovaskularne reaktivnosti u odgovoru na hiperventilaciju i BHT mogao biti što su glodavci četveronošci, a ljudi dvonošci s obzirom na to da četveronožni mozak nije pogođen ortostatskim promjenama kao što je to ljudski mozak. Moguće je da su razlike u rezultatima prisutne i zbog metode mjerenja jer se postupak mjerenja dinamičke MA temeljio na fluktuacijama tlaka izazvanim podražajima, a ne tijekom inducirane hipotenzije što je bio slučaj u animalnim modelima (210).

Povećanje broja otkucaja srca kao reakcija na fizički ili psihički stres odražava sposobnost autonomnog živčanog sustava i srca da adekvatno reagiraju na podražaj. Hiperventilacija je manevar disanja pod kontrolom osobe koja ga izvodi te ima značajan utjecaj na koronarnu funkciju i hemodinamiku (211). Naime, porast broja otkucaja srca itekako je dobar pokazatelj kako ispitanici imaju dobar kapacitet odgovora autonomnog živčanog sustava na stresnu situaciju poput izazivanja hipokapnije. Kod bolesnika koji pate od srčanih bolesti ključna je patofiziološka promjena povećanje simpatičke aktivnosti, a smanjenje parasimpatičke aktivnosti što bi nakon transplantacije srca moglo doprinijeti prigušenom odgovoru srčanih otkucaja (212). S druge strane, smanjena se autonomna funkcija javlja s godinama, odnosno prilikom normalnog starenja (213). Fontana i suautori iznijeli su zanimljivu teoriju kako pacijenti s hipertenzijom koji na hiperventilaciju reagiraju sniženjem krvnog tlaka imaju visoke vrijednosti krvnog tlaka i srčanog

ritma što ukazuje na bazalnu simpatoadrenergičku hiperaktivnost, dok pacijenti koji na hiperventilaciju reagiraju povećanjem krvnog tlaka imaju normalnu PRA koja se dovodi u isti kontekst s nižim razinama krvnog tlaka i srčanog ritma (214). U tom slučaju kod bolesnih ispitanika moguć je suprotan odgovor sistemskog krvnoga tlaka na hiperventilaciju nego što je opažen u ovom doktoratu, ali se u obzir mora uzeti PRA koju bi bilo potrebno analizirati neposredno nakon podražaja što je tehnički bilo vrlo izazovno provesti u ovoj studiji. U ovoj studiji dobivena razlika barorefleksnog odgovora tijekom hiperventilacije može biti mehanizam koji olakšava istodobna povećanja krvnog tlaka, otkucaja srca i simpatičke aktivnosti tijekom dinamičke vježbe i aktivacije kemoreceptora, tj. pridonosi održavanju balansa. U nekim je istraživanjima voljna hiperventilacija bila povezana s predominacijom simpatikusa i porastom indeksa srčanog minutnog volumena (ISMV) u zdravih dobrovoljaca, no takve promjene nisu zabilježene kod bolesnika sa srčanim zatajenjem (215). To je u skladu i s rezultatima ove disertacije u kojima se bilježi porast ISMV-a nakon NS i VS dijetе. S druge strane, pad vrijednosti BRS-a ove studije u skladu je s opažanjima prethodno spomenute studije Spiesshoefera kod zdravih ispitanika, s tim da se u ovoj studiji nakon VS dijetе bilježi manji pad što može biti slične podloge kao i izostanak pada kod njihovih ispitanika sa srčanim bolestima. Slične vrijednosti poput prikazanih u ovom istraživanju dobio je i Alexapoulos testiravši hemodinamske parametre zdravih ispitanika u odgovoru na hiperventilaciju (216), a zanimljivo je da je kod osoba koje su netom pušile očekivana razlika u vrijednostima srčane frekvencije i sistemskog krvnoga tlaka nakon podražaja hiperventilacijom ipak manje izražena nego što je kod kroničnih pušača što govori o tome da akutno pušenje povisuje krvni tlak stimulacijom simpatičkih ganglija, otpuštanjem norepinefrina i vazokonstrikcijom, a kronična stimulacija simpatičkog živčanog sustava nikotinom može rezultirati nižom regulacijom adrenergičkih receptora i naknadnom smanjenom reakcijom kardiovaskularnog sustava na akutne podražaje simpatičkog živčanog sustava kao što je hiperventilacija. Možda bi se slična patofiziološka podloga mogla primijeniti i u kontekstu akutnog izlaganja velikim dozama soli u odnosu na kontinuirano visoke doze soli u svakodnevnoj prehrani, no takav učinak prilikom primjene visoke doze soli u ovoj studiji nije zabilježen.

S obzirom na gore navedeno, izračunate su vrijednosti PSF-a i baroreceptorskog odgovora pri podražaju hiperventilacije i analiziran učinak prekomjernog unosa soli na te vrijednosti.

Općenito, značajke PSF-a odražavaju simpatičku živčanu aktivnost niskofrekventnom komponentnom (NF) kao odraz srčanih i vaskularnih promjena, dok je komponenta visoke

frekvencije (VF) odraz aktivnosti vagusa koje se odvijaju nakon udahom izazvanog povećanog venskog povratka tako da NF/VF omjer upućuje na simpato-vagalnu ravnotežu (217). U NS dijete hiperventilacija nije uzrokovala značajniji pad vrijednosti NF/VF, odnosno nije uzrokovala značajniju promjenu simpatičke aktivnosti dok se kod VS ta vrijednost (NF/VF) značajno smanjila. To pokazuje kako je unos soli utjecao na simpato-vagalnu ravnotežu značajno smanjujući simpatičku aktivnost. Može se objasniti i time da se povisila aktivnost parasimpatikusa, no to je u ovom slučaju teško odvojiti jedno od drugoga. Važno je naglasiti da niskoslani protokol nije, a visokoslani protokol jest, utjecao na odgovor simpatikusa. Povezanost hiperventilacije i odgovora simpatikusa mogla bi biti u centralizaciji krvotoka pri stanju hipokapnije i može se smatrati da je odgovor simpatikusa ovdje poželjan, dok se izostanak očekivanog simpatičkog odgovora u smislu pada vrijednosti NF/VF može smatrati negativnim učinkom primjene soli (77).

Poznato je da disanje ima utjecaj i na baroreceptore i to tako da baroreceptorski podražaji početkom i sredinom udaha imaju mali, inhibicijski učinak na sinusni čvor, a na kraju udaha dovode do velike inhibicije (218). Katona i suautori su još davnih dana utvrdili prestanak eferentne srčane vagalne aktivnosti prije inspiratorne aktivnosti motoneurona koja se nastavlja sve do prestanka iste aktivnosti (219). Naši su rezultati sukladni spomenutim spoznajama te su vrijednosti BRS-a značajno pale prilikom podražaja hiperventilacije. Prigušeni barorefleksni odgovor tijekom hiperventilacije može biti mehanizam koji olakšava istodobnu interakciju vrijednosti krvnog tlaka, povećanja otkucaja srca i simpatičke aktivnosti tijekom tog dinamičkog procesa i aktivacije kemoreceptora (220).

Hiperventilacija je u sistemske cirkulaciji, i u NS i u VS, izazvala povišenje SF-a, sniženje svih sistemskih tlakova (SKT-a, DKT-a, SAKT-a), povišenje SMV-a i ISMV-a, a sniženje vrijednosti UPO-a i IUPO-a. Pretpostavlja se da hiperventilacija povećava periferni arteriolarni otpor u zdravih pojedinaca, a premda nije posve istraženo, predloženi bi mehanizam bio da hiperventilacija rezultira hipokapničkom alkalozom s redukcijom vodikovih iona koji su snažni antagonisti kalcija, a njihovo je smanjenje praćeno povećanjem slobodnog ioniziranog kalcija u stanicama i posljedičnom vazokonstrikcijom (216). S druge strane, neki autori daju prednost teoriji kako hiperventilacijom izazvano smanjenje PaCO<sub>2</sub> uzrokuje smanjenje SAKT-a, kao izravan periferni vazodilatacijski učinak hipokapnije, a ne refleksni ili centralno posredovani mehanizam, a u tom su stilu Burnum i suautori pokazali kako hipokapnija djeluje izravno na krvne žile dovodeći



do neto vazodilatacije i pada krvnog tlaka pri čemu u tom učinku ne posreduje živčani sustav kao što se obično pretpostavlja (221) .

Koji god mehanizam prevladavao u podlozi, hiperventilacijom smo dobili očekivane, fiziološke odgovore parametara sistemske cirkulacije, no bez vidljivih promjena između dijetnih protokola. BRS je značajno pao u oba, a omjer NF/VF u VS dijete što je i očekivano.

### 6.4. Odgovor moždane i sistemske cirkulacije na podražaj hiperoksijom

Promjene moždane i periferne hemodinamike u ovom doktoratu u odgovoru na hiperoksiju bile su: pad vrijednosti MPK-a, SMPK-a, DMPK-a te povišenje vrijednosti IMP-a u moždanoj cirkulaciji, a pad vrijednosti SF-a te SMV-a i ISMV-a (sve navedeno u NS i VS dijete). Poznato je da je udisanje 100 %-tnog kisika pri normalnom, atmosferskom tlaku povezano sa smanjenjem moždanog protoka krvi (MPK) (148, 222). Navedeno je popraćeno padom arterijskog parcijalnog tlaka CO<sub>2</sub> (PaCO<sub>2</sub>), a to dovodi do pitanja je li moždana vazokonstrikcija potpuno ili samo djelomično uzrokovana arterijskom hipokapnijom ili hiperoksijom. Floyd i suautori testirali su hipotezu da povećanje arterijskog PaO<sub>2</sub> za vrijeme udisanja kisika smanjuje MPK-a neovisno o istodobnom padu arterijskog PaCO<sub>2</sub> (222). Normalna interakcija respiratorne i moždane cirkulacijske kontrole povezane s CO<sub>2</sub> uzrokuje da su istodobni učinci hiperoksije i arterijske hipokapije fiziološki neodvojivi. Povezanost ovih učinaka pripisuje se hiperventilaciji izazvanoj zadržavanjem CO<sub>2</sub> u respiratornim kontrolnim centrima što je pak uzrokovano smanjenim kapacitetom prijenosa CO<sub>2</sub> oksihemoglobinom u kombinaciji s visokim koncentracijama fizički otopljenog O<sub>2</sub> (222).

Hegeduš i suautori proučavali su utjecaj primjene kisika kod oboljelih od moždanog udara na srednju brzinu moždanog protoka SBMP-a (engl. *mean blood flow velocity*, MBFV) te su došli do zaključaka kako su zdravi pacijenti prije primjene hiperoksije imali više vrijednosti SBMP nego pacijenti s moždanim udarom (s DM-om i bez DM-a), potom kako su pacijenti s moždanim udarom (s DM-om i bez DM-a) imali više vrijednosti SBMP-a što odgovara paradoksalnoj vazodilataciji te niže vrijednosti SBMP-a nakon primjene 100 %-tnog kisika u zdravih pacijenata u usporedbi s pretpodražajnim stanjem bez primjene kisika. Potonje opisano gledamo kao fiziološku vazokonstrikciju zdrave vaskulature u odgovoru na visoki PaO<sub>2</sub>. Poremećeni odgovor na visoki PaO<sub>2</sub> u bolesnika s moždanim udarom može se pojaviti zbog smanjene osjetljivost na TXA<sub>2</sub> ili povećanu osjetljivost na PGI<sub>2</sub> u skupini oboljelih od dijabetes melitusa. U tom je

istraživanju potvrđena hipotezu kako je cerebrovaskularna reaktivnost SMA u odgovoru na hiperoksiju poremećena u akutnih bolesnika s moždanim udarom, tj. dolazi do paradoksalne vazodilatacije, što se može smatrati pozitivnim zaštitnim odgovorom s ciljem ublažavanja daljnjeg oštećenja ishemijom zahvaćenog moždanog parenhima. Navedeno je u suprotnosti s vazokonstrikcijom koju razvija zdrava vaskulatura (148). Premda Gargadennec i suautori nisu u potpunosti razjasnili odnos MPK-a i hiperoksije, uočili su blago smanjenje intrakranijskog tlaka nakon udisanja 100 %-tnog kisika, što bi bilo u prilog dobrih autoregulacijskih mehanizama koji rezultiraju vazokonstrikcijom u odgovoru na povišeni tlak kisika, kako bi se održala stalna isporuka kisika moždanom tkivu (223, 224). To je u skladu s rezultatima sniženih vrijednosti sistoličkog i dijastoličkog moždanog protoka krvi prikazanima u ovom doktoratu. Za razliku od brojnih radova o utjecaju hipoksije (pogotovo u fetalnoj i novorođenačkoj skupini), nema puno radova koji su proučavali indeks moždane pulzatilnosti u odnosu na hiperoksiju (225). S obzirom na to da je indeks moždane pulzatilnosti (IMP) mjera distalnog vaskularnog otpora (225), smatra se kako može biti nižih vrijednosti kada postoji kompenzatorna distalna vazodilatacija nakon hipoperfuzije uzrokovane vazospazmom velikih žila (226). U kontekstu naših podataka povišenih vrijednosti IMP-a, to može sugerirati određeni stupanj vazokonstrikcije uslijed hiperoksičnog podražaja.

