

Utjecaj ronjenja s komprimiranim zrakom (SCUBA) na moždani protok krvi : uloga tjelovježbe i hiperoksije poslije zarona

Čaljkušić, Krešimir

Doctoral thesis / Disertacija

2021

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:171:913170>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-22**



Repository / Repozitorij:

[MEFST Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U SPLITU
MEDICINSKI FAKULTET**

mr. sc. Krešimir Čaljkušić, dr. med.

**Utjecaj ronjenja s komprimiranim zrakom (SCUBA) na moždani protok
krvi: uloga tjelovježbe i hiperoksije poslije zarona**

Doktorska disertacija

**Akadska godina:
2020./2021.**

**Mentor:
prof. dr. sc. Željko Dujić**

Split, rujan 2021.

Naziv institucije gdje je rad izrađen: *Zavod za integrativnu fiziologiju,
Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu*

Voditelj rada: *mr. sc. Krešimir Čaljkusić, dr. med.*

Mentor rada: *prof. dr. sc. Željko Dujić*

ZAHVALE

*Zahvaljujem svojoj obitelji, supruzi Ani, djeci Marijeti i Stjepanu na strpljenju i svim odricanjima, mentoru prof. dr. sc. Željku Dujiću te svim prijateljima i suradnicima koji su me poticali da ovaj doktorat vidi svjetlo dana
Posvećujem svima koje moj doktorat čini sretnim i koji vjeruju u mene*

SADRŽAJ

1. UVOD.....	7
1.1. Ronjenje.....	7
1.2. Endotel.....	14
1.3. Endotelna disfunkcija.....	17
1.4. Klinička procjena endotelne funkcije.....	18
1.5. Dekompresijska bolest.....	21
1.6. Anatomija i fiziologija moždane cirkulacije.....	27
1.7. Regulacija moždanog krvotoka.....	32
1.8. Transkranijaska dopler sonografija (TCD).....	37
1.9. Vitamin C.....	39
2. CILJEVI I HIPOTEZE.....	41
3. ISPITANICI I METODE.....	42
3.1. Organizacija i opis istraživanja.....	42
3.2. Ispitanici.....	42
3.3. Postupci istraživanja.....	44
3.3.1. Anamneza i status.....	44
3.3.2. Antropometrijski pregled.....	44
3.3.3. Transkranijaski dopler ultrazvuk.....	44
3.3.4. Transtorakalna ehokardiografija.....	45
3.3.5. Spirometrija.....	46
3.3.6. Mjerenje hemodinamskih parametara.....	47
3.4. Uzorkovanje krvi i laboratorijska analiza.....	48
3.5. Statistički postupci.....	48
4. REZULTATI.....	50
5. RASPRAVA.....	69
6. ZAKLJUČCI.....	74
7. POPIS CITIRANE LITERATURE.....	75
8. SAŽETAK.....	82
9. SUMMARY.....	84
10. ŽIVOTOPIS.....	86

POPIS OZNAKA I POKRATA

SCUBA-*self-contained underwater breathing apparatus*-samostalna naprava za podvodno disanje

DAN-*divers alert network*-američka udruga za pružanje pomoći ronionicima

DB- dekompresijska bolest

BHD-*breath hold diving*-ronjenje na dah

NO- *nitrogen oxide*- dušični oksid

EDRF-*endothelium derived relaxing factors*-opuštajući čimbenici endotelnog podrijetla

EDHF-*endothelium-derived hyperpolarizing factor*-hiperpolarizirajući čimbenici podrijetlom iz endotela

eNOS *endothelial nitric oxide synthase*-endotelna sintaza NO-a

cGMP ciklički gvanozin-monofosfat

VEGF-*vascular endothelial growth factor* -vaskularni endotelni čimbenik rasta

ROS-*reactive oxygen species*- reaktivni kisikovi oblici

EPC- *endothelial progenitor cell*-endotelne progenitorske stanice

vWF- *von Willebrand factor* -von Willebrandov čimbenik

TF- *tissue factor*-tkivni čimbenik

IL-1 - interleukin-1

TNF- α - *tumor necrosis factor- α* -čimbenik tumorske nekroze- α

EMP-*endothelial microparticle*-endotelne mikročestice

CEC- *circulating endothelial cell* -cirkulirajuće endotelne stanice

EPC-*endothelial progenitor cell*-endotelne progenitorske stanice

ACEI- *angiotensin-converting enzyme inhibitors*- inhibitor enzima koji konvertira angiotenzin

ARB-*angiotensin II receptor blockers*-blokatori receptora angiotenzina II

MR-magnetska rezonanca

PET-*positron emission tomography*-pozitronska emisijska tomografija

FMD-*flow-mediated dilatation*-vazodilatacija posredovana protokom

NMD-*nitroglycerine-mediated dilation* – vazodilatacija posredovana nitroglicerinom

SŽS-središnji živčani sustav

PFO-*patent foramen ovale*-prohodni foramen ovale

VGE-*venous gas embolus* – venski zračni embolusi

AGE- *arterial gas embolus* – arterijski zračni embolusi

CPP-*cerebral perfusion pressure*-moždani perfuzijski tlak

CVR- *cerebrovascular resistance*- cerebrovaskularni otpor

CBF- *cerebral blood flow*-moždani protok

MAP- *mean arterial pressure*- srednji arterijski tlak

ICP– *intracranial pressure* – intrakranijski tlak

CVP- *central venous pressure* – centralni venski tlak

BFV-*blood flow velocity* -brzina strujanja krvi

MBFV-mean blood flow velocity-srednja brzina strujanja krvi

TCD-*transkranijski kolor doppler*-transkranijska dopler sonografija

TCD-UZV-transkranijski doppler ultrazvuk

HR-*heart rate*-frekvencija srca

BP-*blood pressure*-krvni tlak

eCO-*estimated cardiac output*-procijenjeni srčani minutni volumen

eSV- *estimated stroke volume*- procijenjeni udarni volumen

TTE-*transthoracic echocardiography*-transtorakalna ehokardiografija

TPR-*total peripheral resistance*-ukupan periferni otpor

MAP-*mean arterial pressure*-srednji arterijski tlak

BMI-*body mass indeks*-indeks tjelesne mase

FVC- *forced vital capacity*- forsirani vitalni kapacitet

FEV₁- *forced expiratory volume in one second*-forsirani ekspiracijski volumen u prvoj sekundi

MVV- *maximal voluntary ventilation*-maksimalna voljna ventilacija

PEF- *peak expiratory flow* - vršni protok pri izdisaju

SBP-*systolic blood pressure*-sistolički krvni tlak

DBP-*diastolic blood pressure*-dijastolički krvni tlak

MAP- *mean arterial pressure* - srednji arterijski krvni tlak

SRAUC- SR_{AUC} - stopa smicanja (površine ispod krivulje)

1. UVOD

1.1. Ronjenje

Ronjenje označava boravak ispod vodene površine, zadržavanjem daha ili uz pomoć aparata za disanje. Daleka povijest ronjenja isključivo je vezana za ronjenje na dah, dok je od kraja 19. stoljeća ronjenje vezano i uz različite postupke dostavljanja zraka tijekom ronjenja nužne za produženje vremena i dubine ronjenja. U davnoj prošlosti ronjenje je prvenstveno bilo motivirano ribolovom i skupljanjem morskih školjki što potvrđuju iskopine vrlo starih naslaga školjki na priobalnim pojasevima koje nisu bile dostupne dotadašnjim uobičajenim ribolovnim tehnikama. Prvi značajniji pomak u ronjenju bio je izum zvona za ronjenje. Najstariji zapisi potječu od Aristotela koji spominje pomagalo prilikom „spužvarenja“. Pomagalo se sastojalo od zvona čiji je otvor bio okrenut prema dnu, a ronilac je udisao zarobljeni zrak. Francesco De Marchi (1490. – 1574.) spominje zvono uz čiju se pomoć moglo boraviti ispod vodene površine do jednog sata, a korišteno je 1553. godine za istraživanje dna i pronalaženje Kaligulinih galija u jezeru Nemi u Italiji (1).

Veliki napredak ronjenja omogućio je izum kesona, specijalno konstruiranog zvona u koje je dopreman zrak s površine pod tlakom višim od onog u okolnoj vodi. Prvi keson konstruirao je engleski inženjer John Smeaton 1788. godine za potrebe postavljanja temelja mosta kod Hexhama. Godine 1715. u upotrebu ulazi i čvrsti skafander koji je konstruirao John Lethbridge, a 1893. godine William H. Taylor dodatno ga unaprjeđuje ugradnjom metalnog kućišta i pokretnih nastavaka za udove, što je omogućilo lakše kretanje. Zrak je kontinuirano dopreman s površine preko posebne cijevi. August Siebe konstruirao je 1819. godine u Engleskoj preteču „klasičnog“, tj. mekog skafandera. Usavršavanje ovog izuma omogućilo je nagli razvoj ronjenja (1).

Slijedeću prekretnicu označio je izum autonomnih aparata za ronjenje s komprimiranim zrakom. Najvažniji izum na tom području svakako je onaj H. A. Fleussa iz 1878. godine, a sastojao se od spremnika s kisikom pod tlakom od 30 bara te filtera natopljenog kalijevim hidroksidom za apsorpciju izdahnutog ugljikova dioksida. Na sličnom principu korišteni su svi uređaji za ronjenje u vodećim vojnim mornaricama uoči i tijekom Drugog svjetskog rata. Zasižno najveću prekretnicu za moderno ronjenje označava izum J. Y. Costeaua i E. Gagnanea – hidrostatski regulator koji omogućava doziranje zraka prilikom povišenog tlaka okoline tijekom faze udisanja.

Hrvatska kao pomorska zemlja ima dugu tradiciju profesionalnog ronjenja, od „spužvarenja“ do sudjelovanja pri izgradnji luka i lukobrana. Posebice se ističe uloga hrvatskih ronilaca u austrougarskoj ratnoj mornarici. U razdoblju između dva svjetska rata profesionalno ronjenje skoro u cijelosti obilježavaju nadaleko poznati krapanjski spužvari i upotreba skafandera koji je u tom razdoblju bio vrhunac tehničkog dostignuća u ronjenju.

Godine 1944. osnivaju se i zasebni ronilački odredi u sklopu tadašnje ratne mornarice, što dodatno naglašava rastuću ulogu ronjenja u profesionalne svrhe. Amatersko ronjenje, s naglaskom na istraživanju podmorja, stupa na scenu gotovo u isto vrijeme kao i u Francuskoj i Italiji, tadašnjim državama pionirima ronjenja. Burna prošlost i prostranstvo hrvatskog podmorja predstavljaju mnoge zanimljive izazove za ronioce: bogatstvo i raznolikost biljnoga i životinjskoga svijeta, monumentalni podvodni zidovi i grebeni, olupine brodova i zrakoplova te brojna arheološka nalazišta dodatno oplemenjuju doživljaj ronjenja. Najstariji lokaliteti koji sadrže ostatke potonulih brodova datiraju iz antičkih vremena na starim trgovačkim pomorskim putovima iz Grčke prema sjevernoj Italiji i njihovim usputnim kolonijama na jadranskoj obali: Cavtat (*Epidaurus*), Mljet (*Melita*), Korčula (*Korkvira*), Hvar (*Pharos*), Vis (*Issa*), Split (*Aspalathos/Spalatum*), Solin (*Salona*), Trogir (*Tragurium*), Rogoznica (*Heracleia*), sidrišta u kornatskom području (Žirje, Lavsa, Murter), šire područje Šibenika i Zadra (*Liburnia/Iadera*), Pula (*Pola*), rimske vile na Brijunima i mnoge druge mikrolokacije kojima su se drevni pomorci služili za zakloništa i sidrišta. U srednjem vijeku intenzivira se trgovina između Italije i Bliskoga istoka. Venecija postaje trgovačka metropola, a primorski gradovi na području današnje hrvatske obale naglo se razvijaju (Dubrovnik, Split, Zadar, Pula). Arheološki nalazi u podmorju na plovnim putovima stroga svijeta zanimljivi su za ronioce baš kao i olupine na poprištu velikih pomorskih bitaka u ratovima 19. i 20. stoljeća. Nakon Drugoga svjetskoga rata mnoge su olupine izvađene s morskoga dna (posebno uz obalu Istre), ali i danas postoji priličan broj bogatih nalazišta u podmorju zanimljivih sportskim roniocima i istraživačima.



Slika 1. Prikaz ronioca s punom ronilačkom opremom nakon zarona

Prilagođeno prema: *Scuba Diver Life*. Dostupno na poveznici: <https://scubadiverlife.com/physical-mental-fitness-scuba-diving/> (svibanj 2021.)

Ronjenje s bocama na komprimirani zrak što u anglosaksonskom nazivlju označava kompletnu opremu za disanje pod vodom ili samostalna naprava za podvodno disanje (engl. *Self-Contained Underwater Breathing Apparatus – SCUBA*), u današnje je vrijeme jedan od najčešćih način ronjenja (Slika 1). Ovu tehniku ronjenja prvi su uveli Jacques Cousteau i Emile Gagnon 1943. godine. Sve do 1943. godine prilikom obavljanja ronilačkih aktivnosti koristila se oprema koja se sastojala od odijela i ronilačke kacige povezane s površinom preko cijevi kojom se dostavljao zrak.

U početku se SCUBA ponajprije rabila u mornarici i za neke profesionalne svrhe, kao što je izranjanje bisera i koralja, a zadnjih 20-30 godina sve je učestalije ronjenje u rekreacijske svrhe. Prema podacima *Divers Alert Network* (DAN-Američke Udruge za pružanje pomoći roniocima), procijenjen je broj ronioaca u SAD-u na 8-9 milijuna, dodatnih 200 000 svake godine educira i trenira, a također je sve širi dobni raspon, sve veći broj žena, te ljudi graničnih psihofizičkih sposobnosti uključenih u takve aktivnosti. Budući da je oprema za ronjenje na komprimirani zrak zadnjih petnaestak godina sve dostupnija, raste broj rekreacijskih i profesionalnih ronilaca, uz značajan porast broja zarona na komprimirani zrak te ukupnog vremena koji ljudi provedu roneći.

U Hrvatskoj je 80-tih godina prošlog stoljeća bilo tek oko 5000 ronilaca, no danas godišnje zaroni i do 100 000 ljudi, a najčešće se radi o neiskusnim sportskim roniocima (tzv.

„ljetni ronilac“). Sve veća popularizacija ovog sporta zahtijeva iscrpna stručna istraživanja i primjenu znanja o prilagodbenim mehanizmima i opasnostima ronjenja. Ova ekstremna disciplina, izlaže organizam čovjeka snažnim provocirajućim čimbenicima koji dovode do suprafizioloških odgovora i povećanog rizika za patofiziološke događaje (2).

Posljednjih se godina se DAN-u iz cijelog svijeta prijavljuje oko 160 smrtnih slučajeva, dok se oko tisuću ronilaca liječi u barokomorama. DAN bilježi stalni porast unesrećenih, a posebno ronilaca oboljelih od dekompresijske bolesti (DB). Zbog toga je potreban pojačan nadzor zdravstvenih stručnjaka nad ronionicima (2,3). Promjene ljudskog organizma prilikom ronjenja uvjetovane su nizom čimbenika: vremenskim trajanjem zarona, dinamikom i svojstvima respiracijskih plinova, djelovanjem hidrostatskog tlaka vode te genetskim i tjelesnim predispozicijama osobe. Isti čimbenici utječu i na nastanak brojnih poremećaja, a katkad i s tragičnim ishodom koji mogu nastati prilikom zaranjanja odnosno izranjanja (3).

Tijekom ronjenja ronionci su izloženi bitno promijenjenim okolišnim uvjetima koji se ne nalaze u drugim tjelesnim aktivnostima. Uronjenost tijela u vodu (imerzija) dovodi do značajnog utjecaja hidrostatskog tlaka vode na krvožilni sustav s posljedičnom središnjom redistribucijom krvnog volumena (prema intratorakalnoj krvožilnoj mreži) koju dodatno pospješuje periferna, hladnoćom uzrokovana vazokonstrikcija kao stres uzrokovan hladnoćom. Za vrijeme uranjanja u hladnu vodu dolazi do povećanja aktivnosti simpatičkog živčanog sustava što uzrokuje povećanje frekvencije srca (4). Uranjanje u hladnu vodu može izazvati hiperventilaciju koja normalno prestaje nakon isteka nekoliko minuta (4). Zaranjanjem se posljedično povećava periferni otpor što stvara dodatno srčano opterećenje (5, 6). Disanje kroz SCUBA opremu povećava otpor disanju; to može povećati i radno opterećenje respiracijskog sustava.

Nedavna istraživanja u Laboratoriju za integrativnu fiziologiju Medicinskog fakulteta u Splitu pokazala su kako samo jedan zaron u moru uzrokuje reverzibilni negativni učinak na respiracijske funkcije, i dovodi do smanjenja srčanog minutnog volumena (7). Ronionci su izloženi povišenom tlaku udahnutog zraka ili plinske smjese (hiperbarija), te povišenom tlaku kisika u krvi i tkivima (hiperoksija). Naime, u nestlačljivom mediju poput vode, okolišni se tlak prenosi na tijelo ronionca. Ovaj tlak rezultat je utjecaja atmosferskog tlaka iznad vodene površine i težine stupca vode. Na svakih 10 metara dubine tlak se povećava za 1 atmosferu ili 101 kPa. Prema tome, na dubini od 10 metara okolišni tlak iznosi 2 atmosfere (1 atmosfera na račun zračnog stupca atmosferskog omotača plus dodatna 1 atmosfera od djelovanja vodenog stupca) (2).

Budući da se i ljudsko tijelo uglavnom sastoji od vode, ljudska su tkiva nestlačljiva, i kao takva nisu podložna velikim promjenama tlaka tijekom ronjenja (2, 3). Prema Boyle-Mariotteovom zakonu, volumen nekog plina obrnuto je razmjern tlaku koji na njega djeluje. Ukoliko se tlak udvostruči, volumen plina se prepolovi u odnosu na početno stanje i obrnuto – ukoliko se tlak prepolovi, dolazi do širenja plina na dvostruko veći volumen (2). Na osnovu navedenog, volumen se zraka u plućima smanjuje u korelaciji s povećanim hidrostatskim tlakom prilikom zaranjanja jer tlak u plućima teži izjednačavanju s tlakom u okruženju. Prema istom pravilu povećava se i parcijalni tlak plinova u udahnutom zraku, arterijskoj krvi i tkivima (2, 3, 8).

Najčešće je korištena plinska smjesa komprimirani zrak, a rjeđe se koriste i posebne plinske smjese poput nitrox-a (mješavina dušika i kisika), heliox-a (mješavina helija i kisika) i trimix-a (mješavina helija, kisika, dušika). Odabir smjese ovisi o učincima pojedinog plina s obzirom na trajanje i dubinu zarona. Ronjenje s komprimiranim zrakom, u pravilu dozvoljeno u rekreativne svrhe do 40 m dubine, može dovesti do dušikom uvjetovane narkoze ispod 30 m morske dubine i otežanog disanja ispod 50 m dubine.

Stopostotni kisik u hiperbaričnim uvjetima može se koristiti samo za plitke zarone (6-8 m morske dubine), dok se pri većim dubinama, a time i tlakovima, javlja izrazito toksični utjecaj hiperoksije. Stoga se stopostotni kisik koristi uglavnom za vojne i eksperimentalne zarone, kao dekompresijski plin. Nitrox, smjesa dušika i kisika u kojoj dušik čini manje od 80% smjese, sve se češće koristi za tehničko i rekreacijsko ronjenje jer omogućuje dulje trajanje zarona i kraću dekompresiju. Označava se sa EAN (engl. *enriched air nitrox*) ili Nitrox te iza toga stoji broj koji označava postotak kisika u smjesi. Tako postoje smjese s različitim udjelom kisika (od Nitrox 22 do Nitrox 99). Ronjenje s Nitrox mješavinama različitog postotka uglavnom je vezano uz podvodne radove na manjim dubinama te tehničko ronjenje na velikim dubinama gdje se Nitrox mješavine koriste kao dekompresijski plin pri manjim dubinama. Postoje standardne mješavine koje su u upotrebi u rekreativnom ronjenju - Nitrox 32 i Nitrox 36. Posljednjih je godina prisutna ekspanzija upotrebe Nitrox mješavina u rekreativnom ronjenju zbog niza prednosti, ali i zbog rastućeg trenda upotrebe mješavina koje nisu zrak.

Unatoč nizu prednosti, postoje i opasnosti upotrebe Nitrox mješavina. Svaka upotreba mješavina drugačijih od zraka zahtijeva točnu analizu mješavine i planiranje ronjenja prilagođenog svojstvima mješavine.

Naime, pri uporabi ovakvih mješavina puno je veća vjerojatnost toksičnih učinaka kisika zbog većeg parcijalnog tlaka na manjim dubinama (u slučaju NITROX 36 mješavine radi se o dubini od 34 m, za razliku od zraka gdje je isti parcijalni tlak kisika tek na 66 m dubine). Bez obzira na niz nedostataka, ronjenje s NITROX mješavinama u porastu je i sve je šire zastupljeno u rekreativnom ronjenju, ali moramo imati na umu da ronjoci koji rone s NITROX mješavinama moraju biti puno discipliniraniji u planiranju i izvedbi ronjenja u odnosu na ronioce koje koriste boce sa zrakom. Nitrox se također može koristiti kao dekompresijski plin.

Trimix, mješavina helija, kisika i dušika koristi se za duboke tehničke i rekreacijske zarone (40-100 m), jer smanjuje dušikom uvjetovanu narkozu te zbog manje gustoće u stlačenim uvjetima smanjuje napor pri disanju. Korištenjem trimix-a izbjegava se hiperoksija i smanjuje rizik od hiperbaričnog neurološkog sindroma. Kisik postaje toksičan pri parcijalnom tlaku od 1,6 bara, a dušik izaziva dušikovu narkozu, „pijanstvo velikih dubina“ pri parcijalnom tlaku od 3,5 bara i više. Nedostatak je ove smjese tehnički zahtjevna priprema smjese (4). Za svaku dubinu priprema se određena mješavina koja predstavlja „best mix“, tj. ima optimalni odnos volumena ovih triju plinova prilagođen dubini zarona. Oznake na bocama za trimix su primjerice TX 16/40 gdje prvi broj označava postotak kisika, a drugi postotak helija u mješavini, naravno ostatak do 100 % je dušik.

S obzirom na to da se smanjuje količina kisika, neke od trimix mješavina ne smiju se disati od površine jer na površini imaju premali parcijalni tlak kisika te se koriste „travel mix“ mješavine koje se udišu na početku ronjenja i pri povratku s velike dubine. Pri ronjenju na dubine između 60 i 100 m, potrebno je koristiti minimalno tri trimix mješavine. Jedna je „bottom mix“, u ovom slučaju TX, druga je „travel mix“, koji se započinje udisati na polovici maksimalne dubine pri povratku, a treća je „deko mix“ koji se udiše do izranjanja na površinu. Ove procedure uporabe određenih mješavinana određenim dubinama različite su u praksi različitih škola ronjenja. Neke škole imaju standardne 3 trimix mješavine od kojih se prva koristi u rasponu od 40 do 60 m, druga od 60 do 80 m i treća od 80 do 100 m.

Iako je ronjenje na dah – BHD (engl. *breath-hold diving*) najčešće zastupljen natjecateljski oblik ronjenja, ronjenje uz pomoć autonomnog ronilačkog aparata – SCUBA (engl. *self contained underwater breathing apparatus*) vrlo je često zastupljeno u rekreativnim, vojnim, istraživačkim i ekološkim aktivnostima (2, 9). Uz pomoć SCUBA opreme nadvladava se snažna tlačna sila vode na velikoj dubini koja se suprotstavlja sili inspiracijskih mišića. Takvo ronjenje zahtijeva specijaliziranu opremu (Slika 2). Najvažniji je dio opreme sustav koji se sastoji od čeličnog ili aluminijuskog spremnika pod tlakom (obično se nosi na leđima). Regulator omogućuje da ronilac dobiva zrak uz isti tlak kao što je onaj u vanjskoj okolini, tj.

da se visoki tlak iz spremnika snizi. Kombinirani ventil za udisanje omogućuje uvlačenje i izdisanje zraka uz vrlo mali negativni, tj. pozitivni tlak. Opremi pripada i maska te sustav cijevi za dovod (9). To je sustav tzv. „otvorenog kruga“ koji djeluje na slijedećem principu: vrlo visok tlak iz jednog ili više spremnika snižava se preko redukcijskog ventila, pa se zrak doprema do roniočevih usta pod tlakom samo malo višim od tlaka okolne vode (9).

Važna prednost SCUBA uređaja je u tome što zrak ne mora neprekidno strujati u masku, već pri svakom udahu mali negativni tlak, kao početak udisaja, otvara membranu na kombiniranom ventilu i dopušta ulazak zraka u roniočevu masku i dalje u pluća. Time ostvaruje višestruka prednost jer sustavom struji samo količina zraka potrebna za jedan udah. Spremnik je obično pričvršćen na ronioca preko kompenzacijske naprave za plutanje; to je prsluk za napuhivanje koji ronilac rabi za regulaciju plutanja u vodi. Za sprječavanje plutanja rabe se i utezi pričvršćeni za pojas ili uključeni u džepove kompenzacijske naprave za plutanje koji se mogu brzo isprazniti. Tijekom zarona, temperatura na dubini zarona u pravilu je niža nego temperatura na površini te je nužna odgovarajuća odjeća za smanjenje gubitka topline suho ili mokro odijelo. U mnogim se situacijama u opremi nalaze i rukavice i čizme, obično izrađene od neoprena.



Slika 2. Prikaz pune ronilačke opreme

Prilagođeno prema: *DiveIn.com. Dostupno na poveznici: <https://www.divein.com/> (svibanj 2021.)*

Kada je ronilac potpuno pripremljen, u SCUBA opremi mišićno koštani sustav je pod znatnim stresom i prije no što ronilac uđe u vodu. Promjena okolišnog tlaka, temperatura,

psihološki stres i pojačani rad dišnih mišića imaju brojne značajne posljedice u organizmu (9). Nakon jednog ili nekoliko uzastopnih zarona, nastaju poremećaji srčane funkcije, znakovi endotelne disfunkcije i oštećenja autonomnog živčanog sustava koja mogu trajati od nekoliko sati do nekoliko dana (10-12). Uzrokovani su širokim spektrom čimbenika kao što su hiperoksijom induciran oksidacijski stres, venska i arterijska zračna embolija te endotelna disfunkcija sa cirkulirajućim (engl. *shedding*) mikročesticama (13).

1.2. Endotel

Endotel se sastoji od stanica koje u jednom sloju, debljine od 0.5 do 1 μm , oblažu unutarnje stijenke od srca do najmanjih kapilara cijelog cirkulacijskog sustava. Endotel je po današnjim saznanjima puno više od puke barijere koja selektivno propušta vodu i elektrolite. Funkcija endotela obavljanje je brojnih kompleksnih i jedinstvenih funkcija od iznimne važnosti za vaskularnu homeostazu (14, 15). Endotelne stanice imaju osjetne i efektorske sposobnosti kojima prepoznaju fizikalne i kemijske podražaje te na njih reagiraju promjenama sastava staničnih membrana, stanične organizacije i brojnih biokemijskih procesa. Endotel svojim autokrinim, parakrinim i endokrinim lučenjem djeluje na vlastite stanice i glatke mišićne stanice krvnih žila, leukocite, trombocite i udaljena tkiva. Osim u prometu tekućina i otopljenih tvari, endotel sudjeluje u metabolizmu vazoaktivnih medijatora i lipoproteina, uspostavljanju redoks-ravnoteže, stvaranju izvanstaničnog matriksa, hormonskoj homeostazi, a izražajem adhezijskih molekula u interakciji trombocita i neutrofila s krvožilnom stijenkom. Lučenjem čimbenika rasta i njihovih inhibitora endotel upravlja procesima staničnog rasta, proliferacije i angiogeneze, a lučenjem kemokina i citokina sudjeluje u upalnim procesima i upravlja regulacijom žilne upale i remodeliranja.

Endotel sudjeluje u svim važnim hemostatskim procesima, sprječava kontakt stanica periferne krvi s protrombotskim subendotelnim ekstracelularnim matriksom te inhibira aktivaciju, adheziju i agregaciju trombocita (14, 15). Upravljanje protokom krvi koje se ostvaruje regulacijom vaskularnog tonusa jedna je od glavnih funkcija zdravog endotela. Endotel luči različite vazoaktivne tvari koje upravljaju dilatacijom i konstrikcijom krvožilja u odgovoru na različite podražaje, poput poremećaja protoka krvi ili hipoksije. Endotel modificira i učinak cirkulirajućih vazoaktivnih tvari koje nisu endotelnog podrijetla poput bradikinina i trombina. Učinak endotela na protok krvi ostvaruje se dijelom i zahvaljujući sposobnosti endotelne stanice da stvori aktivnu anti-trombotsku površinu koja pridonosi tekućem svojstvu krvi (14, 15).

Sila hidrostatskog tlaka jedna je od sila na koju djeluje krv u lumenu na stijenkku žile. Ona djeluje okomito na površinu stijenke i uzrokuje njezinu distenziju. Druga je sila trenja koja djeluje tangencijalno na površinu stijenke i proizvodi takozvano smično opterećenje (engl. *shear stress*). Endotelne stanice započinju adaptacijski odgovor s ciljem prilagodbe vaskularnog tonusa protoku krvi čim prepoznaju učinke ovih sila, odnosno promjenu perfuzije tkiva. Učinak endotela na vaskularni tonus rezultat je odnosa između vazodilatacijskih i vazokonstriksijskih mehanizama. Endotelom regulirana vazodilatacija dominantno je posredovana dušičnim oksidom (engl. *nitrogen oxide* – NO).

Istraživanja povećanju promjera krvnih žila (vazodilataciji) nakon što se kroz njih propusti krv ili fiziološka otopina intenziviraju se početkom osamdesetih godina prošlog stoljeća. U eksperimentima Furchgotta i Zawadskog prvi je put dokazan opuštajući faktor koji proizvodi endotel (koji se naknadno identificirao kao NO) (16-19). Kako vazodilatacija izostaje u slučaju odstranjenja endotela iz istih krvnih žila postavlja se pretpostavka kako upravo endotelne stanice oslobađaju jednu ili više vazoaktivnih tvari koje potom dovode do vazodilatacije. U početku je priroda tih tvari bila nepoznata te ih se nazivalo zajedničkim imenom opuštajući čimbenici endotelnog podrijetla (engl. *endothelium derived relaxing factors* – EDRF). Međutim, već 1987. dva nezavisna istraživanja potvrđuju kako je NO najvažniji medijator protokom posredovane vazodilatacije (20, 21).

Postoje i mehanizmi, neovisni o NO-u, kojima endotel upravlja vazodilatacijom. Prostaciklin (PGI₂), koji nastaje aktivnošću ciklooksigenaze iz arahidonske kiseline, i tip C natriuretskog peptida također su vazodilatatori podrijetlom iz endotela (14, 15). Nadalje, hiperpolarizirajući čimbenici podrijetlom iz endotela (engl. *endothelium-derived hyperpolarizing factor* – EDHF) dovode do povećane propusnosti kalijevih kanala i posljedične hiperpolarizacije vaskularnog glatkog mišića koji mogu nadoknaditi učinak NO-a u slučaju njegove smanjene dostupnosti.

S druge strane, endotelin-1, reaktivni kisikovi oblici (engl. *reactive oxygen species* – ROS) i angiotenzin II koji nastaje iz angiotenzina I na endotelnoj površini su vazokonstriksijski čimbenici kojima endotel regulira vazomotorni tonus. Vazokonstrikcija je posredovana i tromboksanom A₂ (TXA₂) iz aktiviranih trombocita (14, 15).

NO je plin koji se sintetizira iz aminokiseline L-arginina u procesu kojeg katalizira endotelna sintaza NO-a (engl. *endothelial nitric oxide synthase* – eNOS) (22). NO difundira do žilne glatke mišićne stanice, aktivirajući gvanilat-ciklazu i posredstvom cikličkog gvanozin-monofosfata (cGMP) smanjuje unutarstaničnu koncentraciju kalcija čime dovodi do relaksacije glatkog mišića, a time i vazodilatacije (22). Dio učinaka NO ostvaruje i nitrozilacijom

cisteinskih ostataka proteina čime modificira njihovu funkciju (14, 15). Ključni je podražaj za aktivnost eNOS-a povećani protok krvi čiji je učinak posredovan reakcijom struktura stanične membrane: glikokaliksa, primarnih cilija i osjetljivih ionskih kanala poput kalijevih koji su osjetljive na smično opterećenje uzrokovanim silom trenja (16, 23, 24) Oni dovode do povećanog izražaja mRNA za eNOS, i njegove odgovarajuće post-translacijske modifikacije (25). U aktivaciji eNOS-a mogu sudjelovati i acetilkolin, bradikinin, kalcij, adenzin, vaskularni endotelni čimbenik rasta (engl. *vascular endothelial growth factor*, VEGF) u odgovoru na hipoksiju ili serotonin koji se otpušta prilikom agregacije trombocita (26).