Za razliku od nepromijenjenih sistemskih vrijednosti krvnoga tlaka nakon stanja hiperoksije, što su u svome istraživanju na 19 ispitanika pokazali i Sinski i suautori (227), vrijednosti srčane frekvencije su se značajno snizile i kod NS i VS dijete što pokazuju rezultati istraživanja prikazani u disertaciji. To je u skladu s njihovim rezultatima kod kojih se srčani puls snizio već od 2. minute hiperoksije i ostao nižih vrijednosti sve do 15. minute istraživanja. Premda nije došlo do promjena sistemskog krvnoga tlaka kod normotenzivnih, studije pokazuju kako do promjena dolazi kod hipertenzivnih ispitanika (228). Uzrok tomu nije u potpunosti jasan, a moguće je da krvni tlak pada u hipertenzivnih bolesnika zbog inhibicije kemorefleksa karotidnog tijela koji je pojačan u hipertenzivnih osoba, ali ne i u normotenzivnih osoba (229). U skladu s našim rezultatima, postoje studije koje su također zabilježile neupadljive razlike sistemskog krvnoga tlaka nakon primjene kisika (230, 231). U istoj su studiji Bak i suautori zaključili i kako je povećanje UPO uzrokovano hiperoksijom kompenzirano smanjenom SF (230). U našim vrijednostima nisu zabilježena značajnija odstupanja od osnovnih vrijednosti UPO-a nakon primjene kisika.

Možemo se složiti s hipotezom kako su sistemske vrijednosti krvnoga tlaka ostale nepromijenjene kao rezultat antagonističkih mehanizama u kojima hiperoksija utječe na perifernu

vaskulaturu i to promjenom toničke aktivnosti kemoreceptora što uzrokuje smanjenje UPO te izravnim učinkom visokog PaO<sub>2</sub> koji povećava UPO. Analizirajući promjenu, odnosno razliku vrijednosti sistemske cirkulacije (nakon i prije primjene kisika), nije uočen utjecaj kratkotrajne primjene visoke doze soli na mjerene parametre.

### 7. ZAKLJUČCI

Temeljem provedenog istraživanja i dobivenih rezultata mogu se izvesti sljedeći zaključci:

1. Svi ispitanici ostali su normotenzivni nakon primjene sedmodnevnog protokola visoko slane dijeta.
2. Visokoslana je dijeta djelomično utjecala na vrijednosti katekolamina i njegovih metabolita u 24-satnom urinu uzrokujući značajno sniženje vrijednosti noradrenalina i vanilmandelične kiseline u odnosu na niskoslanu dijetu.
3. Moždani protok krvi (MPK) ostao je očuvan u uvjetima VS dijeta u svim podražajima.
4. Zabilježena je značajna promjena otpora moždane cirkulacije (OMC-a) nakon ustajanja u sklopu ortostatskog testa u protokolu VS dijeta što sugerira da je VS dijeta promijenila odgovor moždane vaskulature čemu je MPK ostao očuvan u periodu nakon VS dijeta zahvaljujući pojačanoj moždanoj autoregulaciji.
5. Visokoslana dijeta uzrokovala je prigušenje odgovora simpatikusa mjereno NF/VF te smanjenje baroreceptorske osjetljivosti u odnosu na niskoslanu dijetu.
6. MPK je slijedio očekivani fiziološki obrazac promjena u odgovoru na ortostazu, hiperkapniju izazvanu testom zadržavanja daha, hipokapniju izazvanu hiperventilacijom te hiperoksiju udisanjem 100 %-tnog kisika. Međutim, konzumacija VS dijeta nije uzrokovala značajne promjene u razlici vrijednosti između podražaja i mirovanja.
7. U konačnici, VS dijeta mijenja moždanu i perifernu vaskularnu reaktivnost na neke fiziološke podražaje, međutim, kod mladih zdravih ispitanika nema očekivan akutno štetan utjecaj u smislu poremećaja fizioloških regulatornih mehanizama.

## 8. SAŽETAK

**Cilj istraživanja:** Svrha je rada istražiti može li primjena kratkotrajne visokoslane dijetete utjecati na cerebrovaskularnu reaktivnost i sistemska hemodinamiku kod mladih zdravih ispitanika, u odgovoru na fiziološke podražaje (ortostatski test, hiperkapniju (test zadržavanja daha, BHT), hipokapniju izazvanu hiperventilacijom i hiperoksiju).

**Nacrt studije:** Kontrolirana intervencijska studija u kojoj su svi ispitanici u istom protokolu, s ponovljenim istovjetnim mjerenjima.

**Ispitanici i metode:** Dvadeset je sedam osoba (Ž:21, M:6, dobni raspon 19-24) bilo na sedmodnevnoj dijeti s malo soli (NS; <2,3 g NaCl/dan), a nakon toga sedmodnevnoj visokoslanjoj dijeti (VS; >11,2 g NaCl/dan). Nakon oba dijetna protokola analizirani su krv i urin te su provedena antropometrijska mjerenja. Arterijski krvni tlak, otkucaji srca, promjenjivost srčane frekvencije, moždani i sistemski hemodinamski parametri mjereni su istovremeno s transkranijalnim dopplerskim ultrazvukom i The Task Force® Monitorom, prije i nakon navedenih podražaja.

**Rezultati:** Ispitanici su ostali normotenzivni tijekom oba dijetna protokola. U odgovoru na ortostatski test, smanjile su se vrijednosti moždanog protoka krvi (MPK), dijastoličkog moždanog protoka krvi (DMPK) i integrala brzine u vremenu (VTI). Povećale su se vrijednosti indeksa moždane pulzabilnosti (IMP) oba puta, a vrijednosti otpora moždane cirkulacije (OMC) kod VS dijetete. U sistemska se cirkulaciji povećao srčani minutni volumen (SMV), a smanjio ukupni periferni otpor (UPO). Uslijed hiperkapnije značajno su povećane vrijednosti MPK-a, VTI-a, DMPK-a i sistoličkog moždanog protoka krvi (SMPK), a smanjene vrijednosti OMC-a. Bilježi se značajan pad srčane frekvencije (SF) nakon oba puta. Porast udarnog volumena (UV) značajan je u NS, a u NS i VS pad SMV-a i indeksa SMV (ISMV). Hipokapnija je dovela do pada tlaka moždane perfuzije (MPT), MPK-a, VTI-ja, DMPK-a, SMPK-a, a porasta vrijednosti OMC-a i IMP-a, kao i porasta SF-a, SMV-a i ISMV-a, a pada vrijednosti sistemskih tlakova te UPO-a i IUPO-a. Hiperoksija je dovela do nižih vrijednosti moždanih tlakova, povećanog IMP, sistemski niže SF, SMV i ISMV. Koncentracije noradrenalina i vanililmandelične kiseline u urinu smanjene su kod VS dijetete. Visokoslanja dijeta uzrokovala je prigušenje odgovora simpatikusa mjereno NF/VF te slabljenje baroreceptorskog odgovora u odnosu na niskoslanu dijetetu kod ortostatskog podražaja i kod hiperventilacije.

**Zaključak:** Rezultati sugeriraju da je MPK bio očuvan kod VS dijete. Održan MPK kod VS dijete dio je cerebrovaskularnog odgovora s promjenom otpora, prigušenim BRS i simpatičkom aktivnošću na ortostatski test. Osim porasta UV u NS kod BHT, u ostalim provokacijskim testovima nema razlike u fiziološkom odgovoru između NS i VS dijete. Međutim, simpatički odgovor je prigušen, ne samo u ortostazi, nego i u hiperventilaciji kod VS dijete.

**Ključne riječi:** NaCl, unos soli, transkranijski dopplerski ultrazvuk, ortostatska promjena, test zadržavanja daha, hiperkapnija, hipokapnija, moždana autoregulacija

## 9. SUMMARY

**The influence of a short-term high diet on changes in cerebrovascular reactivity to certain stimuli in young healthy subjects**

**Objectives:** The purpose of the paper is whether it is possible to apply a short-term high-salt (HS) diet to influence indicators of cerebrovascular reactivity in young healthy subjects, in response to selected physiological research stimuli (orthostatic test, hypercapnia induced by breath hold test, hypocapnia induced by hyperventilation and hyperoxia).

**Study Design:** The study was designed as a controlled intervention study in which all subjects were subjected to the same protocol, with repeated identical measurements.

**Participants and methods:** In the end, 27 people participated in the research (Female: 21, Male: 6, age range 19-24). Participants were on a 7-day low-salt diet (low salt LS; <2.3 g table salt/day), followed by a 7-day HS diet (>11.2 g table salt/day). After each weeks, blood and urine analyzes and anthropometric measurements were performed. Arterial blood pressure, heart rate (HR) and heart rate variability, cerebral and systemic hemodynamic parameters were recorded simultaneously with transcranial Doppler ultrasound and The Task Force® Monitor, before and after the mentioned stimuli.

**Results:** The subjects remained normotensive during both weeks of measurement. After orthostatic changes, mean cerebral blood flow (CBF), diastolic cerebral blood flow (DCBF) and velocity time integral (VTI) values decreased in both protocols, while cerebrovascular resistance (CVR) values increased in LS and cerebral pulsatility index (CPI) during both diets. In the systemic circulation, the cardiac output (CO) increased and the total peripheral resistance (TPR) decreased. As a result of hypercapnia, CBF, VTI, DCBF and systolic cerebral blood flow (SCBF) values were significantly increased, and CVR was reduced. A significant decrease in HF was after each measure. The increase in SV is significant in LS, and in LS and HS the drop in cardiac output (CO) and the cardiac index (CI). Hypocapnia led to a decrease in cerebral perfusion pressure (CPP), CBF, VTI, DCBF, SCBF, and an increase in CVR and CPI values, as well as an increase in SF, CO and CI, and a decrease in values of systemic pressures as well as TPR and TPRI. Hyperoxia led to lower values of cerebral pressures, increased CPI, and systemic lower HR, CO and CI. The concentration of noradrenaline and vanillylmandelic acid in urine is reduced in HS. A HS diet

caused an attenuation of the sympathetic response measured by low frequency/high frequency ratio and an attenuation of the baroreceptor response compared with a LS diet during orthostatic stimulation and hyperventilation.

**Conclusion:** The results suggest that MPK in response to the orthostatic test was preserved in the HS diet, with altered cerebrovascular resistance and dampened BRS and sympathetic activity.

With exception of the increase of SV in LS after BHT, in other provocation tests there was no difference in the physiological response between the NS and VS diet. However, the sympathetic response is dampened, not only in orthostasis, but also in hyperventilation in the HS diet.

**Key words:** salt load, transcranial Doppler ultrasound, orthostatic change, breath hold test, hypercapnia, hypocapnia, cerebral autoregulation



## 10. LITERATURA

1. Allen LA, Schmidt JR, Thompson CT, Carlson BE, Beard DA, Lombard JH. High salt diet impairs cerebral blood flow regulation via salt-induced angiotensin II suppression. *Microcirculation* 2019;26:e12518. <https://doi.org/10.1111/micc.12518>.
2. Kadojić D, Mihaljević I. Incidence of Stroke and Transient Ischemic Attack in Croatia: A Population Based Study. *Coll Antropol* 2015.
3. Arboix A. Cardiovascular risk factors for acute stroke: Risk profiles in the different subtypes of ischemic stroke. *World J Clin Cases* 2015;3:418–29. <https://doi.org/10.12998/wjcc.v3.i5.418>.
4. O'Donnell MJ, Chin SL, Rangarajan S, Xavier D, Liu L, Zhang H, et al. Global and regional effects of potentially modifiable risk factors associated with acute stroke in 32 countries (INTERSTROKE): a case-control study. *The Lancet* 2016;388:761–75. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)30506-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)30506-2).
5. Lackland DT, Roccella EJ, Deutsch AF, Fornage M, George MG, Howard G, et al. Factors Influencing the Decline in Stroke Mortality. *Stroke* 2014;45:315–53. <https://doi.org/10.1161/01.str.0000437068.30550.cf>.
6. Mensah GA, Wei GS, Sorlie PD, Fine LJ, Rosenberg Y, Kaufmann PG, et al. Decline in Cardiovascular Mortality. *Circulation Research* 2017;120:366–80. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.116.309115>.
7. Goldstein LB. Introduction for Focused Updates in Cerebrovascular Disease. *Stroke* 2020;51:708–10. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.119.024159>.
8. Singhal AB, Biller J, Elkind MS, Fullerton HJ, Jauch EC, Kittner SJ, et al. Recognition and management of stroke in young adults and adolescents. *Neurology* 2013;81:1089–97. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e3182a4a451>.
9. Chung J, Park SH, Kim N, Kim W, Park JH, Ko Y, et al. Trial of ORG 10172 in Acute Stroke Treatment (TOAST) Classification and Vascular Territory of Ischemic Stroke Lesions Diagnosed by Diffusion-Weighted Imaging. *Journal of the American Heart Association* n.d.;3:e001119. <https://doi.org/10.1161/JAHA.114.001119>.