Za vaskularnu su homeostazu, osim učinka NO-a na vaskularne glatke mišićne stanice, važni i učinci na trombocite i leukocite. NO-om izazvan porast cGMP-a u trombocitima dovodi do inhibicije njihove aktivacije, adhezije i agregacije. Time se inhibira trombogeneza, dovodi do smanjenja adhezivnog potencijala i aktivacije leukocita i upale. NO ograničava oksidacijsku fosforilaciju i stvaranje reaktivnih kisikovih oblika (engl. *reactive oxygen species*, ROS) u mitohondrijima. Uz ove učinke, NO poticanjem proliferacije endotelnih stanica te mobilizacijom sazrijevanja endotelnih progenitorskih stanica (engl. *endothelial progenitor cell*, EPC) iz koštane srži obnavlja oštećeni endotel. NO ima vrlo kratko poluvrijeme života od nekoliko sekundi i inaktivira se interakcijom sa slobodnim radikalima poput ROS-a, s kojima čini redoks-ravnotežu (14, 15).

Pojam endotelne aktivacije podrazumijeva fiziološko stanje u kojem određeni podražaj izazove transformaciju endotelne stanice iz neaktiviranog u aktivirani fenotip. Temeljna je promjena u podlozi ove transformacije pojačano stvaranje ROS-a koji inaktivira NO i dovodi do njegove smanjene raspoloživosti te neravnoteže u redoks sustavu. Stvaranje peroksinitrita iz ROS-a i NO-a ključni je inicijator kroničnog poremećaja endotelne funkcije (27). Peroksinitrit uzrokuje monomerizaciju, odnosno odvaja eNOS-a od njegovog kofaktora tetrahidrobiopterina (BH₄) kojeg oksidacijom inaktivira. U monomernom se obliku eNOS transformira iz oksidaze u reduktazu, pa i sam sudjeluje u stvaranju ROS-a i superoksida umjesto NO-a. Reakcijom superoksida s NO-om također nastaje peroksinitrit, čime se stvara začarani krug (28).

Peroksinitrit i ROS reagiraju s cisteinskim ostacima proteina čime mijenjaju njihovu funkciju, a peroksinitrit sudjeluje i u oksidaciji lipoproteina (27). Ipak, osim inaktivacije, smanjena razina NO-a može biti posljedica i smanjene aktivnosti eNOS-a bilo zbog učinka egzogenih ili endogenih inhibitora (poput asimetričnog dimetilarginina) bilo zbog slabe dostupnosti supstrata L-arginina ili kofaktora BH₄ (22).

1.3. Endotelna disfunkcija

U slučaju izlaganja endotela podražaju različite etiologije, intenziteta ili trajanja, endotelna aktivacija prelazi u patofiziološko stanje koje nazivamo endotelnom disfunkcijom, a u kojem štetni podražaj uzrokuje transformaciju endotelne stanice, ponekad čak i trajnu, u fenotip koji je obilježen gubitkom mehanizama prilagodbe na fizikalna ili kemijska oštećenja žilne stijenke. Endotelna je disfunkcija, osim poremećaja regulacije vaskularnog tonusa, obilježena i drugim poremećajima koji su specifični za ateroskleroza: povećanom propusnošću za neke makromolekule (kao što su lipoproteini), povećanom ekspresijom kemotaktičkih i adhezijskih molekula, pojačanim nakupljanjem monocita i makrofaga u intimi u obliku pjenastih stanica, smanjenim obnavljanjem endotelnih stanica, a povećanom proliferacijom i migracijom glatkih mišićnih stanica, povećanom ekspresijom prokoagulacijskih molekula (kao što su von Willebrandov čimbenik (engl. *von Willebrand factor*, vWF) i tkivni čimbenik (engl. *tissue factor*, TF), kao i pojačanim stvaranjem trombina, agregacijom trombocita i taloženjem fibrina (23).

Ovakvu neprikladnu aktivaciju endotela mogu izazvati: starenje, oksidacijski stres, proupalni citokini poput interleukina-1 (IL-1), bakterijski endotoksini, C-reaktivni protein (CRP), virusi i čimbenik tumorske nekroze- α (engl. *tumor necrosis factor- α* -TNF- α), metabolički sindrom s ROS-om i adipokinima, arterijska hipertenzija s ROS-om i angiotenzinom II, hiperkolesterolemija s produktima oksidacije lipoproteina, šećerna bolest s hiperglikemijom i krajnjim produktima glikozilacije, cigaretni dim, okolišni zagađivači, kao i hemodinamski čimbenici poput turbulentnog protoka krvi (14, 15).

Gotovo svi dobro poznati čimbenici kardiovaskularnog rizika mogu izazvati endotelnu disfunkciju pa se o njoj razmišlja kao o pokazatelju ukupnog kardiovaskularnog rizika koji bi bio rezultanta svih poznatih i nepoznatih aterogenih i ateroprotektivnih čimbenika uključujući i genetsku predispoziciju (29-31). Rezultati niza istraživanja u kojima se makrovaskulama i mikrovaskularna endotelna disfunkcija pokazala neovisnim prediktorom štetnih kardiovaskularnih događaja tome idu u prilog (29-36).

Endotelna disfunkcija smatra se ključnim ranim poremećajem u patogenezi ateroskleroze i njezinim najranijim biljegom koji prethodi nastanku jasnih morfoloških vaskularnih promjena i pridonosi njihovoj progresiji (37, 38). Povezuje se s kardiovaskularnim bolestima poput arterijske hipertenzije, srčanog zatajivanja i koronarne bolesti, perifere arterijske bolesti, k tome i sa šećernom bolešću, pankreatitisom, kroničnim zatajivanjem bubrega, te stanjima sa sustavnom upalom poput KOPB-a i reumatoidnog artritisa (30).

Kada dugotrajna ili opetovana izloženost štetnim čimbenicima iscrpi obrambene sposobnosti endotela, u endotelnim stanicama započinje proces ubrzanog starenja. Pri tome dolazi do otpuštanja dijelova endotelne stanice koje nazivamo endotelne mikročestice (engl. *endothelial microparticle* – EMP). Dolazi i do odvajanja cijelih endotelne stanice od žilne stijenke i njihovog otpuštanja u krvnu cirkulaciju (engl. *circulating endothelial cell* – CEC). Istovremeno, oštećenje endotela uzrokuje pojačano otpuštanje pluripotentnih matičnih stanica koštane srži - endotelne progenitorske stanice (engl. *endothelial progenitor cell* - EPC) koje sudjeluju u vaskularnom oporavku i angiogenezi.

Kao cirkulirajući biljezi endotelne oštećenja služe nam EMP-ovi i CEC-ovi, dok su EPC-ovi odraz kapaciteta oporavka endotela (39, 40). Većina terapijskih intervencija, koje smanjuju kardiovaskularni rizik, imaju povoljan učinak na endotelnu funkciju - primjena statina, inhibitora enzima koji konvertira angiotenzin (engl. *angiotensin-converting enzyme inhibitors* – ACEI), blokatora receptora angiotenzina II (engl. *angiotensin II receptor blockers* – ARB), blokatora kalcijevih kanala, nekih blokatora β -adrenergičkih receptora ili metformina. Endotelna disfunkcija potencijalno je reverzibilni proces. Sličan učinak na endotelnu funkciju imaju i promjene životnih navika poput prestanka pušenja, povećanja tjelesne aktivnosti ili mršavljenja (29, 30).

1.4. Klinička procjena endotelne funkcije

Razvoj niza metoda za testiranje različitih aspekata endotelne funkcije potaknut je povezanošću endotelne disfunkcije sa svim stadijima aterosklerotske kardiovaskularne bolesti i njezinom vrijednošću kao neovisnog prediktivnog čimbenika štetnih kardiovaskularnih događaja. Te metode pružile su i mogućnost otkrivanja najranijih stadija kardiovaskularnih bolesti, kvantificiranje kardiovaskularnog rizika te procjenu odgovora na različite terapijske intervencije (30).

Budući da u regulaciji endotelne funkcije ipak najveću ulogu ima NO, integritet i funkcija endotela u praksi se najčešće procjenjuju mjerenjem učinka NO-a. Kako je koncentraciju NO-a teško mjeriti *in vivo* jer je NO lako difuzibilna molekula vrlo kratkog poluvijeka eliminacije, učinak NO-a procjenjuje se posredno, mjerenjem sposobnosti dilatacije krvne žile.

Vazodilatacija se može potaknuti lokalnom primjenom vazoaktivnih tvari poput vazodilatatora ovisnih o endotelu (acetilkolin, bradikinin, serotonin, tvar P), egzogenih donora NO-a (nitroprusid, nitroglicerol), endogenih donora NO-a (adenozin), ili fizikalnim

podražajem, odnosno izazivanjem naglog povećanja protoka krvi s porastom smičnog opterećenja (30). To se postiže npr. tahikardijom izazvanom elektrostimulacijom, vožnjom bicikla u ležećem položaju ili termalnom hiperemijom te reaktivnom hiperemijom nakon okluzije arterije (41). U ostvarenoj vazodilataciji mogu sudjelovati i drugi mehanizmi, a zastupljenost je NO-a kao posrednika vazodilatacije različita (42).

Iako su u primjeni i neinvazivne metode poput magnetske rezonance (MR), ehokardiografije i pozitronske emisijske tomografije (engl. *positron emission tomography* – PET), izravno je mjerenje vazodilatacije ovisne o endotelu za vrijeme koronarografije zlatni standard u procjeni endotelne funkcije epikardijalnih krvnih žila. Vazodilatacija posredovana protokom (engl. *flow-mediated dilatation* – FMD), neinvazivna je metoda kojom se najčešće procjenjuje endotelna funkcija. Tom se metodom ispituje sposobnost provodne arterije da pojačanim otpuštanjem NO-a i vazodilatacijom odgovori na povećano smično opterećenje krvožilne stijenke uzrokovano povećanim protokom zbog reaktivne hiperemije. Pri tome se ultrazvukom visoke rezolucije utvrđuje razlika između početnog promjera arterije i njezinog maksimalnog promjera za vrijeme dilatacije (34).

FMD je, premda ne u cijelosti, uglavnom ovisan o endotelu i poglavito posredovan NO-om pa se smatra mjerom biorasplošivosti NO-a. Za razliku od FMD-a, vazodilatacija posredovana nitroglicerinom (engl. *nitroglycerine-mediated dilation* – NMD) ne ovisi o protoku i funkciji endotela, već o osobinama vaskularne stijenke, prije svega glatkog mišićnog sloja (33, 34, 37, 42-44). Celermajer je sa suradnicima 1992. godine primijenio ovu metodu *in vivo* usporedivši vazodilatacijske učinke reaktivne hiperemije s vazodilatacijskim učincima sublingvalno primijenjenog donora NO-a nitroglicerina (37, 42).

Krvne žile većeg promjera imaju manju sposobnost dilatacije od krvnih žila manjeg promjera, FMD krvnih žila promjera većeg od 6 mm minimalan je i to je razlog zbog kojeg se u odraslih ne izvodi FMD karotidnih i zajedničkih femoralnih arterija. S druge strane, FMD krvnih žila promjera manjeg od 2.5 mm teško se pouzdano procjenjuje. Stoga su za ovu metodu pogodne radijalna, aksilarna, površinska femoralna i brahijalna arterija. Najčešće se u praksi mjeri FMD brahijalne arterije pri čemu se može komprimirati sama brahijalna arterija (nadlaktična, proksimalna kompresija) ili njezin ogranak radijalna arterija (podlaktična, distalna kompresija). Test proksimalnom kompresijom tehnički je zahtjevniji zbog okluzije ispitivane arterije, ali se u usporedbi s podlaktičnom kompresijom očekuje veći relativni porast promjera arterije što čini metodu prikladnom za detekciju čak i manjih učinaka (34).

Okluzija se izaziva kompresijom arterije manžetom sfigmomanometra tijekom 5 minuta i to tlakom koji je najmanje 50 mm Hg viši od sistoličkog tlaka ispitanika. Ako FMD

induciramo intervencijama koje izazivaju veće smično opterećenje (npr. okluzijom arterije dužeg trajanja ili proksimalno smještenom manžetom) dobijemo veći relativni porast promjera arterije, ali je taj porast dijelom ovisan i o drugim vazoaktivnim tvarima osim NO-a (34).

Arterije različite veličine, položaja i građe razlikuju se u sadržaju eNOS-a i relativnom doprinosu NO-a FMD-u, pa metodološki pristup FMD-u, rezultati i njihova interpretacija nisu usporedivi s FMD-om brahijalne arterije. Utjecaj na FMD imaju i obroci, tjelesna aktivnost, alkohol, kofein, neki lijekovi, okolišna temperatura, doba dana, tonus simpatičkog živčanog sustava, a u žena i faza menstrualnog ciklusa. Stoga je u smjernicama preporučeno izvođenje testa natašte, nakon barem šestosatnog ustezanja od spomenutih potencijalno zbunjujućih čimbenika, u približno isto doba dana, u tihoj, zamračenoj prostoriji kontrolirane temperature, nakon odgovarajućeg perioda mirovanja. Iako počiva na jednostavnom principu, FMD je tehnički izazovna metoda koja zahtijeva odgovarajuću metodološku standardizaciju kako bi se postigla što bolja reproducibilnost. Pri mjerenju posebnu pozornost treba posvetiti pozicioniranju ultrazvučne sonde i manžete sfigmomanometra, vremenu arterijske okluzije, preciznosti u korištenju softvera za detekciju rubova i procjeni veličine dilatacije (34, 45).

Pri izvođenju FMD-a s distalnom kompresijom izmjeri se najprije početni promjer (D_0) brahijalne arterije prije inflacije manžete sfigmomanometra kojom se radijalna arterija okludira tijekom 5 min. (76). Nakon toga se brzim otpuštanjem (deflacijom) manžete izazove reaktivna hiperemija. Promjer brahijalne arterije ponovno se mjeri, ovaj put kontinuirano u periodu od 30 s prije do 5 min. nakon otpuštanja podlaktične manžete, pri čemu se postizanje vršnog promjera (D_{max}) očekuje unutar 120 s. od prekida kompresije (46).

Vrijeme do postizanja vršnog promjera samo je djelomično ovisno o NO-u i za sada se ne čini korisnim pokazateljem endotelne funkcije (47). Razlika između vršnog i početnog promjera arterije predstavlja apsolutni FMD (mm), a izražava se sljedećom formulom:

$$\text{FMD (mm)} = D_{max} - D_0 \quad (\text{Jednakost 1})$$

Porast promjera u odnosu na početni promjer jest FMD% indeks ili relativni FMD (%), a izražava se sljedećom formulom:

$$\text{FMD (\%)} = D_{max} - D_0 / D_0 \times 100 \quad (\text{Jednakost 2})$$

Uz promjer arterije, u testu se mjeri i brzina struje krvi. Iz podataka o promjeru arterije i brzini struje krvi izračuna se stopa smicanja (engl. *shear rate* – SR) kao mjera smičnog opterećenja (42, 48-50). Iako je stopa smicanja ovisna i o viskoznosti krvi, ona se, budući da je razmjerno stalna, ne uzima u obzir i nema značajnog utjecaja na procjenu smičnog opterećenja i interpretaciju rezultata FMD-a (34, 42).

Ultrazvučni se pregled izvodi „duplex“ uređajem visoke rezolucije koji objedinjuje B prikaz longitudinalno prikazane arterije za mjerenje promjera i doplerski pulsni signal za mjerenje brzine struje krvi (34, 50). Da bi se jedinstvenom linearnom sondom zadovoljila preciznost procjene brzine struje krvi doplerskim signalom i optimalni B prikaz, kut insonacije ne bi smio biti veći od 60°. Zahvaljujući automatiziranom softveru za praćenje stijenki i detekciju rubova, promjer arterije može se izmjeriti preciznošću manjom od 0.05 mm. Može se mjeriti na kraju dijastole kako bi se izbjegao utjecaj različitosti arterijskog promjera tijekom srčanog ciklusa posljedično promjenama tlaka plusa ili se pak može izračunati prosječan promjer arterije tijekom cijelog srčanog ciklusa.

1.5. Dekompresijska bolest

Dekompresijska bolest (DB) jedna je od manifestacija štetnog djelovanja ronjenja u središnjem živčanom sustavu (SŽS) koja nastaje prilikom smanjenja okolišnog tlaka tijekom izranjanja ili prilikom povećanja nadmorske visine (zrakoplovni letovi, svemirski programi). Njome su se susretali ronionci već od 19. stoljeća te je bila najvećim razlogom zdravstvenih problema i smrti profesionalnih ronilaca. Osim u obliku koji zahvaća SŽS, postoji također i kožni oblik bolesti (tip 2). Prvi je znakove DB u ljudi, u kesonskih radnika koji su imali bolove i grčeve mišića opisao 1841. god. Triger. Godine 1854. Pol i Watelle uočavaju da se simptomi ove bolesti javljaju samo nakon napuštanja atmosfere povišenog tlaka (51).

Godine 1892. Osler je opisao DB kao opću slabost uz paraplegiju nakon povratka iz uvjeta povišenog tlaka. Francuski fiziolog Bert uočava da se mjehurići nastali tijekom brzog izrona uglavnom sastoje od dušika.

Zavod za pomorsku medicinu Hrvatske vojske, utemeljen 1964. god. (do 1991. Institut pomorske medicine JRM-a) krovna je stručna i znanstvena ustanova medicine ronjenja u Hrvatskoj. Pri ovoj ustanovi od 1996. god., djeluje Hrvatsko društvo za pomorsku, podvodnu i hiperbaričnu medicinu. U posljednja dva desetljeća u istraživanju temeljnih aspekata dekompresijske bolesti u svijetu osobito se ističu znanstvenici okupljeni u Zavodu za integrativnu fiziologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu.

Dekompresijska je bolest uzrokovana stvaranjem mjehurića inertnog plina (obično N₂) u krvotoku i tkivima, nakon pada tlaka okoline. Za nastanak DB važna je brzina saturacije i desaturacije inertnog plina u normalnim i promijenjenim atmosferskim uvjetima, što ovisi o prokrvljenosti tkiva. Krv, pluća, jetra, slezena i bubrezi saturiraju se razmjerno brzo, za 1-2 min, a masno, koštano, hrskavično tkivo i koštana srž primaju i eliminiraju inertne plinove

sporije (51). Zbog pada tlaka pri izronu tijelo više ne može „zadržati“ višak dušika u otopljenom stanju, što je u dubini bilo moguće sukladno Henryjevom zakonu: količina plina koja će se otopiti u nekoj tekućini ovisi o veličini tlaka nad tekućinom, temperaturi i o koeficijentu topljivosti tog plina za tu vrstu tekućine (51).

Za vrijeme sporog (postupnog, stepeničastog) napuštanja sredine povišenog tlaka „višak“ dušika postupno će se uklanjati difuzijom iz tkiva u krv, te iz krvi u pluća, odakle se uklanja izdisajem. Suprotno tome, za vrijeme brzog smanjivanja tlaka, primjerice tijekom naglog izrona, dolazi do prezasićenja tkiva dušikom i do nastanka plinskih mjehurića u tkivima i krvi (prag saturacije za dušik je 11700 kPa). Pritom će broj mjehurića biti veći što je bio veći stupanj tkivnog zasićenja dušikom. Postavljena je i hipoteza o postojanju „plinskih klica/jezgri“ (engl. *gas nuclei*) promjera oko 1 μm koje, uz prezasićenje plinom, sudjeluju u stvaranju mjehurića (34).

Rizik stvaranja mjehurića ovisi o dubini i dužini ronjenja („*dekompresijska doza*“) te o brojnim čimbenicima rizika („*stresorima*“), od kojih je najvažnija brzina izranjanja. Vrsta i izraženost simptoma i znakova ovisi i o broju, veličini i lokalizaciji mjehurića. Mali mjehurići često ne izazivaju nikakve simptome. Što je mjehurića više i što su veći, vjerojatniji je razvoj klinički očigledne DB, iako postoje pokazatelji da do DB ne mora doći čak ni uz veliki broj mjehurića (52, 53).

DB javlja se ukoliko je prekršena preporuka o dubini i trajanju ronjenja ili uslijed neadekvatnog procesa dekompresije-najčešće ako se izron obavi prebrzo. Međutim pokatkad i ronjenje uz čvrsto poštivanje postupaka definiranih ronilačkim tablicama nije jamstvo da se DB neće razviti (51). Naime, opisani su slučajevi DB nakon ronjenja kod kojih, zbog male dekompresijske doze, uopće nije bio potreban postupni stepeničasti izron, odnosno pri čemu se radilo o tzv. ne-dekompresijskom ronjenju. Osim profila ronjenja (dubina/vrijeme) i načina izranjanja, na rizik od nastanka DB utječe još čitav niz drugih čimbenika: dehidracija, hipotermija, dob, težak rad pod morem, uzimanje alkoholnih pića ili pića koja sadrže kofein prije ili poslije ronjenja, otvoren *foramen ovale* (engl. *patent foramen ovale* - PFO), te drugi čimbenici rizika.

Glavna su mjesta na kojima se stvaraju plinski mjehurići endotel krvnih žila, fascije i tetive, jer hidrofobnost njihove površine olakšava stvaranje plinskih mjehurića iz prisutnih plinskih jezgara. Rast plinskih mjehurića iz navedenih mikro jezgara može se odvijati tijekom ili nakon dekompresijske faze ronjenja (54).

Ekstravaskularni mjehurići mogu dovesti do mehaničke ozljede tkiva, distorzije i posljedično boli, dok intravaskularni mjehurići mogu začepiti krvne žile te smanjiti tkivnu

perfuziju i eliminaciju inertnih plinova (51). Većina intravaskularnih mjehurića nastaje u venskoj cirkulaciji pri čemu ih pluća filtriraju i ujedno sprječavaju njihov ulazak u sustavnu cirkulaciju. Izuzetci u kojima mjehurići ulaze u arterijsku cirkulaciju (tzv. arterijalizacija mjehurića) te mogu dovesti do arterijske plinske embolije su preplavlivanje plućne cirkulacije prevelikom brojem mjehurića, plućna barotrauma koja također predstavlja komplikaciju ronjenja te prisutnost srčanog septalnog defekta odnosno PFO-a. PFO nalazimo u 20-30 % zdravih osoba (55).

Mali septalni defekt obično nema značaja u prijenosu mjehurića u arterijski sistemski krvotok jer kroz njega prolazi zanemarivo mala količina krvi i mjehurića. Međutim, veliki septalni defekt dovodi do arterijalizacije mjehurića s potencijalnom opasnošću od njihova štetna učinka. Uobičajena su mjesta distribucije mjehurića nakon njihove arterijalizacije moždana cirkulacija i srednja moždana arterija, gdje intravaskularni mjehurići mogu dovesti do smanjenja moždanog protoka krvi, narušiti integritet krvno-moždane barijere s razvojem edema mozga te dovesti do najtežeg, neurološkog oblika DB (4).

Premda je DB dugo povezivana s učincima plinskih mjehurića nastalih tijekom dekompresije, bilo je slučajeva DB u ronilaca bez ili s vrlo malo mjehurića u cirkulaciji (56). Stoga je postavljena hipoteza o plinskim mjehurićima kao pogoršavajućem čimbeniku, a ne uzroku dekompresijske bolesti (57). U brojnim studijama pokazano je da plinski mjehurići vrlo često nastaju i nakon uobičajenih rekreacijskih zarona, a prilikom kojih su poštivana sva pravila dekompresije. Takvi plinski mjehurići najčešće ne uzrokuju kliničke simptome pa su nazvani i „tihim mjehurićima“. Unatoč tome, ronjenje s komprimiranim plinskim smjesama često uzrokuje asimptomatske promjene kardiovaskularne funkcije: smanjenje kontraktilne snage lijeve klijetke s povećanjem razine atrijskog natriuretskog peptida u krvi, porast tlaka u plućnoj arteriji i blagi plućni edem, te endotelnu disfunkciju (53, 58). Obično se simptomi DB javljaju nakon 4-6 sati, od svih slučajeva oko 85% manifestira se tijekom prvog sata nakon izrona, dok se oko 95% manifestira unutar 12 sati, a rijetko s latencijom od 36 i više sati nakon izrona (51).

Velik je broj neprepoznatih, zanemarenih ili neprijavljenih simptoma DB. U jednom od oblika bolesti javljaju se bolovi u koljenima, nogama, trbuhu, ponekad uz povraćanje i glavobolju te specifičnu obojenost kože, najčešće trupa (*marmorizacija*). Najčešće se DB očituje dezorijentacijom, vrtoglavicom, svrbežom kože, bolovima u kostima, ligamentima i tetivama ruku i nogu (2). Teži se oblici očituju motornom slabošću kojom mogu biti zahvaćeni tijelo i udovi do paraplegije i tetraplegije. Česti su i osjetni ispadi, kao hiperstezija ili disestezija. U najtežim slučajevima razvijaju se simptomi koji mogu imitirati kliničku sliku

moždanog udara. Smrtni ishod je rijedak. Neurološka oštećenja ponekad će trajno zaostati, i pored žurnog specifičnog liječenja u barokomori.

Tablica 1. Tradicionalna podjela DB po Elliottu i Kindwallu.

Dekompresijska bolest	
Tip 1	Tip 2
A. Koštano-mišićni oblik	A. Plućna DB
B. Kutani i kožni oblici	B. Neurološka DB
b1. prolazni svrbež	b1. DB spinalne medule- kralježnične moždine
b2. kožne cirkulacijske manifestacije	b2. cerebralna DB
b3. limfatička DB	b3. DB perifernih živaca
C. Opća slabost, anoreksija i umor	C. Hemokoncentracija i hipovolemički šok

Prilagođeno prema: Vann RD, Butler FK, Mitchell SJ, Moon RE. Decompression illness. *Lancet*. 2011;377:153-64.

Kratkoća daha, bolovi i kašalj, kao posljedica plućne DB (engl. *chokes*), znatno su rjeđi nego koštano-mišićne ili neurološke smetnje. Plućni oblik nastaje pokretanjem mjehurića dušika iz venskog sustava prema plućima. Premda se manji broj mjehurića zaustavlja u plućima i uklanja izdahom, mnogi preplave plućnu cirkulaciju i vode do respiracijskog distresa.

Moždani oblik DB (do 40% neurološkog oblika DB) obično je posljedica poremećaja arterijske cirkulacije, kralježnični (do 60% neurološkog oblika) venskih infarkta i stvaranja mjehurića *in situ* (tzv. autohtoni mjehurići) unutar tkiva kralježnične moždine (51). Neurološka DB ima širok spektar simptoma. Najteži je oblik mijelopatija uz ozljedu prsnog dijela kralježnične moždine. Najčešći simptomi su parestezije, gubitak osjeta u tijelu i udovima, slabost nogu, bol u prsnom košu, leđima i zdjelici te gubitak kontrole rada mjehura i crijeva. Pri pregledu se obično ustanove monopareza ili parapareza, te poremećaj osjeta i sfinktera, iako nalaz može biti i uredan. Moždani oblik DB može se pojaviti sam ili u kombinaciji s ostalim oblicima, uz kvantitativnu promjenu svijesti, razmišljanja, konfuziju, slabost, glavobolju, dvoslike, gubitak vida i drugo. Uz ostale simptome lokalnog oštećenja na neurološkom pregledu najčešće se utvrdi hemipareza, hemihipestezija disfazija, ataksija i hemianopsija.

Dijagnoza se najčešće može lako i brzo postaviti već temeljem anamneze, a na nju, uz neke od navedenih simptoma i/ili znakova upućuju i podatci o nedavnom ronjenju. Paralitički oblici DB danas se sve češće susreću kod rekreacijskog SCUBA ronjenja pa i nakon manjih propusta pri izranjanju. Paralitički oblik otporniji je na liječenje, s mogućom posljedicom doživotne invalidnosti. Moždana DB predstavlja teži oblik ove bolesti, no oporavak se može očekivati ukoliko se najžurnije otpočne s liječenjem. Ipak, u nekih ronilaca godinama zaostaju glavobolje i oštećenje pamćenja, premda uz mogućnost postupna oporavka, koje su slične sindromu traume mozga.

Medularni oblik DB karakteriziran je prisustvom plinskih mjehurića u krvotoku kralježnične moždine i patohistološkim promjenama u tkivu, što se klinički očituje različitim stupnjevima mišićne slabosti do potpune kljenuti udova. Obično se pojavljuje kod većih propusta u profilaktičkoj dekompresiji nakon relativno dugog boravka na srednjim i većim dubinama. Mogu se usporediti sa simptomima kod drugih ozljeda kralježnične moždine. Potpuna paraliza donjih udova, rjeđe i gornjih, nakon boravka u atmosferi povišenog tlaka klinički je identična transverzalnim ozljedama kralježnične moždine koje su posljedica drugih uzroka (51). Zaključno, neurološka DB bilo kojeg tipa nastaje uslijed pojave mjehurića u krvožilnom sustavu mozga i kralježnične moždine (3).

Kao što je već ranije spomenuto, djelomično objašnjenje fenomena jest arterijalizacija venskih zračnih embolusa (engl. *venous gas embolus* – VGE) putem ovalnog otvora (lat. *foramen ovale*) na razini atrijske srčane pregrade ili preko novoootvorenih unutarplućnih arteriovenskih anastomoza (engl. *intrapulmonary arteriovenous anastomosis* – IPAVA) (52, 53). Međutim, jedan od mogućih mehanizama nastanka DB je zapravo *de novo* stvaranje mjehurića u krvnim žilama mozga (*in situ*) uslijed smanjene topljivosti inertnih plinova u moždanim tkivima koje potiče pomak tih plinova iz tkiva u krvne žile. Zbog pada okolišnog tlaka, volumen se tih plinova u krvi povećava i oni stvaraju mjehuriće koji potencijalno mogu dovesti do opstrukcije protoka u odgovarajućim krvnim žilama (59). Prisustvo mjehurića dušika u SŽS-u može dovesti do ozbiljnih neuroloških oštećenja s mogućim smrtnim ishodom (60). Vaskularni mjehurići inertnog plina promjera su od 19 do 700 µm. Svi plinovi koje ronilac udiše tijekom boravka pri povišenom tlaku u povećanoj se količini otapaju u krvi i prenose u tkiva. Proces otapanja započinje zaronom i nastavlja se dok se ne postigne ravnoteža između tlaka plina otopljenog u krvi i onog u tkivu, što se naziva saturacijom. S povećanjem količine plina otopljenog u tkivima, povećava se i mogućnost stvaranja mjehurića. Budući da u većini vodenih otopina hipersaturacija -prezasićenje tkiva dušikom nastupa i pri nižim tlakovima, kada se sav „višak“ dušika ne može difuzijom iz krvi u pluća izdahnuti, Harvey je postavio hipotezu

o postojanju plinskih klica koje bi već postojale u otopinama, dakle i u ljudskom tijelu, olakšavajući tako stvaranje mjehurića. Također postoji teorija da lipidne molekule dodirnih površina imaju važnu ulogu u procesu stvaranja VGE te možda služe i kao začetnici procesa (61).

Intenzivni mišićni rad neposredno pred ronjenje može dovesti do ozljede mišića, što olakšava stvaranje plinskih klica, dakle i mjehurića. Tjelesna aktivnost tijekom ronjenja dovodi do povećane ventilacije te do većeg otapanja inertnog plina u krvi, čime se povećava mogućnost nastanka DB. Početkom 20. stoljeća (1908. god), dr. J. S. Haldane je u cilju rješavanja problema DB matematički priredio dekompresijske tablice temeljene na poluvijeku desaturacije dušika (N_2) iz različitih „dijelova tijela“, odnosno vrsta tkiva. „Ispiranjem“ organizma od N_2 pri disanju kisika, ustanovio je da je u tijelu otopljena otprilike jedna l N_2 , što ovisi o zastupljenosti masnog tkiva. Po Haldaneu, prosječni bi muškarac izložen atmosferi povišena tlaka od 2,0 bara, nakon dovoljno vremena provedenog pri tom tlaku, imao u tijelu otopljene 2,0 l N_2 , a pri 5,0 bara pet puta više N_2 (62).