10. Kissela BM, Khoury JC, Alwell K, Moomaw CJ, Woo D, Adeoye O, et al. Age at stroke: temporal trends in stroke incidence in a large, biracial population. *Neurology* 2012;79:1781–7. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e318270401d>.
11. Putaala J. Ischemic stroke in the young: Current perspectives on incidence, risk factors, and cardiovascular prognosis. *Eur Stroke J* 2016;1:28–40. <https://doi.org/10.1177/2396987316629860>.
12. Burke JF, Skolarus LE. Are More Young People Having Strokes?—A Simple Question With an Uncertain Answer. *JAMA Neurology* 2017;74:639–41. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2017.0161>.
13. Magder S. The meaning of blood pressure. *Crit Care* 2018;22:257. <https://doi.org/10.1186/s13054-018-2171-1>.
- [14. Svec D, Czipelova B, Cernanova Krohova J, Mazgutova N, Wiszt R, Turianikova Z, et al. Short-term arterial compliance changes in the context of systolic blood pressure influence. *Physiol Res* 2021;70:S339–48. <https://doi.org/10.33549/physiolres.934838>.
15. Mitchell GF. Aortic stiffness, pressure and flow pulsatility, and target organ damage. *J Appl Physiol* (1985) 2018;125:1871–80. <https://doi.org/10.1152/japplphysiol.00108.2018>.
16. Yun AJ, Doux JD, Lee PY. Contrast nephropathy may be partly mediated by autonomic dysfunction: renal failure considered as a modern maladaptation of the prehistoric trauma response. *Med Hypotheses* 2006;66:776–83. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2005.10.019>.
17. Benigni A, Cassis P, Remuzzi G. Angiotensin II revisited: new roles in inflammation, immunology and aging. *EMBO Molecular Medicine* 2010;2:247–57. <https://doi.org/10.1002/emmm.201000080>.
18. Society of Actuaries. *Build and blood pressure study* / Society of Actuaries. Vol.1. Chicago: Society of Actuaries; 1959.
19. *Morbidity & Mortality: 2012 Chart Book on Cardiovascular, Lung, and Blood Diseases* 2012.
20. Lewington S, Clarke R, Qizilbash N, Peto R, Collins R, Prospective Studies Collaboration. Age-specific relevance of usual blood pressure to vascular mortality: a meta-analysis of individual data for one million adults in 61 prospective studies. *Lancet* 2002;360:1903–13. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(02\)11911-8](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(02)11911-8).

21. Arregui A, Perry EK, Rossor M, Tomlinson BE. Angiotensin converting enzyme in Alzheimer's disease increased activity in caudate nucleus and cortical areas. *J Neurochem* 1982;38:1490–2. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1982.tb07930.x>.
22. Miners JS, Ashby E, Van Helmond Z, Chalmers KA, Palmer LE, Love S, et al. Angiotensin-converting enzyme (ACE) levels and activity in Alzheimer's disease, and relationship of perivascular ACE-1 to cerebral amyloid angiopathy. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2008;34:181–93. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2990.2007.00885.x>.
23. Mertens B, Vanderheyden P, Michotte Y, Sarre S. The role of the central renin-angiotensin system in Parkinson's disease. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst* 2010;11:49–56. <https://doi.org/10.1177/1470320309347789>.
24. Strazzullo P, D'Elia L, Kandala N-B, Cappuccio FP. Salt intake, stroke, and cardiovascular disease: meta-analysis of prospective studies. *BMJ* 2009;339. <https://doi.org/10.1136/bmj.b4567>.
25. Powles J, Fahimi S, Micha R, Khatibzadeh S, Shi P, Ezzati M, et al. Global, regional and national sodium intakes in 1990 and 2010: a systematic analysis of 24 h urinary sodium excretion and dietary surveys worldwide. *BMJ Open* 2013;3:e003733. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2013-003733>.
26. Mills KT, Stefanescu A, He J. The global epidemiology of hypertension. *Nat Rev Nephrol* 2020;16:223–37. <https://doi.org/10.1038/s41581-019-0244-2>.
27. Jelaković B, Premužić V, Čvorišćec D, Erceg I, Fuček M, Jovanović A, et al. Određivanje unosa soli u Hrvatskoj. Hrvatski nacionalni program za smanjenje unosa kuhinjske soli. 5 Central European Meeting on Hypertension 2009:62.
28. Jelaković B, Kaić-Rak A, Milčić D, Premužić V, Skupnjak B, Reiner Z. [Less salt--more health. Croatian action on salt and health (CRASH)]. *Lijec Vjesn* 2009;131:87–92.
29. Jelaković B, Premužić V, Skupnjak B, Reiner Z. [Salt--hidden poison in everyday meal]. *Lijec Vjesn* 2009;131:146–54.
30. Aburto NJ, Ziolkovska A, Hooper L, Elliott P, Cappuccio FP, Meerpohl JJ. Effect of lower sodium intake on health: systematic review and meta-analyses. *BMJ* 2013;346:f1326. <https://doi.org/10.1136/bmj.f1326>.

31. He FJ, Li J, MacGregor GA. Effect of longer term modest salt reduction on blood pressure: Cochrane systematic review and meta-analysis of randomised trials. *BMJ* 2013;346. <https://doi.org/10.1136/bmj.f1325>.
32. Guyton AC. Blood pressure control--special role of the kidneys and body fluids. *Science* 1991;252:1813–6. <https://doi.org/10.1126/science.2063193>.
33. Guyton AC, Coleman TG, Cowley AV, Scheel KW, Manning RD, Norman RA. Arterial pressure regulation. Overriding dominance of the kidneys in long-term regulation and in hypertension. *Am J Med* 1972;52:584–94. [https://doi.org/10.1016/0002-9343\(72\)90050-2](https://doi.org/10.1016/0002-9343(72)90050-2).
34. Julius S. Transition from high cardiac output to elevated vascular resistance in hypertension. *Am Heart J* 1988;116:600–6. [https://doi.org/10.1016/0002-8703\(88\)90557-1](https://doi.org/10.1016/0002-8703(88)90557-1).
35. Weinberger MH. Salt sensitivity is associated with an increased mortality in both normal and hypertensive humans. *J Clin Hypertens (Greenwich)* 2002;4:274–6. <https://doi.org/10.1111/j.1524-6175.2002.00924.x>.
36. Franco V, Oparil S. Salt sensitivity, a determinant of blood pressure, cardiovascular disease and survival. *J Am Coll Nutr* 2006;25:247S-255S. <https://doi.org/10.1080/07315724.2006.10719574>.
37. Bragulat E, de la Sierra A. Salt intake, endothelial dysfunction, and salt-sensitive hypertension. *J Clin Hypertens (Greenwich)* 2002;4:41–6. <https://doi.org/10.1111/j.1524-6175.2002.00503.x>.
38. Bragulat E, de la Sierra A, Antonio MT, Coca A. Endothelial dysfunction in salt-sensitive essential hypertension. *Hypertension* 2001;37:444–8. <https://doi.org/10.1161/01.hyp.37.2.444>.
39. Drenjančević-Perić I, Jelaković B, Lombard JH, Kunert MP, Kibel A, Gros M. High-salt diet and hypertension: focus on the renin-angiotensin system. *Kidney Blood Press Res* 2011;34:1–11. <https://doi.org/10.1159/000320387>.
40. Lee J, Bae EH, Ma SK, Kim SW. Altered Nitric Oxide System in Cardiovascular and Renal Diseases. *Chonnam Med J* 2016;52:81–90. <https://doi.org/10.4068/cmj.2016.52.2.81>.
41. Cavka A, Jukic I, Ali M, Goslawski M, Bian J-T, Wang E, et al. Short term high salt intake reduces brachial artery and microvascular function in the absence of changes in blood pressure. *J Hypertens* 2016;34:676–84. <https://doi.org/10.1097/HJH.0000000000000852>.

42. Stupin A, Drenjancevic I, Rasic L, Cosic A, Stupin M. A Cross-Talk between the Renin-Angiotensin and Adrenergic Systems in Cardiovascular Health and Disease 2017;1.
43. Boegehold MA, Drenjancevic I, Lombard JH. Salt, Angiotensin II, Superoxide, and Endothelial Function. *Compr Physiol* 2015;6:215–54. <https://doi.org/10.1002/cphy.c150008>.
44. Atlas SA. The renin-angiotensin aldosterone system: pathophysiological role and pharmacologic inhibition. *J Manag Care Pharm* 2007;13:9–20. <https://doi.org/10.18553/jmcp.2007.13.s8-b.9>.
45. Osmond DH, Sealey JE, McKenzie JK. Activation and function of prorenin: different viewpoints. *Can J Physiol Pharmacol* 1991;69:1308–14. <https://doi.org/10.1139/y91-193>.
46. Sealey JE. Plasma renin activity and plasma prorenin assays. *Clin Chem* 1991;37:1811–9.
47. Carey RM, Siragy HM. Newly recognized components of the renin-angiotensin system: potential roles in cardiovascular and renal regulation. *Endocr Rev* 2003;24:261–71. <https://doi.org/10.1210/er.2003-0001>.
48. Müller DN, Bohlender J, Hilgers KF, Dragun D, Costerousse O, Ménard J, et al. Vascular angiotensin-converting enzyme expression regulates local angiotensin II. *Hypertension* 1997;29:98–104. <https://doi.org/10.1161/01.hyp.29.1.98>.
49. Johnston CI. Franz Volhard Lecture. Renin-angiotensin system: a dual tissue and hormonal system for cardiovascular control. *J Hypertens Suppl* 1992;10:S13-26.
50. Re RN. Implications of intracrine hormone action for physiology and medicine. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003;284:H751-757. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00935.2002>.
51. Opsahl JA, Smith KL, Murray RD, Abraham PA, Katz SA. Renin and renin inhibition in anephric man. *Clin Exp Hypertens* 1993;15:289–306. <https://doi.org/10.3109/10641969309032935>.
52. Van Dongen R, Peart WS. Calcium dependence of the inhibitory effect of angiotensin on renin secretion in the isolated perfused kidney of the rat. *Br J Pharmacol* 1974;50:125–9. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1974.tb09599.x>.
53. Vander AJ, Miller R. CONTROL OF RENIN SECRETION IN THE ANESTHETIZED DOG. *Am J Physiol* 1964;207:537–46. <https://doi.org/10.1152/ajplegacy.1964.207.3.537>.
54. Sealey JE, Clark I, Bull MB, Laragh JH. Potassium balance and the control of renin secretion. *J Clin Invest* 1970;49:2119–27. <https://doi.org/10.1172/JCI106429>.

55. Coote JH, Johns EJ, Macleod VH, Singer B. Effect of renal nerve stimulation, renal blood flow and adrenergic blockade on plasma renin activity in the cat. *J Physiol* 1972;226:15–36. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1972.sp009971>.
56. Henrich WL. Role of prostaglandins in renin secretion. *Kidney International* 1981;19:822–30. <https://doi.org/10.1038/ki.1981.86>.
57. Greenberg SG, Lorenz JN, He XR, Schnermann JB, Briggs JP. Effect of prostaglandin synthesis inhibition on macula densa-stimulated renin secretion. *American Journal of Physiology-Renal Physiology* 1993. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.1993.265.4.F578>.
58. Schweda F, Klar J, Narumiya S, Nüsing RM, Kurtz A. Stimulation of renin release by prostaglandin E2 is mediated by EP2 and EP4 receptors in mouse kidneys. *Am J Physiol Renal Physiol* 2004;287:F427-433. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00072.2004>.
59. Pöschke A, Kern N, Maruyama T, Pavenstädt H, Narumiya S, Jensen BL, et al. The PGE(2)-EP4 receptor is necessary for stimulation of the renin-angiotensin-aldosterone system in response to low dietary salt intake in vivo. *Am J Physiol Renal Physiol* 2012;303:F1435-1442. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00512.2011>.
60. Yang T, Xu C. Physiology and Pathophysiology of the Intrarenal Renin-Angiotensin System: An Update. *Journal of the American Society of Nephrology* 2017;28:1040. <https://doi.org/10.1681/ASN.2016070734>.
61. Wang JM, Slembrouck D, Tan J, Arckens L, Leenen FHH, Courtoy PJ, et al. Presence of cellular renin-angiotensin system in chromaffin cells of bovine adrenal medulla. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002;283:H1811-1818. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.01092.2001>.
62. Ozono R, Wang Z-Q, Moore AF, Inagami T, Siragy HM, Carey RM. Expression of the Subtype 2 Angiotensin (AT2) Receptor Protein in Rat Kidney. *Hypertension* 1997;30:1238–46. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.30.5.1238>.
63. Briet M, Schiffrin EL. Aldosterone: effects on the kidney and cardiovascular system. *Nat Rev Nephrol* 2010;6:261–73. <https://doi.org/10.1038/nrneph.2010.30>.
64. Schmidt BMW, Sammer U, Fleischmann I, Schlaich M, Delles C, Schmieder RE. Rapid Nongenomic Effects of Aldosterone on the Renal Vasculature in Humans. *Hypertension* 2006;47:650–5. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.0000205224.58715.cc>.