Te su tablice bile prvotno namijenjene ronionicima Britanske kraljevske ratne mornarice, a prikazana načela prevencije DB zadržala su se do današnjih dana. Time je učinjen jedan od vjerojatno ključnih preokreta u podvodnoj medicini. Haldane nije primijetio simptome DB kesonskih radnika koji su bili izravno rastlačeni s tlaka od 200 kPa (2,0 bara) na tlak od 100 kPa (1,0 bar) te je prvi opisao originalni model saturacije i desaturacije organizma inertnim plinom (63).

Sustavna endotelna disfunkcija, uočena nakon pojedinačnog ili uzastopnih zarona, održava se od nekoliko sati do nekoliko dana, ovisno o jačini stresa (64). Uzrokovana je oksidacijskim stresom koji nastaje kao posljedica hiperoksije, VGE i oštećenim integritetom endotela djelovanjem mikročestica (64).

Povezanost SCUBA ronjenja i fizičke aktivnosti privukla je veliku pažnju nakon otkrića da se vježbanjem otvaraju IPAVA putem kojih asimptomatski VGE prelaze u arterijski krvotok i sada kao arterijski zračni embolusi (engl. *arterial gas embolus* – AGE) mogu stići do moždane cirkulacije i potencijalno uzrokovati nastanak i razvoj neuroloških oblika DB (53, 60).

1.6. Anatomija i fiziologija moždane cirkulacije

Mozak koristi oko 20% dostupnog kisika za fiziološko funkcioniranje. Precizna regulacija krvotoka i doprema kisika nužna je za preživljavanje. U fiziološkim uvjetima, protok krvi je konstantan zahvaljujući značajnom doprinosu velikih arterija u kreiranju krvožilnog otpora. Uz to, i arteriole u moždanom tkivu posjeduju značajan bazalni tonus i također značajno doprinose otporu u moždanom krvotoku (65,66).

Mozak arterijsku krv prima iz dva izvora: „karotidnog sliva“ koji čine dvije unutarnje karotidne arterije i „vertebrobazilarnog sliva“ koji čine dvije vertebralne arterije i bazilarna arterija. Ta dva arterijska sustava krvlju opskrbljuju cijeli mozak, a granicu njihovih opskrbnih područja načelno označuje crta što spaja tjemeno-zatiljni žlijeb (lat. *sulcus parieto-occipitalis*) i mamilarna tijela. Dio mozga ispred te crte krvlju opskrbljuje sustav karotidnih, a dio mozga iza te crte sustav vertebralnih arterija. Oba su sustava na bazi mozga povezana anastomozama, pa tako nastaje Willisov arterijski prsten (lat. *circulus arteriosus Willisii*). Willisov prsten povezuje sve četiri glavne arterije u jedinstvenu cjelinu, pa se stoga cijeli arterijski sustav za krvnu opskrbu mozga može podijeliti u dva velika funkcijska sustava: 1) sustav za prehranu velikog mozga, sastavljen od Willisovog prstena i glavnih moždanih arterija (sudjeluje sa 70% u ukupnom moždanom protoku krvi) i 2) sustav za krvnu opskrbu moždanog debla i malog mozga, tj. vertebrobazilarni sustav (30% ukupnog moždanog protoka) (2).

Desna zajednička karotidna arterija, (lat. *arteria carotis communis*-ACC) polazi zajedno s desnom potključnom arterijom iz brahiocefaličnog stabla. Lijeva zajednička karotidna arterija i lijeva potključna arterija polaze direktno s luka aorte. U razini gornjeg ruba štitne hrskavice i kralježaka C3-C4 ili C4-C5 nalazi se račvište zajedničke karotidne arterije na unutrašnju i vanjsku karotidnu arteriju. Unutrašnja karotidna arterija (lat. *a. carotis interna*-ACI) ima 4 topografska odsječka: vratni ili cervikalni, intrapetrozni (u karotidnom kanalu sljepoočne kosti), intrakavernozni (unutar kavernoznog venskog spleta) i supraklinooidni ili cerebralni dio. Vratni dio ACI počinje na račvištu ACC i uzlazi distalno do baze lubanje. U području karotidnog trokuta ACI se nalazi medijalno od jugularne vene (lat. *vena jugularis interna*) i X. moždanog živca. U vratnom dijelu ACI nema ogranaka. Petrozni segment počinje prolaskom arterije kroz karotidni kanal petroznog dijela temporalne kosti. U kanalu ide prema

gore, naprijed i medijalno, prolazi ispred pužnice i bubnjišta. Iz kanala izlazi pri vrhu petrozne kosti i ulazi u stražnji dio foramena laceruma, razdvaja listove tvrde moždanice i ulazi u kavernozi kanal te tvori kavernozi sinus. U tom dijelu arterija zavija prema naprijed, gore i medijalno, do prednjeg klinoidnog nastavka gdje nakon probijanja tvrde moždanice ulazi u moždani dio. Važan ogranak tog dijela je oftalmična arterija- (lat. *a. ophthalmica*), koja predstavlja anatomsku i funkcionalnu komunikaciju između sustava unutrašnje (ACI) i vanjske karotidne arterije (ACE). Intrakavernozi i supraklinoidni odsječak se obično opisuje kao karotidni sifon jer je taj dio arterije zavijen u obliku slova „S“. Karotidni sifon daje niz malih ogranaka za bubnjište (lat. *rami caroticotympanici*), kavernozi i donji petrozni sinus, polumjesečasti ganglij, te moždanice srednje lubanjske jame. Moždani dio daje ogranak, stražnju komunikantnu arteriju (lat. *a. communicans posterior*) i prednje koroidalne arterije te se ubrzo, lateralno od hijazme vidnog živca, dijeli na dvije završne grane, prednju (ACA) i srednju (ACM) moždanu arteriju. Te dvije arterije primaju glavninu krvi iz ACI, a krvlju opskrbljuju prednju polovicu talamusa, žuljevitog tijela (lat. *corpus striatum*) prugastog tijela (lat. *corpus callosum*), najveći dio unutarne čahure, lateralnu površinu sljepoočnog režnja te medijalnu i lateralnu površinu čeonog i tjemenog režnja.

Vertebralne arterije (lat. *arteriae (aa.) vertebrales*, AV) polaze kao prvi ogranci potključnih arterija, s njihove gornje i stražnje strane. U lubanjsku šupljinu ulazi kroz veliki lubanjski otvor (lat. *foramen magnum*). Na razini kaudalnog ruba mosta, lijeva i desna vertebralna arterija se spoje u bazilarnu arteriju (lat. *a. basilaris*, AB) što leži u istoimenom žlijebu na ventralnoj površini mosta. Preko svojih bočnih ogranaka, vertebralne i bazilarna arterija krvlju napajaju vratni dio kralježnične moždine, cijelo moždano deblo i mali mozak, stražnji dio talamusa, zatiljni režanj velikog mozga te donji i medijalni dio sljepoočnog režnja. Jedan ogranak (lat. *a. labyrinthina*) duž VIII moždanog živca odlazi u unutarne uho i donosi krv za slušni i vestibularni osjetni organ. Ogranci vertebralne arterije također opskrbljuju i tvrdu moždanicu stražnje lubanjske jame (96).

Willisov prsten okružuje hijazmu, infundibulum i interpendunkularno područje, a sastoji se od: prednje komunikantne arterije (lat. *a. communicans anterior*), stražnje komunikantne arterije (lat. *a. communicans posterior*), te početnih dijelova lijeve i desne prednje, srednje i stražnje moždane arterije. Willisov prsten i tri glavne moždane arterije-ACA, ACM i ACP, imaju dvije vrste ogranaka: kortikalne (površinske, obodne-cirkumferencijske) ogranke i središnje (dubinske, ganglijske) ogranke. Veći kortikalni ogranci svake moždane arterije prodiru u meku moždanicu i oblikuju površinske spletove žila povezane brojnim anastomozama. No, od tih spletova polaze manje, završne (terminalne) arterije koje se okomito

spuštaju u moždano tkivo. Kraće završne arterije granaju se već unutar moždane kore, a dulje prehranjuju dublje smještenu bijelu tvar moždanih polutki. Kortikalni ogranci povezani su brojnim anastomozama, pa nakon začepljenja jedne od tih žila krv u pogodoeno područje mozga dotječe iz susjednih arterija.

Područja moždane kore, unutarnje čahure i bazalnih ganglija što su smještene na granici opskrbnih područja dvaju primarnih opskrbnih područja arterija označena su slikovitim metaforičkim nazivom, „zadnje livade“ ta su područja najteže pogođena ishemijsko-hipoksijskim oštećenjem mozga. Središnji ogranci polaze od Willisovog prstena i od početnih dijelova ACA, ACM i ACP a potom gotovo okomito prodiru u moždano tkivo i opskrbljuju krvlju međumozak, bazalne ganglije i unutarnju čahuru. Iako i te arterije imaju prekapilarne anastomoze, one obično nisu dovoljne za održavanje primjerenog krvnog optoka u pogođenom području nakon začepljenja nekog od središnjih ogranaka. Stoga su, barem u funkcionalnom smislu, središnje arterije ipak završne arterije.

ACA je završni ogranak unutarnje karotidne arterije, što prelazi na medijalnu površinu moždane hemisfere, zavija prema gore i u nazad i leži u kalozalnom žlijebu, pa se i naziva *a. pericallosa*. Njezini su ogranci *a. frontopolaris* (prehranjuje medijalni dio čeonog režnja) i *a. callosomarginalis* (opskrbljuje paracentralni režanj i dijelove cingularne vijuge), a njezine završne grane opskrbljuju precuneus. Od početnog dijela ACA odvajaju se manji ogranci što krvlju opskrbljuju i glavu kaudatusa i *septum pellucidum*. ACM je izravni nastavak ACI, prelazi preko prednje rupičaste tvori na putu do Silvijeve pukotine i potom se u području inzule podijeli u mnogo velikih ogranaka (*a. temporalis anterior*, *a. orbitofrontalis*, *a. praerolandica*, *a. Rolandica*, *a. postrolandica*, *a. parietalis posterior*, *a. temporalis posterior*). Ti se ogranci lepezasto šire po lateralnoj površini moždane polutke i krvlju opskrbljuju lateralni dio orbitalnih vijuga, donju i srednju čeonu vijugu, velik dio precentralne i postcentralne vijuge, gornji i donji tjemeni režnjić, gornju i srednju sljepoočnu vijugu i sljepoočni pol, a često opskrbljuju krvlju i većinu vijuga na lateralnoj površini zatiljnog režnja. Od početnog dijela arterije odvajaju se središnji ogranci (*aa. capsulolenticulares*). Lijeva i desna ACP završne su grane bazilarne arterije. Nakon polaska iz bazilarne arterije idu lateralno i naprijed (P1 segment), ispred okulomotornog živca. Taj segment je relativno kratak (prosječno oko 6.3 mm). Te arterije običu *crus cerebri*, pa anastomoziraju s ACI posredstvom stražnje komunikantne arterije. Nakon spajanja sa stražnjom komunikantnom arterijom prelazi u P2 segment. Potom se pružaju duž lateralne strane mezencefalona uz medijalni rub tentorija i prelaze na donju površinu sljepoočnog režnja. Završni ogranci ACP su *a. temporalis posterior* (krvlju opskrbljuje prednji donji dio sljepoočnog režnja te *gyrus occipitotemporalis* i *gyrus lingualis*) i *a. occipitalis*

interna. Ova posljednja se podijeli u tjemenozatiljnu arteriju (lat. *a. parieto-occipitalis*) i kalkarinu arteriju (lat. *a. calcarina*). Kalkarina arterija krvlju opskrbljuje primarnu vidnu moždanu koru. Tjemeno-zatiljna arterija opskrbljuje medijalni i donji dio zatiljnog režnja te dio lateralne površine zatiljnog režnja.

Kao što je gore navedeno, krvne žile na bazi mozga povezane su u funkcijski arterijski prsten, *circulus arteriosus Willisii*. Prsten sprijeda zatvara prednja komunikantna arterija koja međusobno povezuje ACA te na taj način omogućuje direktnu komunikaciju između lijevog i desnog karotidnog sustava. Iz karotidnog sifona (CS) polaze sa svake strane stražnje komunikantne arterije koje se spajaju s ACP i čine komunikaciju između karotidnog i vertebrobazilarnog sustava. U slučaju patoloških zbivanja Willisov krug omogućuje razvoj kolateralnih puteva da bi se održala zadovoljavajuća moždana opskrba krvlju.

U velikog broja ljudi javljaju se varijabilnosti Willisovog kruga. Prema različitim autorima pravilan Willisov krug postoji tek u 18-54 % osoba (67). Na razini Willisovog kruga dolazi do anastomoziranja ICA i VA nakon čega se granaju u glavne intracerebralne arterije koje čine kompleksnu mrežu na površini mozga.

Moždanu hemodinamiku definiraju tri parametra: moždani perfuzijski tlak (engl. *cerebral perfusion pressure – CPP*), cerebrovaskularni otpor (engl. *cerebrovascular resistance – CVR*) i rezultirajući volumen moždanog protoka (engl. *cerebral blood flow – CBF*). Moždani protok (CBF) predstavlja omjer između moždanog perfuzijskog tlaka (CPP) i cerebrovaskularnog otpora (CVR). CPP je jednak razlici srednjeg arterijskog tlaka (engl. *mean arterial pressure – MAP*) i intrakranijskog tlaka (engl. *intracranial pressure – ICP*) u stanjima kada je centralni venski tlak (engl. *central venous pressure – CVP*) niži od ICP (2, 11, 13). Cerebralni protok krvi izražava se sljedećom formulom (68):

$$CBF = \frac{MAP - ICP}{CVR} = \frac{CPP}{CVR} \quad (\text{Jednakost 3}).$$

U fiziološkim uvjetima, CPP je približno jednak MAP. CVR ovisi o promjeru arteriola. U slučaju promjene CPP, CBF se održava stalnim promjenama CVR. Taj mehanizam je posredovan konstrikcijom ili dilatacijom moždanih arteriola, koje posljedično dovode do povećanja ili smanjenja CVR. Takva moždana autoregulacija glavni je mehanizam koji osigurava CBF stalnim unatoč promjenama u CPP. Posljedično, CBF se održava stalnim unutar širokog raspona promjena u CPP (između ~50 i ~160 mmHg). Ukoliko dođe do promjena CVR kao rezultata djelovanja vazoaktivnih podražaja, primjerice hiperkapnije ili hipokapnije koje dovode do vazodilatacije ili vazokonstrukcije, CPP se održava stalnim, ali se CBF mijenja (68). Ukoliko dođe do povećanja ili smanjenja CPP izvan granica raspona djelovanja

autoregulacijskih mehanizama (arteriole su već maksimalno proširene ili sužene), CVR se dalje više ne mijenja. Posljedično, CBF pasivno slijedi promjene CPP. Kada dođe do pada u CBF, odnos otpuštanja kisika iz krvi se automatski povećava u svrhu održavanja aerobne glikolize. Daljnje smanjenje u CPP dovest će do kritičnog smanjenja CBF u arterijama koje opskrbljuju mozak, do prelaska na anaerobni metabolizam i konačno do ishemijskog oštećenja mozga (68).

Arterijski krvožilni splet u mozgu vrlo je opsežan i raznolik. Različite dimenzije i tipovi arterija imaju funkciju regulacije cerebrovaskularnog otpora. Arteriole i kapilare (8-50 μm u promjeru) pružaju najveći periferni vaskularni otpor cirkulaciji krvi. Zbog građe njihove stijenke, one mogu mijenjati promjer (vazokonstrikcija i vazodilatacija) te na taj način regulirati otpor i protok krvi kroz moždano tkivo. Smatra se da su arterije i arteriole inervirane perivaskularnim živčanim vlaknima koja otpuštaju adrenergičke, kolinergičke i peptidergičke neurotransmitore, koji imaju ulogu u vazokonstrikciji, vazodilataciji te permeabilnosti kapilara mozga (68).

Moždani protok izrazito je osjetljiv na promjene plazmatskih koncentracija plinova, kao i promjene perfuzijskog tlaka. Štoviše, navedene promjene predstavljaju prvu liniju obrane u održavanju moždane perfuzije. Ove arterije također su inervirane od grana kranijalnih živaca, živaca iz karotidnog sinusa i gornjeg cervikalnog ganglija. Uloga ovih živaca je još predmet istraživanja, ali postoje dokazi koji upućuju na važnost cerebralne konstrikcije kao odgovor na povećan simpatički tonus i/ili povišen MAP, a pogotovo u tortuoznim segmentima gdje ICA i VA ulaze u lubanju. Zaključno, moždani krvotok je pod snažnim utjecajem CPP, parcijalnog tlaka kisika u arterijskoj krvi – PaO_2 , parcijalnog tlaka ugljikovog dioksida u arterijskoj krvi – PaCO_2 i koncentracija vodikovih iona (2).