65. Kopkan L, Červenka L. Renal interactions of renin-angiotensin system, nitric oxide and superoxide anion: implications in the pathophysiology of salt-sensitivity and hypertension. *Physiol Res* 2009;S55–68. <https://doi.org/10.33549/physiolres.931917>.
66. Drenjancevic-Peric Ines, Frisbee Jefferson C., Lombard Julian H. Skeletal Muscle Arteriolar Reactivity in SS.BN13 Consomic Rats and Dahl Salt-Sensitive Rats. *Hypertension* 2003;41:1012–5. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.0000067061.26899.3E>.
67. Drenjancevic-Peric I, Lombard JH. Introgression of chromosome 13 in Dahl salt-sensitive genetic background restores cerebral vascular relaxation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004;287:H957-962. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.01087.2003>.
68. Drenjancevic-Peric I, Greene AS, Kunert MP, Lombard JH. Arteriolar responses to vasodilator stimuli and elevated P(O<sub>2</sub>) in renin congenic and Dahl salt-sensitive rats. *Microcirculation* 2004;11:669–77. <https://doi.org/10.1080/10739680490517695>.
69. Drenjancevic-Peric I, Weinberg BD, Greene AS, Lombard JH. Restoration of cerebral vascular relaxation in renin congenic rats by introgression of the Dahl R renin gene. *Am J Hypertens* 2010;23:243–8. <https://doi.org/10.1038/ajh.2009.236>.
70. Lenda DM, Sauls BA, Boegehold MA. Reactive oxygen species may contribute to reduced endothelium-dependent dilation in rats fed high salt. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000;279:H7–14. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.2000.279.1.H7>.
71. Lenda DM, Boegehold MA. Effect of a high-salt diet on oxidant enzyme activity in skeletal muscle microcirculation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002;282:H395-402. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.0354.2001>.
72. Zhu J, Huang T, Lombard JH. Effect of High-Salt Diet on Vascular Relaxation and Oxidative Stress in Mesenteric Resistance Arteries. *Journal of Vascular Research* 2007;44:382–90. <https://doi.org/10.1159/000102955>.
73. Phillips SA, Drenjancevic-Peric I, Frisbee JC, Lombard JH. Chronic AT(1) receptor blockade alters mechanisms mediating responses to hypoxia in rat skeletal muscle resistance arteries. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004;287:H545-552. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.01098.2003>.
74. Mihalj M, Matić A, Mihaljević Z, Barić L, Stupin A, Drenjančević I. Short-Term High-NaCl Dietary Intake Changes Leukocyte Expression of VLA-4, LFA-1, and Mac-1 Integrins in

- Both Healthy Humans and Sprague-Dawley Rats: A Comparative Study. *Mediators Inflamm* 2019;2019:6715275. <https://doi.org/10.1155/2019/6715275>.
75. Knezović A, Kolobarić N, Drenjančević I, Mihaljević Z, Šušnjara P, Jukić I, et al. Role of Oxidative Stress in Vascular Low-Grade Inflammation Initiation Due to Acute Salt Loading in Young Healthy Individuals. *Antioxidants (Basel)* 2022;11:444. <https://doi.org/10.3390/antiox11030444>.
  76. Cavka A, Cosic A, Jukic I, Jelakovic B, Lombard JH, Phillips SA, et al. The role of cyclooxygenase-1 in high-salt diet-induced microvascular dysfunction in humans. *J Physiol (Lond)* 2015;593:5313–24. <https://doi.org/10.1113/JP271631>.
  77. Stupin A, Drenjančević I, Šušnjara P, Debeljak Ž, Kolobarić N, Jukić I, et al. Is There Association between Altered Adrenergic System Activity and Microvascular Endothelial Dysfunction Induced by a 7-Day High Salt Intake in Young Healthy Individuals. *Nutrients* 2021;13:1731. <https://doi.org/10.3390/nu13051731>.
  78. Cosic A, Jukic I, Stupin A, Mihalj M, Mihaljevic Z, Novak S, et al. Attenuated flow-induced dilatation of middle cerebral arteries is related to increased vascular oxidative stress in rats on a short-term high salt diet. *J Physiol (Lond)* 2016;594:4917–31. <https://doi.org/10.1113/JP272297>.
  79. Zhu J, Drenjancevic-Peric I, McEwen S, Friesema J, Schulta D, Yu M, et al. Role of superoxide and angiotensin II suppression in salt-induced changes in endothelial Ca<sup>2+</sup> signaling and NO production in rat aorta. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006;291:H929-938. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00692.2005>.
  80. Matic A, Jukic I, Stupin A, Baric L, Mihaljevic Z, Unfirer S, et al. High salt intake shifts the mechanisms of flow-induced dilation in the middle cerebral arteries of Sprague-Dawley rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2018;315:H718–30. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00097.2018>.
  81. Chandra A, Li WA, Stone CR, Geng X, Ding Y. The cerebral circulation and cerebrovascular disease I: Anatomy. *Brain Circ* 2017;3:45–56. [https://doi.org/10.4103/bc.bc\\_10\\_17](https://doi.org/10.4103/bc.bc_10_17).
  82. Aaslid R, Lindegaard KF, Sorteberg W, Nornes H. Cerebral autoregulation dynamics in humans. *Stroke* 1989;20:45–52.
  83. Aaslid R. Cerebral autoregulation and vasomotor reactivity. *Front Neurol Neurosci* 2006;21:216–28. <https://doi.org/10.1159/000092434>.



84. Castro P, Azevedo E, Sorond F. Cerebral Autoregulation in Stroke. *Curr Atheroscler Rep* 2018;20:37. <https://doi.org/10.1007/s11883-018-0739-5>.
85. Vrselja Z, Brkic H, Mrdenovic S, Radic R, Curic G. Function of circle of Willis. *J Cereb Blood Flow Metab* 2014;34:578–84. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2014.7>.
86. Tiecks FP, Lam AM, Aaslid R, Newell DW. Comparison of static and dynamic cerebral autoregulation measurements. *Stroke* 1995;26:1014–9.
87. Paulson OB, Strandgaard S, Edvinsson L. Cerebral autoregulation. *Cerebrovasc Brain Metab Rev* 1990;2:161–92.
88. Hajjar I, Sorond F, Hsu Y-H, Galica A, Cupples LA, Lipsitz LA. Renin angiotensin system gene polymorphisms and cerebral blood flow regulation: The MOBILIZE Boston study. *Stroke* 2010;41:635–40. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.109.572669>.
89. Silverman A, Petersen NH. *Physiology, Cerebral Autoregulation*. StatPearls, Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020.
90. Buchanan JE, Phillis JW. The role of nitric oxide in the regulation of cerebral blood flow. *Brain Res* 1993;610:248–55. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(93\)91408-k](https://doi.org/10.1016/0006-8993(93)91408-k).
91. Zhang Z, Guo Q, Wang E. Hyperventilation in neurological patients: from physiology to outcome evidence. *Curr Opin Anaesthesiol* 2019;32:568–73. <https://doi.org/10.1097/ACO.0000000000000764>.
92. Lee JK, Poretti A, Perin J, Huisman TAGM, Parkinson C, Chavez-Valdez R, et al. Optimizing Cerebral Autoregulation May Decrease Neonatal Regional Hypoxic-Ischemic Brain Injury. *Dev Neurosci* 2017;39:248–56. <https://doi.org/10.1159/000452833>.
93. Kastrup J, Rørsgaard S, Parving HH, Lassen NA. Impaired autoregulation of cerebral blood flow in long-term type I (insulin-dependent) diabetic patients with nephropathy and retinopathy. *Clin Physiol* 1986;6:549–59. <https://doi.org/10.1111/j.1475-097x.1986.tb00788.x>.
94. Rodrigues TC, Pecis M, Azevedo MJ, Gross JL. [Blood pressure homeostasis and microvascular complications in diabetic patients]. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2005;49:882–90. <https://doi.org/10.1590/s0004-27302005000600005>.
95. Campos Munoz A, Vohra S, Gupta M. *Orthostasis*. StatPearls, Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020.

96. Mahdi A, Olufsen M, Payne S. Mathematical model of the interaction between baroreflex and cerebral autoregulation 2015.
97. Babcock MC, Brian MS, Watso JC, Edwards DG, Stocker SD, Wenner MM, et al. Alterations in dietary sodium intake affect cardiovagal baroreflex sensitivity. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2018;315:R688–95. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00002.2018>.
98. Isogai O, Tsukamoto K, Masubuchi Y, Tomioka S, Suzuki T, Kawato H, et al. High salt diet enhances cardiovascular responses from the nucleus tractus solitarius and ventrolateral medulla of Sprague-Dawley rats. *Clin Exp Hypertens* 2005;27:33–44. <https://doi.org/10.1081/ceh-200044252>.
99. DuPont JJ, Greaney JL, Wenner MM, Lennon-Edwards SL, Sanders PW, Farquhar WB, et al. High dietary sodium intake impairs endothelium-dependent dilation in healthy salt-resistant humans. *J Hypertens* 2013;31:530–6. <https://doi.org/10.1097/HJH.0b013e32835c6ca8>.
100. Ishii W, Fujita Y, Kawaguchi T, Kimura K, Fukuda A, Fuchigami T, et al. Cerebral Autoregulation During Active Standing Test in Juvenile Patients with Instantaneous Orthostatic Hypotension. *Adv Exp Med Biol* 2020;1232:77–83. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-34461-0\\_11](https://doi.org/10.1007/978-3-030-34461-0_11).
101. Kawaguchi T, Fujita Y, Ishii W, Kimura K, Fukuda A, Fuchigami T, et al. Cerebral Blood Oxygenation Changes in Juvenile Patients with Delayed Orthostatic Hypotension During an Active Standing Test. *Adv Exp Med Biol* 2020;1232:85–90. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-34461-0\\_12](https://doi.org/10.1007/978-3-030-34461-0_12).
102. Panayiotou B, Reid J, Fotherby M, Crome P. Orthostatic haemodynamic responses in acute stroke. *Postgrad Med J* 1999;75:213–8.
103. Kleczyński P, Dimitrow PP, Dziewierz A, Wiktorowicz A, Rakowski T, Surdacki A, et al. Predictors of syncope in patients with severe aortic stenosis: The role of orthostatic unload test. *Cardiol J* 2020;27:749–55. <https://doi.org/10.5603/CJ.a2018.0107>.
104. Pei J, Zhang H, Li Y, Yan J, Zheng K, Wang X, et al. Relationship between orthostatic blood pressure changes and intensive blood pressure management in patients with hypertension. *Heart* 2023;109:111–8. <https://doi.org/10.1136/heartjnl-2022-321276>.

105. Nannini LJ, Zaietta GA, Guerrera AJ, Varela JA, Fernández OM, Flores DM. Breath-holding test in subjects with near-fatal asthma. A new index for dyspnea perception. *Respiratory Medicine* 2007;101:246–53. <https://doi.org/10.1016/j.rmed.2006.05.013>.
106. Ratnatunga C, Adiseshiah M. Increase in middle cerebral artery velocity on breath holding: A simplified test of cerebral perfusion reserve. *European Journal of Vascular Surgery* 1990;4:519–23. [https://doi.org/10.1016/S0950-821X\(05\)80795-9](https://doi.org/10.1016/S0950-821X(05)80795-9).
107. van Niftrik CHB, Piccirelli M, Bozinov O, Pangalu A, Valavanis A, Regli L, et al. Fine tuning breath-hold-based cerebrovascular reactivity analysis models. *Brain and Behavior* 2016;6:e00426. <https://doi.org/10.1002/brb3.426>.
108. Halani S, Kwinta JB, Golestani AM, Khatamian YB, Chen JJ. Comparing cerebrovascular reactivity measured using BOLD and cerebral blood flow MRI: The effect of basal vascular tension on vasodilatory and vasoconstrictive reactivity. *Neuroimage* 2015;110:110–23. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2015.01.050>.
109. Fisher JA, Mikulis DJ. Cerebrovascular Reactivity: Purpose, Optimizing Methods, and Limitations to Interpretation – A Personal 20-Year Odyssey of (Re)searching. *Front Physiol* 2021;12:629651. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.629651>.
110. Fierstra J, Sobczyk O, Battisti-Charbonney A, Mandell DM, Poublanc J, Crawley AP, et al. Measuring cerebrovascular reactivity: what stimulus to use?: Measuring cerebrovascular reactivity. *The Journal of Physiology* 2013;591:5809–21. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2013.259150>.
111. Willie CK, Tzeng Y-C, Fisher JA, Ainslie PN. Integrative regulation of human brain blood flow. *The Journal of Physiology* 2014;592:841–59. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2013.268953>.
112. Vuletic V, Drenjancevic I, Rahelic D, Demarin V. Effect of indomethacin on cerebrovascular reactivity in patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Research and Clinical Practice* 2013;101:81–7. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2013.04.004>.
113. Petrica L, Petrica M, Vlad A, Bob F, Gluhovschi C, Gluhovschi G, et al. Cerebrovascular reactivity is impaired in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus and microangiopathy. *Wien Klin Wochenschr* 2007;119:365–71. <https://doi.org/10.1007/s00508-007-0809-0>.

114. Haratz S, Weinstein G, Molshazki N, Beeri MS, Ravona-Springer R, Marzeliak O, et al. Impaired Cerebral Hemodynamics and Cognitive Performance in Patients with Atherothrombotic Disease. *J Alzheimers Dis* 2015;46:137–44. <https://doi.org/10.3233/JAD-150052>.
115. Haussen DC, Katsnelson M, Rodriguez A, Campo N, Campo-Bustillo I, Romano JG, et al. Moderate correlation between breath-holding and CO(2) inhalation/hyperventilation methods for transcranial doppler evaluation of cerebral vasoreactivity. *J Clin Ultrasound* 2012;40:554–8. <https://doi.org/10.1002/jcu.21944>.
116. Immink RV, Pott FC, Secher NH, van Lieshout JJ. Hyperventilation, cerebral perfusion, and syncope. *J Appl Physiol* (1985) 2014;116:844–51. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00637.2013>.
117. Settakis G, Lengyel A, Molnár C, Bereczki D, Csiba L, Fülesdi B. Transcranial Doppler study of the cerebral hemodynamic changes during breath-holding and hyperventilation tests. *J Neuroimaging* 2002;12:252–8.
118. Sakamoto A, Naito H, Chow C-M. Hyperventilation as a strategy for improved repeated sprint performance. *J Strength Cond Res* 2014;28:1119–26. <https://doi.org/10.1519/JSC.0b013e3182a1fe5c>.
119. Fujii N, Tsuchiya S-I, Tsuji B, Watanabe K, Sasaki Y, Nishiyasu T. Effect of voluntary hypocapnic hyperventilation on the metabolic response during Wingate anaerobic test. *Eur J Appl Physiol* 2015;115:1967–74. <https://doi.org/10.1007/s00421-015-3179-8>.
120. Sakellari V, Bronstein AM. Hyperventilation effect on postural sway. *Arch Phys Med Rehabil* 1997;78:730–6. [https://doi.org/10.1016/s0003-9993\(97\)90081-2](https://doi.org/10.1016/s0003-9993(97)90081-2).
121. Sircar S, Gautam S. Post-task changes in visual P300 and their reversibility through brief hyperventilation. *Indian J Physiol Pharmacol* 2005;49:220–6.
122. Watemberg N, Farkash M, Har-Gil M, Sezer T, Goldberg-Stern H, Alehan F. Hyperventilation during routine electroencephalography: are three minutes really necessary? *Pediatr Neurol* 2015;52:410–3. <https://doi.org/10.1016/j.pediatrneurol.2014.12.003>.
123. Debreczeni R, Amrein I, Kamondi A, Szirmai I. Hypocapnia induced by involuntary hyperventilation during mental arithmetic reduces cerebral blood flow velocity. *Tohoku J Exp Med* 2009;217:147–54. <https://doi.org/10.1620/tjem.217.147>.

124. Rousseau A, Bak Z, Janerot-Sjöberg B, Sjöberg F. Acute hyperoxaemia-induced effects on regional blood flow, oxygen consumption and central circulation in man. *Acta Physiologica Scandinavica* 2005;183:231–40. <https://doi.org/10.1111/j.1365-201X.2005.01405.x>.
125. Hampl V, Bíbová J, Stranák Z, Wu X, Michelakis ED, Hashimoto K, et al. Hypoxic fetoplacental vasoconstriction in humans is mediated by potassium channel inhibition. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002;283:H2440-2449. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.01033.2001>.
126. Xu J, Zou M-H. Molecular insights and therapeutic targets for diabetic endothelial dysfunction. *Circulation* 2009;120:1266–86. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.108.835223>.
127. Yu Q-J, Tao H, Wang X, Li M-C. Targeting brain microvascular endothelial cells: a therapeutic approach to neuroprotection against stroke. *Neural Regen Res* 2015;10:1882–91. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.170324>.
128. D'Agostino DP, Olson JE, Dean JB. Acute hyperoxia increases lipid peroxidation and induces plasma membrane blebbing in human U87 glioblastoma cells. *Neuroscience* 2009;159:1011–22. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2009.01.062>.
129. Lombard JH, Liu Y, Fredricks KT, Bizub DM, Roman RJ, Rusch NJ. Electrical and mechanical responses of rat middle cerebral arteries to reduced PO<sub>2</sub> and prostacyclin. *Am J Physiol* 1999;276:H509-516. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.1999.276.2.H509>.
130. Cavka A, Cosic A, Grizelj I, Koller A, Jelaković B, Lombard JH, et al. Effects of AT<sub>1</sub> receptor blockade on plasma thromboxane A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>) level and skin microcirculation in young healthy women on low salt diet. *Kidney Blood Press Res* 2013;37:432–42. <https://doi.org/10.1159/000355723>.
131. Nishimura N, Iwasaki K, Ogawa Y, Shibata S. Oxygen administration, cerebral blood flow velocity, and dynamic cerebral autoregulation. *Aviat Space Environ Med* 2007;78:1121–7. <https://doi.org/10.3357/asem.2177.2007>.
132. Johnston AJ, Steiner LA, Gupta AK, Menon DK. Cerebral oxygen vasoreactivity and cerebral tissue oxygen reactivity. *Br J Anaesth* 2003;90:774–86. <https://doi.org/10.1093/bja/aeg104>.
133. Smit B, Smulders YM, Eringa EC, Oudemans - van Straaten HM, Girbes ARJ, Wever KE, et al. Effects of hyperoxia on vascular tone in animal models: systematic review and meta-analysis. *Crit Care* 2018;22:189. <https://doi.org/10.1186/s13054-018-2123-9>.

134. Lott ME, Slocomb JE, Gao Z, Gabbay RA, Quillen D, Gardner TW, et al. Impaired coronary and retinal vasomotor function to hyperoxia in Individuals with Type 2 diabetes. *Microvasc Res* 2015;101:1–7. <https://doi.org/10.1016/j.mvr.2015.05.002>.
135. Orbegozo Cortés D, Puflea F, Donadello K, Taccone FS, Gottin L, Creteur J, et al. Normobaric hyperoxia alters the microcirculation in healthy volunteers. *Microvasc Res* 2015;98:23–8. <https://doi.org/10.1016/j.mvr.2014.11.006>.
136. Frisbee JC. Regulation of in situ skeletal muscle arteriolar tone: interactions between two parameters. *Microcirculation* 2002;9:443–62. <https://doi.org/10.1038/sj.mn.7800160>.
137. Jackson WF. Arteriolar oxygen reactivity: where is the sensor? *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* 1987. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.1987.253.5.H1120>.
138. Messmer C, Cabrales P, Intaglietta M. Effects of acute anemia and hyperoxia on oxygen distribution. *Adv Exp Med Biol* 2012;737:213–8. [https://doi.org/10.1007/978-1-4614-1566-4\\_31](https://doi.org/10.1007/978-1-4614-1566-4_31).
139. Rubanyi G, Paul RJ. O<sub>2</sub>-sensitivity of beta adrenergic responsiveness in isolated bovine and porcine coronary arteries. *J Pharmacol Exp Ther* 1984;230:692–8.
140. Ngai JH, Roth PS, Paul RJ. Effects of endothelium on basal tone and agonist and O<sub>2</sub> sensitivity in porcine coronary artery. *J Pharmacol Exp Ther* 1990;252:1053–9.
141. Becker HF, Polo O, McNamara SG, Berthon-Jones M, Sullivan CE. Effect of different levels of hyperoxia on breathing in healthy subjects. *J Appl Physiol* (1985) 1996;81:1683–90. <https://doi.org/10.1152/jappl.1996.81.4.1683>.
142. Sarkar S, Ghosh S, Ghosh SK, Collier A. Role of transcranial Doppler ultrasonography in stroke. *Postgrad Med J* 2007;83:683–9. <https://doi.org/10.1136/pgmj.2007.058602>.
143. McDonnell MN, Berry NM, Cutting MA, Keage HA, Buckley JD, Howe PRC. Transcranial Doppler ultrasound to assess cerebrovascular reactivity: reliability, reproducibility and effect of posture. *PeerJ* 2013;1:e65. <https://doi.org/10.7717/peerj.65>.
144. Zubac D, Ivančev V, Valić Z, Pišot R, Meulenberg CJW, Trozić I, et al. A Randomized Crossover Trial on the Acute Cardiovascular Demands During Flywheel Exercise. *Front Physiol* 2021;12:665462. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.665462>.

145. Brittain JM, Busk TM, Møller S. Validation of non-invasive haemodynamic methods in patients with liver disease: the Finometer and the Task Force Monitor. *Clinical Physiology and Functional Imaging* 2018;38:384–9. <https://doi.org/10.1111/cpf.12425>.
146. Shaffer F, Ginsberg JP. An Overview of Heart Rate Variability Metrics and Norms. *Front Public Health* 2017;5:258. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2017.00258>.
147. Swenne CA. Baroreflex sensitivity: mechanisms and measurement. *Neth Heart J* 2013;21:58–60. <https://doi.org/10.1007/s12471-012-0346-y>.
148. Hegeduš I, Milić J, Ćosić A, Buljan K, Drenjančević I. Cerebrovascular reactivity in acute hyperoxia in patients with acute ischaemic stroke. *Brain Injury* 2017;31:560–6. <https://doi.org/10.1080/02699052.2017.1280853>.
149. Dp G, K F, K Y, S L, Y U, B J, et al. Effect of Hyperoxia on Myocardial Oxygenation and Function in Patients With Stable Multivessel Coronary Artery Disease. *Journal of the American Heart Association* 2020;9. <https://doi.org/10.1161/JAHA.119.014739>.
150. Blood Pressure and Age in Cross-Cultural Perspective on JSTOR n.d. <https://www.jstor.org/stable/41465762> (accessed March 16, 2023).
151. Ferri C, Bellini C, Desideri G, Giuliani E, De Sisti L, Cicogna S, et al. Clustering of Endothelial Markers of Vascular Damage in Human Salt-Sensitive Hypertension. *Hypertension* 1998;32:862–8. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.32.5.862>.
152. Ružić A. Određivanje plazma reninske aktivnosti i koncentracije aldosterona u serumu kao indikatora unosa kuhinjske soli u organizam u zdravih mladih ispitanika. info:eu-repo/semantics/masterThesis. Josip Juraj Strossmayer University of Osijek. Faculty of Medicine, 2018.
153. Muntzel M, Drüeke T. A comprehensive review of the salt and blood pressure relationship. *Am J Hypertens* 1992;5:1S-42S. <https://doi.org/10.1093/ajh/5.4s.1s>.
154. Hamlyn JM, Manunta P. Endogenous ouabain: a link between sodium intake and hypertension. *Curr Hypertens Rep* 2011;13:14–20. <https://doi.org/10.1007/s11906-010-0161-z>.
155. Tzemos N, Lim PO, Wong S, Struthers AD, MacDonald TM. Adverse cardiovascular effects of acute salt loading in young normotensive individuals. *Hypertension* 2008;51:1525–30. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.108.109868>.