Moždani se protok može usporediti s kretanjem tekućine kroz cijev pod pretpostavkom da je protok miran, laminaran i jednoličan duž cijele nerastezljive cijevi. Pri tome je brzina strujanja krvi (BSK) u sredini veća nego uz stijenke žile. Na račvištima dolazi do promjene hemodinamike, do vrtloženja, tj. turbulentnog tijeka krvi. U slučaju suženja krvne žile dolazi do kompenzacijskog povećanja BSK, kako bi isti volumen krvi prošao u jedinici vremena. Osim kod žilnih suženja, ubrzanje tijeka krvi u moždanoj cirkulaciji nastaje kod vazospazma, postojanja vaskularnih malformacija, ali i uslijed poremećaja u sastavu krvi (npr. anemija) (68).

Promjena BSK ukazuje na promjenu CBF, što je potvrđeno brojnim istraživanjima pomoću sofisticiranih metoda, kao što su SPECT, PET, TCD, koje su pokazale da je povećanje BSK u određenoj moždanoj arteriji rezultat povećanja CBF određenog područja mozga (68). Ovaj se princip ne može primijeniti na velike arterije s debelom stijenkom, kao i na malo krvožilje u kojima protok ne zadovoljava pravila Newtonovog zakona (69). Nadalje, prema

Ohmovom zakonu, protok je izravno proporcionalan tlakovima na krajevima cijevi, a obrnuto proporcionalan otporu. U moždanom krvotoku razlika arterijskog i venskog tlaka određuje CPP dok je otpor uvjetovan vaskularnom rezistencijom na koju najviše utječe promjena promjera krvne žile. Navedeno je objašnjeno Poiseuilleovim zakonom: funkcija protoka obrnuto je proporcionalna polumjeru na 4. potenciju, uzimajući u obzir viskoznost krvi i dužinu krvne žile (70).

$$Q = (8 \times \eta \times L) / r^4 \quad (\text{Jednakost 4})$$

Nadalje, autoregulacija moždanog krvotoka predstavlja izniman homeostatski mehanizam kojim se održava relativno stalan protok krvi usprkos promjenama u perfuzijskom tlaku (71). U zonama visoke metaboličke aktivnosti živčanog tkiva, dolazi do dilatacije proksimalnih segmenata krvnih žila, čime se sprječava redukcija prokrvljenosti u malom krvožilju. S obzirom da je moždano tkivo jako osjetljivo na konstantan dotok kisika i glukoze unutar moždanog krvotoka, postoje sustavi koji održavaju protok stalnim unatoč promjenama perfuzijskog tlaka ili metaboličkih parametara.

1.7. Regulacija moždanog krvotoka

Koordinirana kontrola protoka u mozgu odvija se preko protokom posredovane vazodilatacije i miogenim mehanizmima. Postoje četiri kategorije regulacije moždanog krvotoka (72):

- a) Cerebrovaskularna reaktivnost koja je pod utjecajem PaO_2 , PaCO_2 i drugih metabolita (adenozin, kalij, vodik),
- b) Moždana autoregulacija,
- c) Neurovaskularno uparivanje i
- d) Utjecaj autonomnog živčanog sustava.

U osnovi prvog mehanizma osjetljivost je krvnih žila mozga na promjene u PaCO_2 (73). Prilikom porasta PaCO_2 dolazi do vazodilatacije i porasta u protoku dok hipokapnija smanjuje moždanu perfuziju (72, 73). Iako kompletna moždana vaskulatura pokazuje osjetljivost na promjene plinova u krvi, smatra se da se modulacija otpora u najvećoj mjeri događa na razini kortikalnih arterija (74, 75). Nadalje, hipoksija načelno povećava cerebralni protok. No, utjecaj hipoksije je kompleksniji jer postoji interakcija CO_2 s djelovanjem niskog PaO_2 gdje hiperkapnija povećava, a hipokapnija smanjuje utjecaj hipoksije. Ipak, u eksperimentima u kojima je ispitivan izolirani utjecaj hipoksije (pri izokapniji) pokazano je da moždani protok

raste prilikom smanjenja PaO₂ (76). Nadalje, važnost djelovanja NO-a u vazodilataciji posredovanoj hipoksijom nije do kraja ispitana.

U fiziološkim je uvjetima vaskularni tonus na središnjoj razini između maksimalne konstrikcije i maksimalne dilatacije. Osnovni fiziološki modulatori cerebrovaskularnog otpora su PaCO₂ i PaO₂. Dosadašnja brojna istraživanja pokazala su da je hiperkapnija vrlo jak i osnovni podražaj koji dovodi do značajnog povećanja CBF; hiperkapnija uzrokuje vazodilataciju, a hipokapnija vazokonstrukciju. Promjene PaCO₂ i PaO₂ utječu na razinu CBF uglavnom posredstvom dilatacije ili konstrikcije pialnih arterija i arteriola, a ne velikih arterija na bazi mozga. U bazalnim arterijama mozga ne dolazi do promjene promjera, nego samo brzine strujanja krvi. U rasponu PaCO₂ od 38-42 mmHg CBF se povećava ili smanjuje za 4% prilikom promjene PaCO₂ za 1 mmHg. Kao i kod autoregulacije, postoji prag nakon kojega nije moguća daljnja vazokonstrukcija i usporenje moždanog protoka (PaCO₂ <20 mmHg) jer je prema teoriji vazokonstrukcija dosegla prag moždane ishemije te se kao kompenzacijski odgovor uključuje vazodilatacija. Vazodilatacija zbog povišenog PaCO₂ posredovana je putem vodikovih iona. Budući da je CO₂ za razliku od bikarbonata lako topiv u moždanom tkivu, kod respiracijske acidoze javlja se prolazno povećanje vodikovih iona u mozgu, a kod respiracijske alkaloze smanjenje. Promjene PaO₂ imaju suprotan učinak od promjena PaCO₂. Ukoliko je razina arterijskog O₂ manja od 50 mmHg dolazi do značajne vazodilatacije.

Tri su pretpostavljena mehanizma ovakvog djelovanja hipoksije (77):

- a) retrogradno širenje stimulusa nastalog na neuronu neurovaskularne spojnice kao posljedica hipoksije (otvaranje kalijevih kanala),
- b) izvanstanična acidoza mozga uslijed anaerobnog metabolizma i
- c) izravni krvožilni mehanizmi.

Moždana autoregulacija prisutna je općenito u perifernoj i moždanoj cirkulaciji (77, 78). To je fiziološka funkcijska sposobnost krvnih žila mozga da održe stalnom opskrbu mozga krvlju unatoč velikim promjenama sustavnog i perfuzijskog tlaka. Autoregulacija protoka u mozgu je, za razliku od ostalih organa ili vaskularnih sustava, posebno dobro razvijena i predstavlja fiziološki zaštitni mehanizam. Spoznaje o osnovnom mehanizmu moždane autoregulacije još su uvijek proturječne. Najvjerojatnije se radi o složenom mehanizmu u kojem specifičnu ulogu imaju mnogi čimbenici: miogeni, metabolički, neurogeni i endotelni.

Iako se donedavno smatralo da je cerebralna autoregulacija posebno dobro razvijena, s mogućnošću održavanja stalne perfuzije unatoč velikim promjenama vrijednosti MAP-a (u rasponu od 60-150 mmHg), najnovija istraživanja ističu da je snaga autoregulacije ograničena. Naime, izgleda da cerebralna autoregulacija može održavati stalan protok samo pri oscilacijama

krvnog tlaka od oko 10 mmHg (79). Obično se granice autoregulacije kreću u vrijednostima srednjeg krvnog tlaka od 60 do 150 mmHg, iako su prave granične vrijednosti još nejasno definirane. Izvan granica tog raspona protok se krvi kroz mozak mijenja sukladno promjenama arterijskog tlaka jer dolazi do sloma autoregulacije.

Moždani se krvotok razlikuje od krvotoka ostalih organa jer se njegova cirkulacija odvija unutar krute koštane strukture koja je pod utjecajem unutrašnjeg tlaka. Intrakranijski tlak, jednak ekstravaskularnom tlaku, utječe na stijenke moždanih krvnih žila i time na perfuzijski tlak. Porast intrakranijskog tlaka može dovesti do porasta tlaka u moždanim venama te posredno do pada perfuzijskog tlaka (predstavlja razliku intraarterijskog tlaka u arterijama koje ulaze u subarahnoidalni prostor i tlaka u venama koje ulaze u duralne sinuse). Tlak u moždanim venama održava se na malo višoj razini vrijednosti nego intrakranijski tlak, u širokom rasponu vrijednosti intrakranijskog tlaka do 100 mmHg.

Moždana se autoregulacija može definirati i obzirom na reakciju, odnosno promjenu promjera malih krvnih žila mikrocirkulacije. To se događa nastankom vazodilatacije kao odgovora na pad moždanog perfuzijskog tlaka, ili pak vazokonstrukcije kao odgovora na povišeni perfuzijski tlak. Tlak moždane perfuzije između 60 i 150 mmHg održava moždani krvni protok stalnim, posredstvom smanjenja promjera malih moždanih arterija promjera od 0.5-1 mm. Smanjenje tlaka moždane perfuzije unutar istih granica od 60-150 mmHg dovodi do dilatacije moždanih arterija, održavajući moždani krvotok stalnim.

Regulacija moždanog protoka provodi se uglavnom putem promjena u razini otpora moždanih arteriola. Regulacijska sposobnost ograničena je maksimalnom dilatacijom i konstrukcijom arteriola. Granice moždane autoregulacije nisu čvrste i stalne, a mogu se mijenjati u granicama dinamičke fiziološke kontrole pod utjecajem simpatičkog živčanog sustava, renin-angiotenzinskog sustava, kao i drugih čimbenika koji povećavaju ili smanjuju moždani protok.

Pretpostavka da se većina regulacije odvija na razini kortikalnih arterija danas je prihvaćena kao dogma. S druge strane, postoje podatci koji ukazuju da jedino velike intrakranijske krvne žile i vratne krvne žile mogu reagirati na promjene MAP-a (80). Kada sustavni krvni tlak padne ispod donje granice autoregulacije (~60 mmHg) oko 50 %, a pad protoka oko 30 %, dolazi do povećanog crpljenja kisika iz krvi proporcionalno s padom protoka. U tom trenutku kliničkih simptoma nema ili nisu značajni. Ali, ako krvni tlak i dalje pada, javljaju se simptomi: nesvjestica, omaglica, vrtoglavica, mučnina, bljedilo, znojenje itd. Daljnjim smanjenjem krvnog tlaka dolazi do gubitka svijesti i razvoja ishemijskog moždanog oštećenja, u početku reverzibilnog, a potom ireverzibilnog. Tada je krvni tlak značajno ispod

donje granice autoregulacije, a povišeno crpljenje kisika ne može više suzbiti pad moždanog protoka. Iznad gornje granice autoregulacije (~150 mmHg) dolazi do konstrikcije malih krvnih žila mozga, što sprječava povišenje moždanog protoka. Povišenje intraluminalnog tlaka u arteriolama i kapilarama može dovesti do ubrzane dilatacije pojedinih segmenata žila, kao i do promjene promjera žila te konačno do oštećenja krvno-moždane barijere. Ako visoki krvni tlak perzistira, može se razviti moždani edem sa sekundarnim padom moždanog protoka. Ipak, navedene se promjene mogu javiti i pri manjim oscilacijama krvnog tlaka.

U slučaju nedovoljnog razvoja kolateralne cirkulacije kod stenoze ili okluzije ACI, mehanizam moždane autoregulacije kompenzira taj nedostatak smanjenjem perifernog vaskularnog otpora. Maksimalna dilatacija intracerebralnih arteriola dovodi do smanjenja CPP-a i posljedične redukcije CBF. Kod stenoze ili okluzije krvnih žila koje opskrbljuju mozak krvlju, dolazi do maksimalne dilatacije intrakranijskih krvnih žila. Na taj se način opskrba mozga kisikom i hranjivim tvarima održava stabilnom. U stanjima s povećanom potrebom za kisikom dolazi do iscrpljenja mehanizama autoregulacije te daljnja jača dilatacija nije moguća. Takva se promjena naziva poremećena autoregulacija. Ugrožena cerebrovaskularna autoregulacija kod značajne stenoze ili okluzije ACI ovisi o funkcijskom kapacitetu autoregulacijskih mehanizama (68).

Sposobnost prilagodbe moždanog krvožilja, odnosno moždanu autoregulaciju, moguće je procijeniti mjereći moždanu vazoreaktivnost, odnosno sposobnost dilatacije ili konstrikcije moždanih arteriola nastale kao odgovor na određeni vazoaktivni podražaj (81-83).

Kako još uvijek ne postoji jedinstven naziv za ove mehanizme brojni su termini u uporabi: autoregulacijska rezerva, cerebrovaskularna reaktivnost, kapacitet cerebrovaskularne rezerve, vazomotorna reaktivnost, vazomotorna rezerva.

Moždana vazoreaktivnost jedan je od regulacijskih mehanizama moždane autoregulacije. Definira se kao raspon između maksimalne dilatacije i maksimalne konstrikcije intracerebralnih arteriola, kao odgovor moždanog arterijskog stabla i CBF na specifične vazoaktivne tvari. Vazoreaktivnost se može mjeriti primjenom različitih selektivnih dilatacijskih ili konstrikcijских vazoaktivnih podražaja. Rezultatima mjerenja vazoreaktivnosti dobije se uvid u stanje vazomotorne rezerve kao sposobnosti moždanog krvotoka da u stanjima smanjene opskrbe krvlju održi protok kroz mozak normalnim.

Neurovaskularno uparivanje može se definirati interakcijom lokalnog moždanog metabolizma i lokalnog moždanog krvotoka koja je produkt anatomske i metaboličke povezanosti neurona, glijalnih stanica i penetrirajućih arteriola kore mozga (2, 84, 85). Neuroni ostvaruju kontakt i s astrocitima i GABA-ergičkim interneuronima koji komuniciraju

međusobno, a putem astrocitnih terminalnih nastavaka ostvaruju vezu s penetrirajućim arterijama kore. Uslijed metaboličke promjene, npr. hipoksemije, u lokalnom se ekscitacijskom ili inhibicijskom neuronu, stvara signal. Signal odlazi prema krvnoj žili tj. odgovarajućoj glatkoj mišićnoj stanici preko pukotinskih spojišta (engl. *gap-junctions*) te se intramuralno širi i izaziva vazodilataciju moždanih arteriola. Ipak, do danas ne postoje istraživanja ljudima koja bi neupitno razjasnila mehanizme neurovaskularnog uparivanja kod ljudi (86).

Odgovor moždanog krvotoka na pojačani metabolizam moždane kore a uslijed aktivacije određene grupe neurona podraženih nekim vanjskim podražajem nazvan je neuronska aktivnost. Prvi je povezanost regionalnog moždanog protoka i neuronalne aktivacije opisao Fulton 1928. godine (87). On je auskultirajući zatiljno područje ustanovio pojačani šum nad angiomom zatiljne kore u bolesnika tijekom čitanja. Neuronska aktivnost usko je povezana s promjenom regionalnog CBF i dovodi do povećanja moždanog metabolizma te do reaktivnog povećanja CBF i BFV kroz moždane krvne žile. I kod neuronskog podraživanja regionalni se CBF povećava zbog promjene promjera malih krvnih žila, arteriola i kapilara, što posljedično uzrokuje povećanje BFV u arterijama šireg promjera. Metode prikaza strukture i funkcije mozga, poput SPECT-a, PET-a i funkcionalne magnetne rezonancije (fMRI) pokazala su aktivaciju i povećan metabolizam točno određenog područja kore mozga za vrijeme izvršavanja određenog zadatka *in vivo*. Istraživanja s TCD-om potvrdila su ova zapažanja.

To se može koristiti za ispitivanje funkcije određenih dijelova kore mozga, dominantnosti hemisfera, a ovim podražajima moguće je ispitivati i moždanu autoregulaciju, odnosno moždanu vazoreaktivnost, budući da jačina odgovora krvnih žila na pojačani metabolizam uslijed aktivacije moždane kore ovisi o stanju moždane autoregulacije. Čitavo moždano krvožilje inervirano je adrenergičkim i kolinergičkim vlaknima ekstrinzičkog (cervikalni, trigeminalni i sfenopalatinski ganglij) i intrinzičkog podrijetla (*locus coeruleus*, *nucleus fastigii* i *nucleus raphe dorsalis*). Intrakranijske krvne žile imaju puno veću gustoću perivaskularnih živčanih snopova, prstenasti ili spiralni raspored, veći broj aksonskih terminala prvenstveno na bifurkacijama, komunikantnim arterijama i intrakranijskim zavojima ICA i VA (9, 88). ICA posjeduje mnogo veću gustoću simpatičkih vlakana od VA (33). Tijekom povećanog perfuzijskog tlaka dolazi do smanjenja moždanog protoka aktivnošću simpatikusa. Naime, dolazi do vazokonstrukcije prvenstveno velikih moždanih krvnih žila i velikih kortikalnih arterija (89). Denervirane krvne žile ne pokazuju sposobnost prilagodbe na promjene tlaka te dolazi do njihove disrupcije. Farmakološkom blokadom simpatikusa ili kirurškom resekcijom simpatičkih ganglija uočen je veći porast moždanog protoka tijekom sistemske hipertenzije (89). Djelovanje kolinergičkog dijela autonomnog živčanog sustava je

također prisutno. Ipak, nije do kraja razjašnjeno u kakvom su međuovisnom odnosu simpatikus, parasimpatikus, MAP i PaCO₂ i PaO₂ (90).

1.8. Transkranijaska dopler sonografija (TCD)

Unatoč brzom razvoju ultrazvučnih tehnika u ekstrakranijskom dijelu cirkulacije, zbog pretpostavke da su kosti glave potpuno nepropusne za ultrazvučne valove, one se nisu primjenjivale u ispitivanju intrakranijske cirkulacije. Nešto kasnije ta su se ispitivanja provodila samo kod djece s otvorenom fontanelom ili za vrijeme neurokirurških zahvata. Aaslid i suradnici prevladali su problem korištenjem pulsirajućeg doplera niskih frekvencija od 2 MHz stavljajući sondu neposredno iznad zigomatičnog luka, na najtanji dio temporalne kosti. Razvoj TCD-a omogućio je neinvazivni, pouzdani i brz prikaz moždane hemodinamike, pružajući brojne informacije o stanju krvnih žila mozga (68, 91).

Insonacija intrakranijskih žila izvodi se pomoću sonde koja se drži u ruci i prislanja na kožu glave preko kontaktne paste i to na točno određena mjesta koja se zovu "koštani prozori" - specifična područja lubanje gdje je kost najčešće tanja tako da ne dolazi do pretjerane atenuacije ultrazvučnog vala. Tri su najčešća „akustična prozora”, za pristup intrakranijskim arterijama: transtemporalni, transorbitalni i transforamenalni (ili subokcipitalni) prozor (91).

Transkranijaski pristup na bazalne moždane arterije kroz transtemporalni prozor nalazi se na temporalnoj kosti iznad zigomatičnog luka, kao što je prethodno opisano. Transtemporalni pristup je glavni pristup, jer se kroz njega ispituju ACA, ACM, ACP i karotidni sifon, kao i kolateralni kanali ACoA i ACoP. Insonacija se u temporalnoj regiji radi kroz solidno koštano tkivo. Kod mladih odraslih ispitanika obično je moguće dobiti dobar signal s relativno velikog područja. No, kod starijih je ljudi, osobito kod žena, zbog zadebljanja kosti glave, ponekad jedva moguće dobiti signale kroz mali prozor te se procjenjuje da je zbog toga onemogućena TCD pretraga u oko 10% bolesnika. Kod insonacije kroz transorbitalni prozor, kojim se ispituju karotidni sifon, oftalmična arterija, a moguće je insonirati i ACA, ultrazvučni val prolazi kroz bulbus oka i tanki koštani stražnji zid orbite. Transforamenalni ili okcipitalni prozor nalazi se između lubanje i atlasa te se postavljanjem sonde u medijalnu liniju insonira intrakranijski dio VA i proksimalni dio BA. Pretraga intrakranijskih krvnih žila TCD-om se izvodi tako da kod insonacije kroz temporalni prozor ispitanik leži, a kod pregleda vertebrobazilarnog sustava, kroz okcipitalni prozor, bolesnik sjedi (68, 91).

Za točnu identifikaciju arterija postoje tri glavna izvora informacija: dubina ispitivanja i kut sonde, smjer cirkulacije (prema sondi ili od sonde) i srednja brzina strujanja krvi, (engl *mean blood flow velocity* MBFV) i odgovor signala na kompresiju istostrane ACI (91). ACP se

najlakše insonira u P1 segmentu (P1 segment - proksimalni ili prekomunikantni i P2 – distalni ili postkomunikantni) i to usmjeravanjem sonde prema natrag. Kriteriji za identifikaciju ACP su:

1. Signal se javlja na dubini od 60-70 mm. Nađeni signal lociran je u smjeru prema straga u odnosu na ACI i ACM. Ne može se skenirati pliće od 55 mm. To ga razlikuje od ACM, koja se može skenirati sve do 30 mm.
2. Smjer signala od najproksimalnijeg dijela ACP je prema sondi. Daljnjim nagibanjem sonde prema natrag na otprilike istoj dubini počinje se registrirati signal usmjeren od sonde, signal P2 segmenta ili oba smjera istovremeno zbog zaokretanja žile. U slučaju okluzivnog procesa u karotidnoj cirkulaciji zbog razvoja stražnjeg kolateralnog puta povećava se brzina u P1 segmentu ACP i ACoP.
3. Kompresijom ACC ili ACI povećava se BFV što upućuje na uključivanje stražnjeg dijela Willisovog kruga u kolateralnoj opskrbi, ili pak promjena nema (91).

Ultrazvučna pretraga intrakranijskih žila TCD-om omogućuje nam praćenje promjena u moždanoj cirkulaciji u fiziološkim uvjetima i u različitim patološkim stanjima (91). Signal dobiven TCD-om služi isključivo za procjenu hemodinamike. Relativne promjene moždane hemodinamike mogu se objektivno mjeriti i onoliko često koliko je to potrebno. TCD omogućuje dijagnosticiranje stenoza intrakranijskih žila, AV malformacija, angioma, praćenje vazospazma, edema mozga, moždane smrti, kapacitet kolateralne cirkulacije, kao i intraoperativno praćenje, klasifikaciju i prevenciju moždanog udara, procjenu moždane vazoreaktivnosti, detekciju mikroembolija i moždane autoregulacije, analizu moždanog mikrocirkulatornog odgovora nakon primjene različitih vazoaktivnih podražaja ili funkcionalnih testova. Parametri koji se analiziraju nakon što se identificira određena žila su: MBFV, simetričnost protoka, pulsatilitost i izgled doplerovog spektra (91). Svaki laboratorij u kojem se vrši ultrazvučna pretraga TCD-om mora imati dobro definirane dijagnostičke kriterije za interpretaciju TCD nalaza potvrđene usporedbom s angiografskim nalazima, bilo vlastite, bilo već ranije publicirane od drugih autora (92).

Prilikom interpretacije nalaza treba uzeti u obzir da BFV nije stalna nego podliježe promjenama pod utjecajem različitih čimbenika; moždani protok i BFV smanjuju se s dobi, hipertenzija povećava MBFV i pulsatilitost; hiperventilacija smanjuje i povećava pulsatilitost, hiperkapnija povećava MBFV i smanjuje pulsatilitost; BFV je obrnuto proporcionalna viskoznosti krvi (92). Pulsatilitost je odraz cerebrovaskularnog otpora i daje oblik hemodinamskom spektru. Većina aparata indeks pulsatilitosti izračunava automatski. U intrakranijskim arterijama prisutan je niski indeks pulsatilitosti (0.6-1.1) (92).

Osnovni pregled transkranijским doplerom, mjerenje brzina strujanja krvi u bazalnim moždanim arterijama, daje informacije o funkciji moždanog krvotoka u bazalnim uvjetima, ali ne pruža informacije o promjenama moždanog protoka za vrijeme nekih fizioloških i patoloških procesa unutar organizma. Provođenje funkcijskih testiranja moždanog krvotoka pomoću testova autoregulacije, vazoreaktivnosti i testova kortikalne aktivacije funkcijskim TCD-om (fTCD) ima važnu ulogu u procjeni stanja moždane hemodinamike i regulacijskog kapaciteta moždanih krvnih žila te stoga predstavlja vrlo važno područje kako u istraživanjima moždanog krvotoka zdravih osoba tako i u sklopu dijagnosticiranja različitih patoloških stanja. Promjene moždanog protoka i brzine strujanja krvi unutar moždanih arterija mogu se registrirati raznim metodama: ksenon CT, PET, SPECT, f-MRI i TCD-om. Transkranijским doplerom prate se promjene brzine strujanja krvi u bazalnim moždanim arterijama. Obično se insonira ACM ili ACP, a ustanovilo se da stražnji krvotok čak i izraženije reagira na podražaje.

Tijekom testova autoregulacije i vazoreaktivnosti odgovori u AB i ACM pokazali su se podjednakima (93). Vrijednost transkranijskog doplera u njegovoj je izvrsnoj vremenskoj rezoluciji što omogućava trenutno praćenje promjena koje nastaju u ispitivanom dijelu moždanog krvotoka.

1.9. Vitamin C

Vitamin C ili askorbinska kiselina esencijalni je vodotopljivi mikronutrijent, prvi put izoliran 1923. godine. Kemijski je ketolakton sa šest ugljikovih atoma, pa je strukturom sličan glukozi. Postoji u oksidiranom obliku (askorbinska kiselina), i reduciranom obliku (dehidroaskorbinska kiselina). Redoks reakcija između ta dva oblika važna je karakteristika o kojoj ovisi fiziološka aktivnost i antioksidativno djelovanje. Većina biljnih i životinjskih vrsta imaju sposobnost sintetiziranja vitamina C iz glukoze i galaktoze, ali kod ljudi nije moguća zbog nedostatka glukonolakton oksidaze, enzima potrebnog za završetak konačne sinteze askorbinske kiselina iz glukoze (8, 46). Askorbinska kiselina javlja se u izomernim oblicima. L-izomer ima biološku aktivnost i bolji terapijski učinak od D-izomera (12, 46).

Biokemijske funkcije askorbinske kiseline u velikoj su mjeri ovisne o oksido-redukcijskim svojstvima L-askorbinske kiseline, koja je kofaktor za hidroksilaciju i aktivnost enzima mono-oksigenaze u sintezi kolagena, karnitina i neurotransmitora. Askorbinska kiselina ubrzava reakcije hidroksilacije održavajući aktivni centar metalnih iona u reduciranom stanju za optimalnu aktivnost enzima hidroksilaze i oksidaze (8).

Funkcija vitamina C u sazrijevanju kolagena odavno je poznata. Kolagen je primarna komponenta potpornog tkiva i čini bazalnu membranu krvnih žila (69). Kolagen predstavlja glavni protein kože, kostiju, zubi, hrskavice, tetive, krvnih žila, srčanih zalistaka i rožnice. Askorbinska kiselina bitna je za održavanje enzima prolil i lizil hidrosilaze u aktivnom obliku (8). Završni korak u formaciji zrele trostruke zavojnice kolagena ovisi o vitaminu C kao elektron donoru hidrosilacije prokolagenovog prolil i lizil ostatka. Nedostatak vitamina C narušava ovo sazrijevanje kolagena i dovodi do narušavanja integriteta krvnih žila, što u konačnici rezultira krvarenjem, jednim od simptoma skorbuta (69).

Askorbinska kiselina također je bitan kofaktor za hidrosilaciju uključenu u sintezu mišićnog karnitina. Karnitin je potreban za prijenos dugolančanih masnih kiselina u mitohondrijima za proizvodnju energije. Također, vitamin C je kofaktor za enzim dopamin- β -hidrosilazu koja katalizira pretvorbu neurotransmitora dopamina u noradrenalin, te je zbog toga nužan u sintezi katekolamina. Osim toga, katalizira i druge enzimske reakcije uključujući amidaciju potrebnu za maksimalnu aktivnost hormona oksitocina, vazopresina i kolekistokinina. Budući da modulira mikrosomalnu 7- α -hidrosilaciju, ograničavajuću reakciju katabolizma kolesterola u jetri, uključen je i u transformaciju kolesterola u žučne kiseline. Nedostatak vitamina C utječe i na ovu pretvorbu što rezultira nakupljanjem kolesterola u jetri, a time i hiperkolesterolemije (8).

Askorbinska kiselina ima posebne funkcije kao antioksidans u nekoliko biokemijskih reakcija i kao kofaktor enzima (94, 95). Može djelovati i kao pro-oksidans i kao antioksidans. Općenito, u niskim koncentracijama askorbinska kiselina će djelovati prooksidativno, a u visokim antioksidativno (95). Sudjeluje u prevođenju folne kiseline u folinsku. Potrebna je i za redukciju trovalentnog željeza u dvovalentno željezo, čime se ubrzava njegova apsorpcija. Ima brojna potencijalna svojstva i mogućnost stabilizacije brojnih drugih komponenata, uključujući vitamin E i prethodno spomenutu folnu kiselinu. Može regulirati upalni odgovor igrajući ulogu u metabolizmu prostaglandina i katekolamina (94). Povećava učinkovitost imunološkog sustava što je komercijalno najbolje iskorišteno svojstvo vitamina C. Pauling je bio prvi u istraživanju učinaka visokih doza vitamina C. Predložio je da uzimanje 1-3 g. vitamina C učinkovito ublažava simptome prehlade (16) i ubrzava ozdravljenje.

2. CILJEVI I HIPOTEZE

Ciljevi istraživanja su:

1. Utvrditi utjecaj SCUBA ronjenja na moždani krvni protok u mirovanju i tijekom tjelovježbe u razdoblju nakon izrona;
2. Ispitati utjecaj peroralne primjene vitamina C na promjene moždanog krvnog protoka i parametara endotelne funkcije uvjetovane ronjenjem.

Hipoteze ovog istraživanja su:

1. Ronjenje s komprimiranim zrakom dovodi do promjena u moždanom krvnom protoku u razdoblju nakon ronjenja;
2. Tjelovježba utječe na hemodinamske promjene u moždanom krvnom protoku uzrokovane prethodnim SCUBA ronjenjem;
3. Vitamin C smanjuje utjecaj ronjenja s komprimiranim zrakom ili udisanja hiperoksične smjese na parametre moždanog protoka i endotelne funkcije.

3. ISPITANICI I METODE

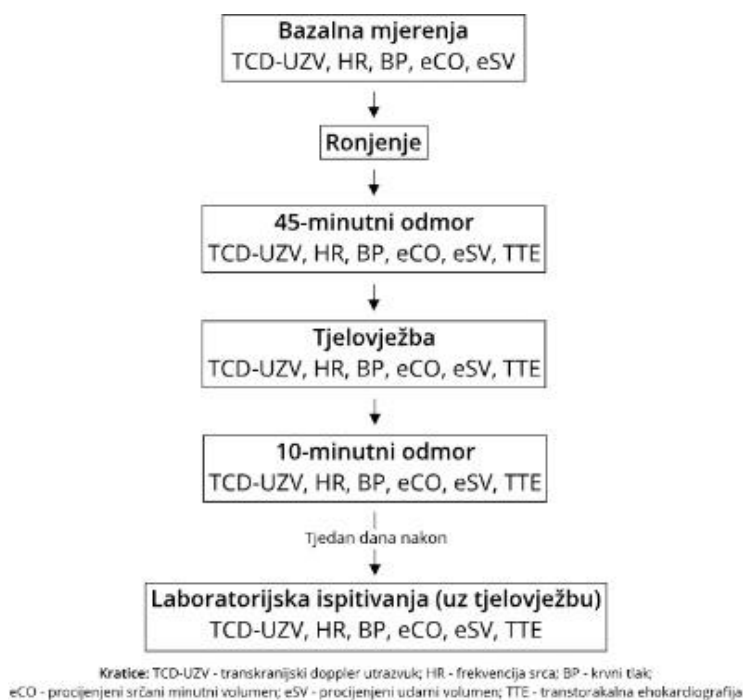
3.1. Organizacija i opis istraživanja

Provedena znanstvena istraživanja za potrebe doktorske disertacije su provedena u vojnoj bazi Hrvatske ratne mornarice i laboratoriju Zavoda za integrativnu fiziologiju pri Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Splitu. Uz pristupnika, u istraživanjima su sudjelovali zaposlenici Zavoda za integrativnu fiziologiju Medicinskog fakulteta u Splitu i liječnici specijalisti Kliničkog bolničkog centra Split uključujući specijaliste kardiologije, specijaliste anesteziologije i reanimatologije te specijaliste neurologije. Koordinator predloženog istraživanja je prof. dr. sc. Željko Dujčić sa Zavoda za integrativnu fiziologiju pri Medicinskom fakultetu u Splitu.