156. Starmans-Kool MJ, Stanton AV, Xu YY, McG Thom SA, Parker KH, Hughes AD. High dietary salt intake increases carotid blood pressure and wave reflection in normotensive healthy young men. *J Appl Physiol* (1985) 2011;110:468–71. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00917.2010>.
157. Sacks FM, Svetkey LP, Vollmer WM, Appel LJ, Bray GA, Harsha D, et al. Effects on blood pressure of reduced dietary sodium and the Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH) diet. DASH-Sodium Collaborative Research Group. *N Engl J Med* 2001;344:3–10. <https://doi.org/10.1056/NEJM200101043440101>.
158. Vollmer WM, Sacks FM, Ard J, Appel LJ, Bray GA, Simons-Morton DG, et al. Effects of diet and sodium intake on blood pressure: subgroup analysis of the DASH-sodium trial. *Ann Intern Med* 2001;135:1019–28. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-135-12-200112180-00005>.
159. Obarzanek E, Proschan MA, Vollmer WM, Moore TJ, Sacks FM, Appel LJ, et al. Individual blood pressure responses to changes in salt intake: results from the DASH-Sodium trial. *Hypertension* 2003;42:459–67. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.0000091267.39066.72>.
160. Kozina N, Mihaljević Z, Baus Lončar M, Mihalj M, Mišir M, Radmilović MD, et al. Impact of High Salt Diet on Cerebral Vascular Function and Stroke in Tff3<sup>-/-</sup>/C57BL/6N Knockout and WT (C57BL/6N) Control Mice. *Int J Mol Sci* 2019;20:5188. <https://doi.org/10.3390/ijms20205188>.
161. Barić L, Drenjančević I, Matić A, Stupin M, Kolar L, Mihaljević Z, et al. Seven-Day Salt Loading Impairs Microvascular Endothelium-Dependent Vasodilation without Changes in Blood Pressure, Body Composition and Fluid Status in Healthy Young Humans. *Kidney Blood Press Res* 2019;44:835–47. <https://doi.org/10.1159/000501747>.
162. Ruppert M, Diehl J, Kolloch R, Overlack A, Kraft K, Göbel B, et al. Short-term dietary sodium restriction increases serum lipids and insulin in salt-sensitive and salt-resistant normotensive adults. *Klin Wochenschr* 1991;69 Suppl 25:51–7.
163. Mancini M, Ferrara LA, Pisanti N, Fasano ML, Mancini M. Effects of sodium intake on blood pressure and adrenergic vascular reactivity. *J Clin Hypertens* 1986;2:315–21.
164. Paul H. *Biofeedback: A Practitioner's Guide*, Fourth Edition, edited by M. Schwartz & F. Andrasik: (2016). New York, NY: The Guilford Press, xx + 764 pp., \$115.00 (hardcover),



- \$60.00 (paperback). *Child & Family Behavior Therapy* 2017;39:1–10. <https://doi.org/10.1080/07317107.2017.1307683>.
165. Gellhorn E. *Autonomic Imbalance and the Hypthalamus: Implications for Physiology, Medicine, Psychology, and Neuropsychiatry*. Minne ed. edition. University of Minnesota Press; 1957.
166. Shaffer F, McCraty R, Zerr CL. A healthy heart is not a metronome: an integrative review of the heart's anatomy and heart rate variability. *Front Psychol* 2014;5. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2014.01040>.
167. Ribarič S, Kordaš M. Simulation of the Frank-Starling Law of the Heart. *Comput Math Methods Med* 2012;2012:267834. <https://doi.org/10.1155/2012/267834>.
168. Schlader ZJ, Wilson TE, Crandall CG. Mechanisms of orthostatic intolerance during heat stress. *Autonomic Neuroscience* 2016;196:37–46. <https://doi.org/10.1016/j.autneu.2015.12.005>.
169. Stewart JM. Mechanisms of sympathetic regulation in orthostatic intolerance. *J Appl Physiol* (1985) 2012;113:1659–68. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00266.2012>.
170. Del Pozzi AT, Schwartz CE, Tewari D, Medow MS, Stewart JM. Reduced cerebral blood flow with orthostasis precedes hypocapnic hyperpnea, sympathetic activation, and postural tachycardia syndrome. *Hypertension* 2014;63:1302–8. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.113.02824>.
171. Wallin BG, Charkoudian N. Sympathetic neural control of integrated cardiovascular function: insights from measurement of human sympathetic nerve activity. *Muscle Nerve* 2007;36:595–614. <https://doi.org/10.1002/mus.20831>.
172. Joyner MJ, Charkoudian N, Wallin BG. A sympathetic view of the sympathetic nervous system and human blood pressure regulation. *Exp Physiol* 2008;93:715–24. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2007.039545>.
173. Mancia G, Grassi G. The autonomic nervous system and hypertension. *Circ Res* 2014;114:1804–14. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.114.302524>.
174. Witter T, Tzeng Y-C, O'Donnell T, Kusel J, Walker B, Berry M, et al. Inter-individual Relationships between Sympathetic Arterial Baroreflex Function and Cerebral Perfusion Control in Healthy Males. *Frontiers in Neuroscience* 2017;11.

175. Ogoh S, Brothers RM, Eubank WL, Raven PB. Autonomic neural control of the cerebral vasculature: acute hypotension. *Stroke* 2008;39:1979–87. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.107.510008>.
176. Parati G, Bilo G. Arterial baroreflex modulation of sympathetic activity and arterial wall properties: new evidence. *Hypertension* 2012;59:5–7. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.182766>.
177. Zhang R, Zuckerman JH, Iwasaki K, Wilson TE, Crandall CG, Levine BD. Autonomic neural control of dynamic cerebral autoregulation in humans. *Circulation* 2002;106:1814–20. <https://doi.org/10.1161/01.cir.0000031798.07790.fe>.
178. Shimoura CG, Lincevicius GS, Nishi EE, Girardi ACC, Simon KA, Bergamaschi CT, et al. Increased Dietary Salt Changes Baroreceptor Sensitivity and Intrarenal Renin–Angiotensin System in Goldblatt Hypertension. *American Journal of Hypertension* 2017;30:28–36. <https://doi.org/10.1093/ajh/hpw107>.
179. Takeda R, Stickford ASL, Best SA, Yoo J-K, Hissen SL, Liu Y-L, et al. Impact of high-salt versus low-salt intake on the response of sympathetic baroreflex sensitivity to orthostasis in women with a history of normal pregnancy. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2021;321:R260–70. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00069.2021>.
180. Ainslie PN, Brassard P. Why is the neural control of cerebral autoregulation so controversial? *F1000Prime Rep* 2014;6. <https://doi.org/10.12703/P6-14>.
181. Laan M ter, Dijk JMC van, Elting JWJ, Staal MJ, Absalom AR. Sympathetic regulation of cerebral blood flow in humans: a review. *British Journal of Anaesthesia* 2013;111:361–7. <https://doi.org/10.1093/bja/aet122>.
182. Tzeng Y-C, Lucas SJE, Atkinson G, Willie CK, Ainslie PN. Fundamental relationships between arterial baroreflex sensitivity and dynamic cerebral autoregulation in humans. *J Appl Physiol (1985)* 2010;108:1162–8. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.01390.2009>.
183. Nasr N, Czosnyka M, Pavy-Le Traon A, Custaud M-A, Liu X, Varsos GV, et al. Baroreflex and cerebral autoregulation are inversely correlated. *Circ J* 2014;78:2460–7. <https://doi.org/10.1253/circj.cj-14-0445>.
184. Koep JL, Barker AR, Banks R, Banger RR, Sansum KM, Weston ME, et al. The reliability of a breath-hold protocol to determine cerebrovascular reactivity in adolescents. *J Clin Ultrasound* 2020;48:544–52. <https://doi.org/10.1002/jcu.22891>.

185. Fisher JA. The CO<sub>2</sub> stimulus for cerebrovascular reactivity: Fixing inspired concentrations vs. targeting end-tidal partial pressures. *J Cereb Blood Flow Metab* 2016;36:1004–11. <https://doi.org/10.1177/0271678X16639326>.
186. Feiner JR, Bickler PE, Severinghaus JW. Hypoxic ventilatory response predicts the extent of maximal breath-holds in man. *Respiration Physiology* 1995;100:213–22. [https://doi.org/10.1016/0034-5687\(94\)00132-J](https://doi.org/10.1016/0034-5687(94)00132-J).
187. Trembach N, Zabolotskikh I. The Influence of Age on Interaction between Breath-Holding Test and Single-Breath Carbon Dioxide Test. *BioMed Research International* 2017;2017:e1010289. <https://doi.org/10.1155/2017/1010289>.
188. Ideguchi H, Ichiyasu H, Fukushima K, Okabayashi H, Akaike K, Hamada S, et al. Validation of a breath-holding test as a screening test for exercise-induced hypoxemia in chronic respiratory diseases. *Chron Respir Dis* 2021;18:14799731211012964. <https://doi.org/10.1177/14799731211012965>.
189. Bartlett D. Effects of Valsalva and Mueller maneuvers on breath-holding time. *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol* 1977;42:717–21. <https://doi.org/10.1152/jappl.1977.42.5.717>.
190. Perry BG, Lucas SJE, Thomas KN, Cochrane DJ, Mündel T. The effect of hypercapnia on static cerebral autoregulation. *Physiol Rep* 2014;2:e12059. <https://doi.org/10.14814/phy2.12059>.
191. Kuwabara Y, Ichiya Y, Sasaki M, Yoshida T, Masuda K, Matsushima T, et al. Response to hypercapnia in moyamoya disease. Cerebrovascular response to hypercapnia in pediatric and adult patients with moyamoya disease. *Stroke* 1997;28:701–7. <https://doi.org/10.1161/01.str.28.4.701>.
192. Ito H, Kanno I, Ibaraki M, Hatazawa J, Miura S. Changes in human cerebral blood flow and cerebral blood volume during hypercapnia and hypocapnia measured by positron emission tomography. *J Cereb Blood Flow Metab* 2003;23:665–70. <https://doi.org/10.1097/01.WCB.0000067721.64998.F5>.
193. Przybyłowski T, Bangash M-F, Reichmuth K, Morgan BJ, Skatrud JB, Dempsey JA. Mechanisms of the cerebrovascular response to apnoea in humans. *J Physiol* 2003;548:323–32. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2002.029678>.

194. Battisti-Charbonney A, Fisher J, Duffin J. The cerebrovascular response to carbon dioxide in humans. *The Journal of Physiology* 2011;589:3039–48. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2011.206052>.
195. Gur AY, Bova I, Bornstein NM. Is impaired cerebral vasomotor reactivity a predictive factor of stroke in asymptomatic patients? *Stroke* 1996;27:2188–90. <https://doi.org/10.1161/01.str.27.12.2188>.
196. Dumville J, Panerai RB, Lennard NS, Naylor AR, Evans DH. Can cerebrovascular reactivity be assessed without measuring blood pressure in patients with carotid artery disease? *Stroke* 1998;29:968–74. <https://doi.org/10.1161/01.str.29.5.968>.
197. McCulloch TJ, Visco E, Lam AM. Graded Hypercapnia and Cerebral Autoregulation during Sevoflurane or Propofol Anesthesia. *Anesthesiology* 2000;93:1205–9. <https://doi.org/10.1097/00000542-200011000-00012>.
198. Duffin J, Sobczyk O, McKetton L, Crawley A, Poublanc J, Venkatraghavan L, et al. Cerebrovascular Resistance: The Basis of Cerebrovascular Reactivity. *Front Neurosci* 2018;12. <https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00409>.
199. Singh V, Kumar S, Prakash K, Jaryal A, Deepak KK. Abstract TP403: Effect of Hypercapnia on Dynamic Cerebral Autoregulation During Transient Hypotension. *Stroke* n.d.;49:ATP403–ATP403. [https://doi.org/10.1161/str.49.suppl\\_1.TP403](https://doi.org/10.1161/str.49.suppl_1.TP403).
200. Stengl M, Ledvinova L, Chvojka J, Benes J, Jarkovska D, Holas J, et al. Effects of clinically relevant acute hypercapnic and metabolic acidosis on the cardiovascular system: an experimental porcine study. *Critical Care* 2013;17:R303. <https://doi.org/10.1186/cc13173>.
201. Lipp A, Schmelzer JD, Low PA, Johnson BD, Benarroch EE. Ventilatory and Cardiovascular Responses to Hypercapnia and Hypoxia in Multiple-System Atrophy. *Archives of Neurology* 2010;67:211–6. <https://doi.org/10.1001/archneurol.2009.321>.
202. Parkes MJ. Breath-holding and its breakpoint. *Experimental Physiology* 2006;91:1–15. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2005.031625>.
203. Paulev P, Wetterqvist H. Cardiac Output during Breath-holding in Man. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation* 2009. <https://doi.org/10.3109/00365516809160955>.
204. Hyperventilation induced Nystagmus n.d. <https://dizziness-and-balance.com/practice/nystagmus/hyperventilation.htm> (accessed August 27, 2023).

205. Reuben SR, Butler J. Hyperventilation test for diagnosis of left-to-right circulatory shunts. *Heart* 1971;33:943–6. <https://doi.org/10.1136/hrt.33.6.943>.
206. Tomoto T, Riley J, Turner M, Zhang R, Tarumi T. Cerebral vasomotor reactivity during hypo- and hypercapnia across the adult lifespan. *J Cereb Blood Flow Metab* 2020;40:600–10. <https://doi.org/10.1177/0271678X19828327>.
207. Raichle ME, Plum F. Hyperventilation and Cerebral Blood Flow. *Stroke* 1972;3:566–75. <https://doi.org/10.1161/01.STR.3.5.566>.
208. Kontos HA, Raper AJ, Patterson JL. Analysis of vasoactivity of local pH, PCO<sub>2</sub> and bicarbonate on pial vessels. *Stroke* 1977;8:358–60. <https://doi.org/10.1161/01.str.8.3.358>.
209. Gouvea Bogossian E, Peluso L, Creteur J, Taccone FS. Hyperventilation in Adult TBI Patients: How to Approach It? *Front Neurol* 2021;11:580859. <https://doi.org/10.3389/fneur.2020.580859>.
210. Migdal KU, Robinson AT, Watso JC, Babcock MC, Lennon SL, Martens CR, et al. Ten days of high dietary sodium does not impair cerebral blood flow regulation in healthy adults. *Auton Neurosci* 2021;234:102826. <https://doi.org/10.1016/j.autneu.2021.102826>.
211. Hawkins SM, Guensch DP, Friedrich MG, Vinco G, Nadeshalingham G, White M, et al. Hyperventilation-induced heart rate response as a potential marker for cardiovascular disease. *Sci Rep* 2019;9:17887. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-54375-9>.
212. van de Borne P, Montano N, Narkiewicz K, Degaute JP, Oren R, Pagani M, et al. Sympathetic Rhythmicity in Cardiac Transplant Recipients. *Circulation* 1999;99:1606–10. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.99.12.1606>.
213. Parashar R, Amir M, Pakhare A, Rathi P, Chaudhary L. Age Related Changes in Autonomic Functions. *J Clin Diagn Res* 2016;10:CC11–5. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2016/16889.7497>.
214. Fontana F, Bernardi P, Lanfranchi G, Pisati MS, Merlo Pich E. Blood Pressure Response to Hyperventilation Test Reflects Daytime Pressor Profile. *Hypertension* 2003;41:244–8. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.0000052315.51182.3D>.
215. Spiesshoefer J, Becker S, Tuleta I, Mohr M, Diller GP, Emdin M, et al. Impact of Simulated Hyperventilation and Periodic Breathing on Sympatho-Vagal Balance and Hemodynamics in Patients with and without Heart Failure. *Respiration* 2019;98:482–94. <https://doi.org/10.1159/000502155>.

216. Alexopoulos D, Christodoulou J, Toulgaridis T, Sitafidis G, Klinaki A, Vagenakis AG. Hemodynamic response to hyperventilation test in healthy volunteers. *Clinical Cardiology* 1995;18:636–41. <https://doi.org/10.1002/clc.4960181109>.
217. Neginhal R, Herur A, Ambi U, Ankad R, Badami S, Patil S. Effect of Hyperventilation on Excitability of The Human Cortex and Cardiac Autonomic Variability. *Indian J Physiol Pharmacol* n.d.
218. Eckberg DL, Kifle YT, Roberts VL. Phase relationship between normal human respiration and baroreflex responsiveness. *The Journal of Physiology* 1980;304:489–502. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1980.sp013338>.
219. Katona PG, Poitras JW, Barnett GO, Terry BS. Cardiac vagal efferent activity and heart period in the carotid sinus reflex. *Am J Physiol* 1970;218:1030–7. <https://doi.org/10.1152/ajplegacy.1970.218.4.1030>.
220. Van De Borne P, Mezzetti S, Montano N, Narkiewicz K, Degaute JP, Somers VK. Hyperventilation alters arterial baroreflex control of heart rate and muscle sympathetic nerve activity. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000;279:H536-541. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.2000.279.2.H536>.
221. Burnum JF, Hickam JB, Mcintosh HD. The Effect of Hypocapnia on Arterial Blood Pressure. *Circulation* 1954;9:89–95. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.9.1.89>.
222. Floyd TF, Clark JM, Gelfand R, Detre JA, Ratcliffe S, Guvakov D, et al. Independent cerebral vasoconstrictive effects of hyperoxia and accompanying arterial hypocapnia at 1 ATA. *Journal of Applied Physiology* 2003;95:2453–61. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00303.2003>.
223. Gargadennec T, Ferraro G, Chapusette R, Chapalain X, Bogossian E, Van Wettere M, et al. Detection of cerebral hypoperfusion with a dynamic hyperoxia test using brain oxygenation pressure monitoring. *Critical Care* 2022;26:35. <https://doi.org/10.1186/s13054-022-03918-0>.
224. Hlatky R, Valadka AB, Gopinath SP, Robertson CS. Brain tissue oxygen tension response to induced hyperoxia reduced in hypoperfused brain. *J Neurosurg* 2008;108:53–8. <https://doi.org/10.3171/JNS/2008/108/01/0053>.
225. Boote EJ. AAPM/RSNA Physics Tutorial for Residents: Topics in US. *RadioGraphics* 2003. <https://doi.org/10.1148/rg.235035080>.

226. Rajajee V, Fletcher JJ, Pandey AS, Gemmete JJ, Chaudhary N, Jacobs TL, et al. Low Pulsatility Index on Transcranial Doppler Predicts Symptomatic Large-Vessel Vasospasm After Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage. *Neurosurgery* 2012;70:1195. <https://doi.org/10.1227/NEU.0b013e3182417dca>.
227. Siński M, Lewandowski J, Dobosiewicz A, Przybylski J, Abramczyk P, Gaciong Z. The effect of hyperoxia on central blood pressure in healthy subjects. *Arch Med Sci* 2016;12:992–9. <https://doi.org/10.5114/aoms.2015.49038>.
228. Izdebska E, Izdebski J, Trzebski A. Hemodynamic responses to brief hyperoxia in healthy and in mild hypertensive human subjects in rest and during dynamic exercise. *J Physiol Pharmacol* 1996;47:243–56.
229. Trzebski A, Tafil M, Zoltowski M, Przybylski J. Increased sensitivity of the arterial chemoreceptor drive in young men with mild hypertension. *Cardiovasc Res* 1982;16:163–72. <https://doi.org/10.1093/cvr/16.3.163>.
230. Bak Z, Sjöberg F, Rousseau A, Steinvall I, Janerot-Sjöberg B. Human cardiovascular dose-response to supplemental oxygen. *Acta Physiol (Oxf)* 2007;191:15–24. <https://doi.org/10.1111/j.1748-1716.2007.01710.x>.
231. Narkiewicz K, van de Borne PJ, Montano N, Dyken ME, Phillips BG, Somers VK. Contribution of tonic chemoreflex activation to sympathetic activity and blood pressure in patients with obstructive sleep apnea. *Circulation* 1998;97:943–5. <https://doi.org/10.1161/01.cir.97.10.943>.

## 11. ŽIVOTOPIS



## OSOBNI PODACI

Ime i prezime  
Adresa  
Elektronička pošta  
Državljanstvo  
Datum rođenja  
Mjesto rođenja

**DIJANA DUMANČIĆ**  
Miholjačka 3, 31000 Osijek  
dijana.dumancic@gmail.com  
hrvatsko  
09. studenoga 1987.  
Osijek

## RADNO ISKUSTVO

|                     |  |
|---------------------|--|
| Datum               | listopad 2021. - ...   |
| Ustanova zaposlenja | KBC Osijek, Klinički zavod za dijagnostičku i intervencijsku radiologiju |
| Funkcija            | specijalist  |
| Područje rada       | klinička radiologija   |
| Datum               | 18.veljače 2016. - 25.10.2021.   |
| Ustanova zaposlenja | KBC Osijek, Klinički zavod za dijagnostičku i intervencijsku radiologiju |
| Funkcija            | specijalizant  |
| Područje rada       | klinička radiologija   |
| Datum               | 01.listopada 2020. - sada  |
| Ustanova zaposlenja | Katedra za biofiziku i radiologiju, Medicinski fakultet Osijek           |
| Funkcija            | asistent   |
| Područje rada       | radiologija  |
| Datum               | 14. siječnja 2014. - 17.veljače 2016.                                    |
| Ustanova zaposlenja | Zavod za hitnu medicinu Vukovarsko-srijemske županije                    |
| Funkcija            | doktor medicine  |
| Područje rada       | hitna medicina   |



Datum 19. studenoga 2012. - 18. studenoga 2013.  
 Ustanova zaposlenja Dom zdravlja Osijek

### ŠKOLOVANJE

Datum 2013. - 2016.  
 Mjesto Osijek  
 Ustanova Sveučilište J.J. Strossmayera Osijek, Poslijediplomski studij  
 Biomedicina i zdravstvo u Osijeku  
 Zvanje doktorant poslijediplomskog studija

- izabrana u zvanje naslovnog asistenta na Katedri fiziologija i imunologija

Datum 2006. - 2012.  
 Mjesto Osijek  
 Ustanova Sveučilište J.J. Strossmayera Osijek, Medicinski fakultet  
 Osijek  
 Zvanje doktor medicine

- 10. mjesto na prijemnoj rang list  
 - prosjek ocjena prema ECTS bodovima 4,718  
 - odličan (5) uspjeh kroz svih 6 godina studija  
 - diplomirala s odličnim (5) uspjehom s temom Akutni utjecaj hiperbarične oksidacije na vrijednosti krvnoga tlaka, acidobaznog statusa i parametre oksidativnog stresa u štakora (mentor: prof.dr.sc. I.Drenjančević, dr.med.)

### USAVRŠAVANJE

Godina 2022. (11. rujna - 7. listopada)  
 Mjesto Marseille, Francuska  
 Ustanova Sveučilišna bolnica La Timone  
 Područje kardiovaskularna radiologija (mentor prof. Jaquier Alexis)

Godina 2022.  
 Mjesto Solun, Grčka  
 Ustanova St. Lukes Hospital  
 Područje kardiovaskularna radiologija (mentor prof. Alexandros Kallifatidis)

Godina 2011.  
 Mjesto Vichy, Francuska  
 Ustanova Cavillam  
 Područje jezična stipendija Francuskog Veleposlanstva

|          |   |
|----------|---|
| Godina   | 2009.   |
| Mjesto   | Salamanca, Španjolska                                     |
| Ustanova | znanstveno-istraživački laboratorij Medicinskog fakulteta |
| Područje | imunologija, rad s laboratorijskim životinjama            |
| Godina   | 2008.   |
| Mjesto   | Marseille, Francuska                                      |
| Ustanova | Sveučilišna bolnica La Timone                             |
| Područje | Mechanisms of renal toxicity and new therapeutics         |

### AKTIVNO SUDJELOVANJE NA ZNANSTVENIM SKUPOVIMA

|         |   |
|---------|---|
| Godina  | 2018.   |
| Mjesto  | Split   |
| Događaj | 7khdr   |
| Naslov  | Značaj radiološke evaluacije atipičnog uzroka kliničke prezentacije lumboishijalgije kod mlade zdrave osobe - primarni apscedirajući mišića (oralna prezentacija) |
| Godina  | 2014.   |
| Mjesto  | Osijek, RH  |
| Događaj | Third International Symposium on Hypertension   |
| Naslov  | Patients with high blood pressure at the Emergency Department of General Hospital Vinkovci: Features and Experiences (poster)                                     |
| Godina  | 2014.   |
| Mjesto  | Selce, RH   |
| Događaj | XVIII kongres hitne medicine s međunarodnim sudjelovanjem   |
| Naslov  | Iskustva i promjene u radu Zavoda za hitnu medicinu Vukovarsko-srijemske županije - podružnica Županija za vrijeme poplava  |

### POGLAVLJE U KNJIZI

Jukić, Ivana; Mišir, Mihael; Mihalj, Martina; Mihaljević, Zrinka; Unfirer, Sanela; Kibel, Dijana; Kibel, Aleksandar. Mechanisms of HBO-Induced Vascular Functional Changes in Diabetic Animal Models. // yperbaric Oxygen Treatment in Research and Clinical Practice / Drenjančević, Ines (ur.). Rijeka: IN TECH d.o.o, 2018. str. 87-108

### IZVORNI ZNANSTVENI I PREGLEDNI RADOVI U ČASOPISIMA

Kos, Martina; Nađ, Tihana; Stanojević; Lorena; Lukić, Matea; Stupin, Ana; Drenjančević, Ines; Pušeljić, Silvija; Davidović Cvetko, Erna; Mihaljević, Zrinka et al. Estimation of Salt Intake in Normotensive and Hypertensive Children: The Role of Body Weight // *Nutrients*, 15 (2023), 736, 12 (međunarodna recenzija, članak, znanstveni)

Dumančić D, Stupin A, Kožul M, Šerić V, Kibel A, Goswami N, Brix B, Debeljak Ž, Scitovski R, Drenjančević I. Increased cerebral vascular resistance underlies preserved cerebral blood flow in response to orthostasis in humans on a high-salt diet. *Eur J Appl Physiol*. 2023 Jan 4. doi: 10.1007/s00421-022-05124-w. Online ahead of print. PMID: 36598577

Jukić, Ivana; Kibel, Aleksandar; Kibel, Dijana; Drenjančević, Ines. Intrinsic control and environmental factors in food consumption related to obesity. // *Southeastern European medical journal*, 1 (2017), 1; 121-129 (podatak o recenziji nije dostupan, pregledni rad, znanstveni)

Kibel, Aleksandar; Selthofer-Relatić, Kristina; Drenjančević, Ines; Bačun, Tatjana; Bošnjak, Ivica; Kibel, Dijana; Gros, Mario. Coronary microvascular dysfunction in diabetes mellitus. // *Journal of international medical research*, 45 (2017), 6; 1901-1929, doi:10.1177/0300060516675504 (podatak o recenziji nije dostupan, članak, znanstveni)

Drenjančević, Ines; Kibel, Aleksandar; Kibel, Dijana; Šerić, Vatroslav; Ćosić, Anita. Blood pressure, acid-base and blood gas status and indicators of oxidative stress in healthy malerats exposed to acute hyperbaric oxygenation. *Undersea & hyperbaric medicine*. 40 (2013), 4; 319-328 (članak, znanstveni)

Gašpar, Tina; Labor, Marina; Jurić, Iva; Dumančić, Dijana; Ilakovac, Vesna; Heffer-Lauc, Marija. Comparison of Emotion Recognition in Facial Expression and Musik. *Collegium antropologicum*. 35 (2011), 1; 163-167 (kratko priopćenje, znanstveni).

## SAŽECI SA SKUPOVA

Drenjančević, Ines; Dumančić, Dijana; Stupin, Ana; Kožul, Maja; Šerić, Vatroslav; Kibel, Aleksandar; Goswami, Nandu; Brix, Bianca; Debeljak, Željko; Scitovski, Rudolf  
High salt diet alters cerebrovascular resistance in response to orthostatic test in healthy young individuals // *J Hypertension*, Milano, Italija, 2023. 41 (1), e307-e307, 1 (poster, međunarodna recenzija, sažetak, znanstveni)

Kos, Martina; Mihalj, Martina; Hamidović, Nikolina; Dumančić, Dijana; Kolobarić, Nikolina; Stupin, Ana; Drenjančević, Ines; Pušeljčić, Silvija; Jukić, Ivana. Estimation of daily salt intake in children with essential hypertension // *Journal of Hypertension: June 2022 - Volume 40 - Issue Suppl 1 - p e155*, Atena, Grčka, 2022. str. e155-e155 doi: 10.1097/01.hjh.0000836920.43945.2b (poster, međunarodna recenzija, sažetak, znanstveni)

Krivdić Dupan, Zdravka; Canjko, Ivana; Guljaš, Silva; Šarić, Gordan; Šambić Penc, Mirela; Prlić- Seršić, Ingrid; Dumačić, Dijana. Spectrum of radiological imaging findings of immune-checkpoint blockade for lung cancer at University hospital centre Osijek // *Libri Oncologici : Croatian Journal of Oncology*, vol.50, Suppl.1, Opatija, Hrvatska, 2022. str. 142-143 (poster, međunarodna recenzija, sažetak, stručni)

Dumancic, Dijana, The 15<sup>th</sup> Bridges in Life Sciences - Video Conference (Poland, October 2, 2020)

Kibel, Dijana; Kibel, Aleksandar; Goswami, Nandu; Drenjančević, Ines. The effect of short term high salt diet on cerebrovascular reactivity in response to orthostatic position change in young healthy subjects. // *Europhysiology 2018 Abstract Book*, London, Ujedinjeno Kraljevstvo, 2018. str. 455P-455P (poster, međunarodna recenzija, sažetak, znanstveni)

Kibel, Dijana; Kibel, Aleksandar; Steiner, Kristina; Kožul, Maja; Brix, B; Trozic, I; Goswami, Nandu; Drenjančević, Ines. The effect of a short term high salt diet on cerebrovascular reactivity

in response to breath holding test in young healthy subjects. // *Acta Physiologica* 221, S713, 1-290, Beč, Austrija, 2017. (poster, međunarodna recenzija, sažetak, znanstveni)

Kibel, Dijana, Značaj radiološke evaluacije atipičnog uzroka kliničke prezentacije, lumboishijalgije kod mlade zdrave osobe - primarni apscedirajući mišića, Split, 7khdr (oralna prezentacija)

Kibel, Aleksandar; Novak, Sanja; Mihaljević, Zrinka; Ćosić, Anita; Čavka, Ana; Kibel, Dijana; Drenjančević, Ines. Evaluation of vascular responses to angiotension II and angiotensin-(1-7) after hyperbaric oxygenation and the role of epoxyeicosatrienoic acids. // *Third International Symposium on Hypertension ISHOP3 Abstract Book*, Osijek, Hrvatska, 2014. (pozvano predavanje, međunarodna recenzija, sažetak, znanstveni)

Ćosić, Anita; Mihaljević, Zrinka; Kibel, Dijana; Novak, Sanja; Čavka, Ana; Grizelj, Ivana; Mihalj, Martina; Drenjančević, Ines. The *effect* of hyperbaric therapy on the levels of oxidative stress. // *Acta Physiologica Volume 211, Issue Supplement s697*, Budimpešta, Mađarska, 2014. str. 166-P12.3 (poster, međunarodna recenzija, sažetak, znanstveni)

Dumančić, Dijana; Kibel, Aleksandar; Šerić, Vatroslav; Ćosić, Anita; Drenjančević, Ines. Immediate effects of hyperbaric oxygenation on blood pressure, acid-base and blood gas status and parameters of oxidative stress in healthy male rats // *Physiology 2012 : Poster Communications ; u: Proceedings of The Physiological Society 27 (2012) ; PC157* London, 2012. (poster, međunarodna recenzija, sažetak, znanstveni)

Baćun, Tatjana; Degmečić, Dunja; Kibel, Aleksandar; Kibel, Dijana; Pavić, Roman. From Metabolic Syndrome to Insulinoma: approach to a Patient with Metabolic Syndrome. // 1. međunarodni kongres nutricionista Metabolički sindrom: zbornik radova / Zlatić, Margita; Babić, Dora (ur.). Osijek: Nutricionizam Balans, 2013. str. 51-52 (poster, domaća recenzija, sažetak, stručni)

Baćun, Tatjana; Degmečić, Dunja; Kibel, Aleksandar; Kibel, Dijana; Pavić, Roman. From Obesity to Hypothyroidism: approach to an Obese Patient. // I. međunarodni kongres nutricionista Metabolički sindrom: Zbornik radova / Zlatić, Margita; Babić, Dora (ur.). Osijek: Nutricionizam Balans, 2013. str. 50-51 (poster, sažetak, stručni)

Baćun, Tatjana; Kibel, Aleksandar; Wertheimer, Vjekoslav; Kibel, Dijana; Degmečić, Dunja; Pavić, Roman. From postpartum metastatic cancer to parathyroid adenoma : a case report. // 6. hrvatski endokrinološki kongres s međunarodnim sudjelovanjem = 6th International scientific conference on endocrinology and metabolism: abstracts, Poreč, Republika Hrvatska, 2013. (poster, međunarodna recenzija, sažetak, stručni)

### OSTALA SUDJELOVANJA

- kontinuirana edukacija iz domene kardiovaskularne radiologije (ESCR)
- Škola CT koronarografije (Rijeka/Lovran, veljača 2023.)
- CT/MR tijela (Rijeka 2017.g., Opatija 2020.g. – online)
- 6. Hrvatsko-slovenski ultrazvučni kongres 2019,
- Radiologija gliomskih tumora (HIIM, Zagreb, 2019.)
- Radiologija hitnih stanja (Zagreb 2017.)
- Slavonski Brod 2015.g., Hrvatski zavod za hitnu medicinu, Hitna medicina - Tečaj “Trening radnika izvanbolničke hitne medicinske službe”
- položeni poslijediplomski tečajevi trajne izobrazbe I kategorije Medicinskog fakulteta Osijek (“Suvremeni pristup u ranom liječenju politraumatiziranog bolesnika”, “Psihodinamski pristup oboljelima od karcinoma”, “Mentalno zdravlje žena”, “Terapijski pristup pretilosti”)
- demonstrator tijekom svih godina studija na Katedri za anatomiju i Katedri za fiziologiju i imunologiju
- suorganizator tečaja “Znanje vještina” na Medicinskom fakultetu u skopu udruge EMSA
- suorganizatorica “Tjedna mozga” na Medicinskom fakultetu u sklopu Sekcije za neuroznanost
- suorganizatorica projekta “Otvori oči, vidi, drogu preskoči” u sklopu udruge CROMSIC
- sudionica na Festivalima znanosti s radionicama “Vodena masaža” i “Jesmo li se prilagodili na uspravni hod?”
- autor i suautor dvaju članaka („Eritropoetin“ i „Tjelesno vježbanje i ateroskleroza“) u časopisu „Glasilo medicinaru Osijek“

- završena 3 stupnja Govorničke škole dr. Ivo Škarić
- završena Osnovna glazbena škola A. Harambašić (Donji Miholjac)

### STIPENDIJE I NAGRADE

- dobitnica Dekanove nagrade 2016.g. (Dani doktoranada, MEFOS)
- državna stipendija u ak. god. 2007./08.
- stipendija Zaklade "Tomo Horvatinčić" u ak. god. 2008./09.

### ČLANSTVA

- HDR (Hrvatsko društvo radiologa), ESR (Europsko društvo radiologa), ESCR (Europsko društvo kardiovaskularne radiologije), HLK (Hrvatska liječnička komora)

### JEZICI

- hrvatski: materinji
- engleski: svakodnevna aktivna uporaba u govoru i pisanju
- francuski: povremena uporaba u govoru i pisanju
- njemački: pasivno

## 12. PRILOG

## INFORMIRANI PRISTANAK

Na Katedri za fiziologiju i imunologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku provodi se istraživanje “**Utjecaj kratkotrajnog unosa kuhinjske soli na reaktivnost moždanih krvnih žila u okolišnim podražajima kod ljudi**”.

Na ovaj način Vas želimo upoznati s istraživanjem kako biste, ukoliko pristanete sudjelovati, bili upoznati s detaljima.

Cilj istraživanja je odrediti učinak dijeta s visokim udjelom soli na vaskularnu reaktivnost moždanih krvnih žila u populaciji mladih zdravih osoba. Dokazano je da kratkotrajna dijeta s visokim udjelom soli može dovesti do promjena u reaktivnosti krvnih žila u osjetljivih pojedinaca, ali je malo poznato o mehanizmima vaskularnog odgovora na vanjske podražaje, poput hiperoksije, hiperkapnije, ortostaze i sl. kod zdravih, mladih ljudi, bez prethodnog oštećenja endotela i predisponirajućih stanja, poput hipertenzije ili dijabetesa.

Svi ispitanici će tijekom 7 dana biti podvrgnuti dijeti s niskim udjelom soli gdje je planirani dnevni unos do 2,3 g kuhinjske soli, dok će idućih 7 dana primati nadomjestak kuhinjske soli ( pojedinačne vrećice od 11,2 g), uz dobivene usmene i pismene upute o oblikovanju objeda.

Svi ispitanici će biti podvrgnuti ultrazvučnom snimanju transkranijalnim dopplerskim ultrazvukom (TCD). TCD predstavlja jednostavnu, neinvazivnu, bezbolnu ultrazvučnu metodu u kojoj nema ionizirajućeg zračenja, a kojom se dobivaju audio-vizualne informacije o moždanoj cirkulaciji. Pri svakom dolasku će se uzeti uzorak venske krvi i urina za predviđene laboratorijske analize.

Stanje hiperoksije će se postići udisanjem 100 %-og kisika na masku tijekom 15 minuta, hiperkapnija tzv. *breath hold testom*, odnosno zadržavanjem daha 30 sekundi, hiperventilacija forsiranim dubokim disanjem u trajanju 30 sekundi te ortostaza ustajanjem nakon 5-10 minutnog sjedenja.



## 12. PRILOG

Svi podatci dobiveni testiranjem su tajni te će prilikom obrade podataka biti vezani uz šifre pojedinih ispitanika i niti jedan objavljeni podatak neće otkriti identitet ispitanika. Svaki ispitanik ima pravo tražiti na uvid rezultate testiranja te će mu u tom slučaju biti predloženi.

Sudjelovanje u istraživanju je dobrovoljno i ukoliko se odlučite odustati u bilo koje vrijeme i bez posebnog obrazloženja nećete imati zapreka.

Ovim izjavljujem da sam u potpunosti upoznat/a s detaljima istraživanja. Na sva moja pitanja je odgovoreno i u potpunosti sam razumio odgovore.

Potvrđujem da sam voljan sudjelovati u istraživanju.

---

Ime ispitanika

---

Ime liječnika

---

Potpis ispitanika

---

Potpis liječnika

---