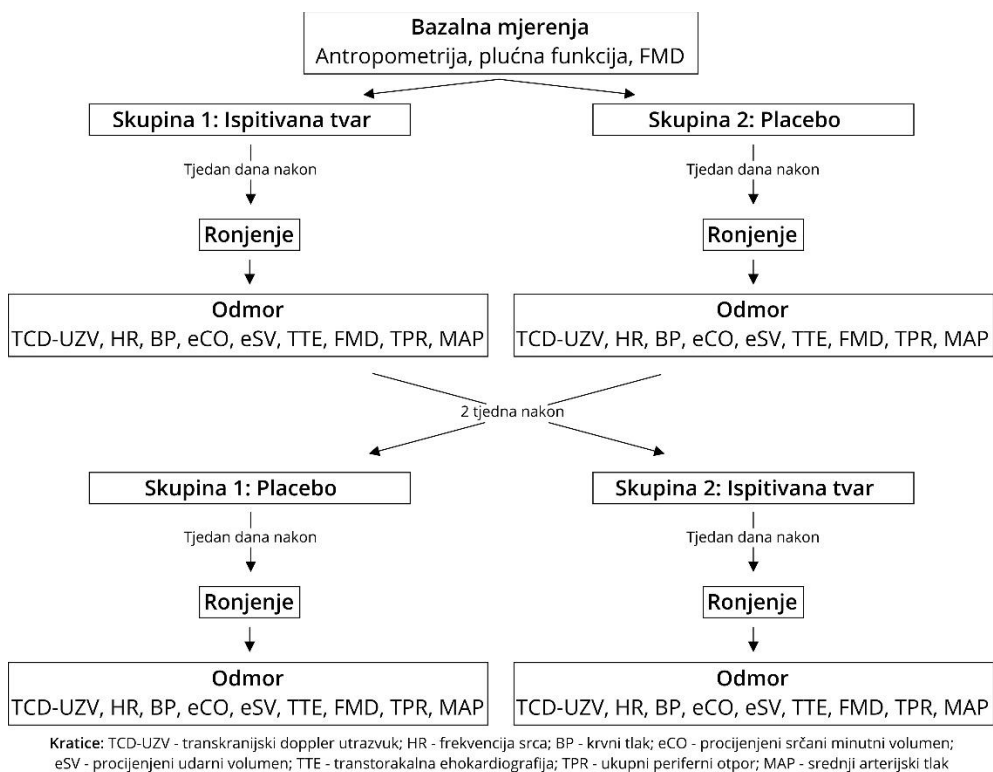
Provedena znanstvena istraživanja pripadaju eksperimentalnim i presječnim istraživanjima. Korištene su analitičke metode istraživačkog pristupa (intervencijski model). Izvor prikupljanja podataka je primaran. Podatci koji su prikupljeni tijekom ovih istraživanja su samostalno analizirani i korišteni u svrhu prikaza rezultata. Znanstvena istraživanja provedena su sukladno Helsinškoj deklaraciji i njenim dopunama. Istraživanja su odobrena od Etičkog povjerenstva pri Medicinskom fakultetu u Splitu (Klasa 003-08/14-03/001; Ur. broj:2181-198-03-04-14-0039). Informirani pisani pristanak prikupljen je od svakog ispitanika prije početka samog istraživanja.

3.2. Ispitanici

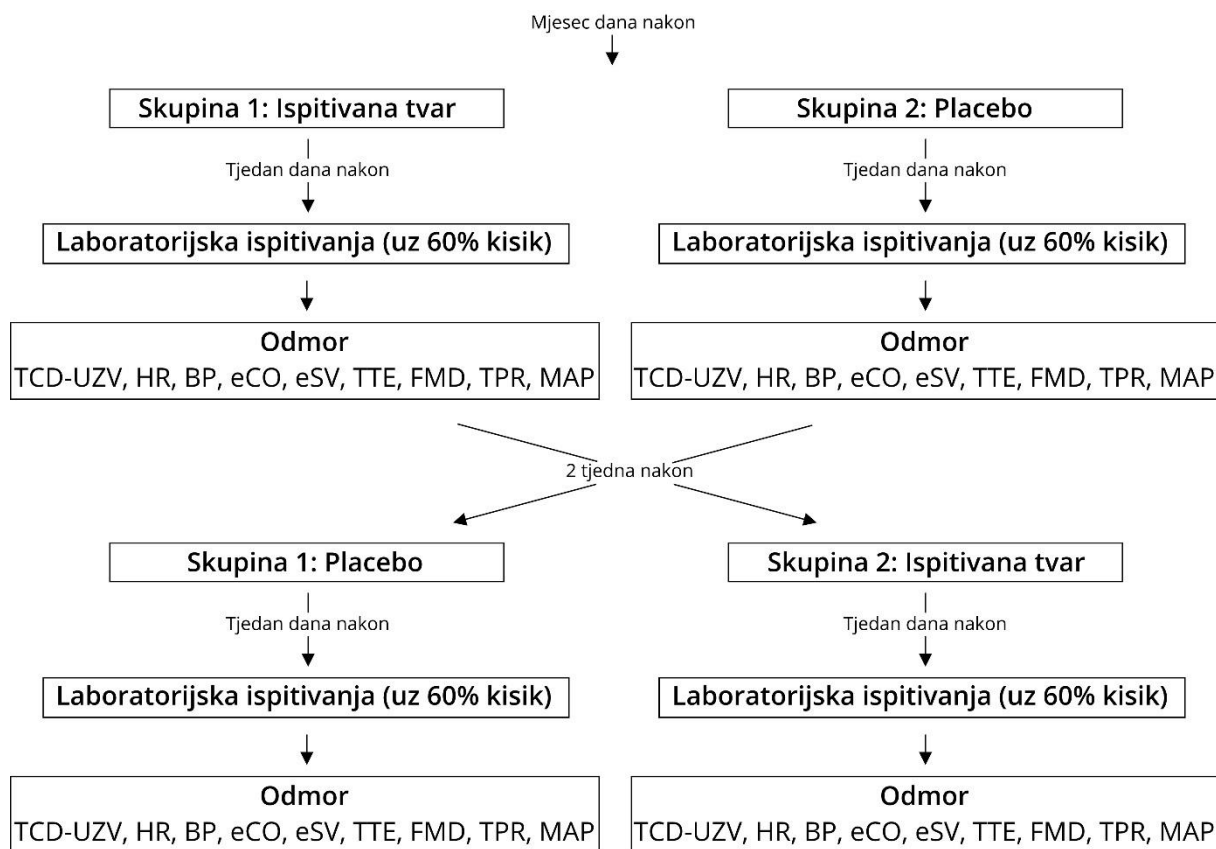
U istraživanje su uključeni zdravi muški ronionci volonteri iz Hrvatske mornarice koji su imali približno jednak stupanj ronilačke utreniranosti za vrijeme istraživanja. Raspon ronilačkog iskustva među ispitanicima varirao je od 5 do 25 godina ronjenja i 100 do 3000 zarona. Svi su ispitanici bili zdravi, bez prisutnih bolesti kardiovaskularnog i plućnog sustava, i nisu konzumirali lijekove i duhanske proizvode. U prvi dio istraživanja uključeno je 16 ispitanika, bez kontrolne skupine ispitanika. U drugi dio istraživanja uključeno je 7 ispitanika u ispitivanu skupinu i 7 ispitanika u kontrolnu skupinu, koja je primila placebo. Ispitanici su randomizirani prije početka istraživanja. Korištene su metode dvostrukog slijepog dizajna. Rezultati istraživanja pridonose boljem razumijevanju promjena u perifernom i moždanom krvnom protoku koje su uvjetovanje ronjenjem i drugim čimbenicima (Slika 3-5).



Slika 3. Hodogram prvog dijela istraživanja



Slika 4. Hodogram drugog dijela istraživanja



Kratice: TCD-UZV - transkranijalni doppler ultrazvuk; HR - frekvencija srca; BP - krvni tlak; eCO - procijenjeni srčani minutni volumen; eSV - procijenjeni udarni volumen; TTE - transtorakalna ehokardiografija; TPR - ukupni periferni otpor; MAP - srednji arterijski tlak

Slika 5. Hodogram trećeg dijela istraživanja

3.3. Postupci istraživanja

3.3.1. Anamneza i status

Liječnik je uzeo anamnestičke podatke i obavio fizikalni pregled sukladno svim načelima propedeutike.

3.3.2. Antropometrijski pregled

Visina se mjerila visinomjerom, a tjelesna masa digitalnom vagom. Indeks tjelesne mase (engl. *body mass index*, BMI, kg/m^2) izračunat je iz mase podijeljene kvadratom visine izražene u metrima.

3.3.3. Transkranijalni dopler ultrazvuk

Iskusni neurolog obavio je ultrazvučni pregled koristeći uređaj uz doplerov princip kojim se mogu mjeriti hemodinamski parametri protoka u krvnim žilama mozga. Za objektivno automatizirano brojanje mjehurića (mikroembolusa) i mjerenje vršne brzine protoka krvi u

srednjoj i stražnjoj cerebralnoj arteriji (MCA, PCA) korišten je 2 MHz pulsni ultrasonografski uređaj (ST3; Spencer Technologies, Seattle, SAD) na način da je ultrazvučnom sondom u temporalnoj regiji ispitanika s jedne strane prikazana MCA, a u istoj regiji sa suprotne strane PCA. U polovici je ispitanika MCA prikazana na desnoj, a PCA na lijevoj strani i obratno. MCA je prikazivana obično ~1 cm distalno od odvajanja/bifurkacije prednje cerebralne arterije, dok je PCA sondirana u P1 segmentu što predstavlja površinu između vrška bazilarne arterije te posteriorne cerebralne kolateralne arterije.

Korištene su standardizirane tehnike traženja arterije kao i tehnike optimiziranja kvalitete signala. Po pronalasku kvalitetnog signala sonde su fiksirane pomoću specijalnog fiksirajućeg uređaja (Marc 600; Spencer Technologies, Seattle, SAD). Navedena se pretraga također koristila za otkrivanje sistemskih zračnih embolusa u krvnim žilama mozga. Dobiveni su podatci o vršnoj brzini protoka tijekom cijele studije koristeći analogno-digitalni pretvarač Powerlab (ADInstruments, Colorado Springs, SAD), pohranjivani u softverski program Lab Chart (ADInstruments, Colorado Springs, SAD) radi naknadne analize. Ukupan broj mjehurića (mikroembolijskih signala) registriran u MCA i PCA zapisivan je svaki puta nakon primjene bolusa mjehurića u kubitalnu venu.

3.4.4. Transtorakalna ehokardiografija

Ultrazvučni pregled srca preko prsne stijenke obavio je iskusni kardiolog uz pomoć ultrazvučnog uređaja kojim se određuje srčana funkcija. Njime su izvršena neinvazivna mjerenja srčanih dimenzija, volumena, funkcije srčanih zalistaka, srčani minutni volumen, srednji i sistolički tlak u plućnoj arteriji te količina mjehurića u lijevom srcu koji pristižu iz bolusa injiciranog u kubitalnu venu. Postupak se izveo dok je ispitanik bio u ležećem položaju na lijevom boku. U roku od 10 minuta od izrona, ronoci su bili postavljeni u ležeći položaj, a ehokardiografija vršena pomoću aparata (Vivid Q, GE, Milwaukee, WI, SAD) tijekom oko dvije minute. U laboratoriju su retrospektivno analizirane sekvence od strane dva nezavisna i prethodno obučena promatrača. Slike su analizirane za proizvodnju mjehurića kao u prethodnim studijama. Sustav ocjenjivanja mjehurića koristio je sljedeću definiciju prema modificiranoj skali Eftedal i Brubakku:

- 0 nema mjehurića;
- 1 povremeni mjehurići;
- 2 najmanje 1 mjehurić / četvrti srčani ciklus;
- 3 najmanje 1 ciklus mjehurića / srca;

4 kontinuirano mjehuriće, s najmanje 1 mjehurić / cm² u svim okvirima; i

5 'bijeke boje', gdje se pojedinačni mjehurići ne mogu vidjeti.

Nedavno je predložena podjela razreda 4 u sljedeće stupnjeve:

4A kontinuirani mjehurić, s 1-2mjehurića / cm² u svim okvirima (isto kao trenutni stupanj 4);

4B kontinuirano mjehuriće, s najmanje 3 mjehurića / cm² u svim okvirima;

4C gotovo potpuni bijeli prikaz u desnom srcu, ali pojedinačni mjehurići se i dalje mogu prepoznati; i

5 potpuno bijeli prikaz u desnom srcu.

3.3.5. Spirometrija

Spirometrija služi za mjerenje plućnih volumena i kapaciteta te za određivanje brzine protoka kroz dišne putove. Forsirani vitalni kapacitet (FVC), tj. maksimalni volumen zraka koji možemo izdahnuti nakon maksimalnog udaha mjerimo prvi. Ispitaniku se postavi štipaljka na nos te on diše preko usnika dok pneumotahometar uređaj mjeri protok zraka. Potom ispitanik udahne maksimalan volumen zraka da bi, nakon toga, maksimalno snažno i bez pauze, a u trajanju od najmanje 6 sekundi, izdahnuo maksimalnu količinu zraka iz pluća.

Dozvoljeno je glasovno poticanje ispitanika tijekom cijelog perioda od 6 sekundi izdisanja. Uz određivanje FVC-a, mjerio se i volumen zraka izdahnut tijekom prve sekunde, tzv. forsirani ekspiracijski volumen u prvoj sekundi (FEV₁). Kod zdravih ispitanika FEV₁/FVC omjer je ~ 80%. Međutim, ukoliko postoji povećana reaktivnost bronha, opstrukcija i/ili restrikcija protoku, volumen izdahnutog zraka tijekom prve sekunde je smanjen, što će posljedično dovesti i do smanjenja FEV₁/FVC omjera. Volumen zraka koji se izdahne tijekom srednjeg dijela FVC postupka, naziva se forsirani ekspiracijski protok od 25 do 75% FVC-a (FEF_{25-75%}). Njime se mjeri i procjenjuje funkcija malih distalnih dišnih puteva, što u pravilu ne ovisi o uloženom trudu ispitanika tijekom postupka. Osobe kod kojih je prisutna pojačana reaktivnost i/ili opstrukcija na razini malih dišnih puteva, imaju ranije zatvaranje malih distalnih dišnih puteva i zbog toga niži FEV₁ i FEF 25-75% u odnosu na očekivani prema rasi, spolu, dobi, težini, visini. Maksimalna voljna ventilacija (MVV) predstavlja volumen zraka koji osoba može udahnuti i izdahnuti tijekom jedne minute. Test se izvodi tako da ispitanik diše maksimalnom frekvencijom i volumenom disanja u trajanju od 12 sekundi, a množenjem s 5 rezultat se aproksimira na jednu minutu. MVV je metoda koja ukazuje na stanje respiracijskih mišića, popustljivost pluća i otpor dišnih puteva. Također smo određivali i vršni protok pri

izdisaju (PEF), tj. najveću brzinu protoka zraka postignutu prilikom izdaha. U slučaju bronhokonstrikcije vrijednosti PEF-a su snižene.

Sva mjerenja su učinjena pomoću uređaja Quark b² (Cosmed, Rim, Italija) sukladno smjericama za izvođenje i reproducibilnost ovog testa Američkog torakološkog i Europskog respiracijskog društva (96).

3.3.6. Mjerenje hemodinamskih parametara

Mjereni su sljedeći parametri: srčana frekvencija, krvni tlak, srednji arterijski tlak, ukupni periferni otpor, procijenjeni srčani minutni volumen i procijenjeni udarni volumen. Arterijski krvni tlak izmjeren je aneroidnim tlakomjerom. Pri tome je manžeta, omotana oko nadlaktice, najprije napuhana iznad vrijednosti sistoličkog arterijskog tlaka, a onda su, tijekom ispuhivanja (deflacije) manžete, stetoskopom osluškivani Korotkovljevi šumovi nad brahijalnom arterijom u kubitalnoj jami. Na taj su način određeni sistolički (engl. *systolic blood pressure*, SBP) i dijastolički (engl. *diastolic blood pressure*, DBP) arterijski krvni tlak (mm Hg).

Iz izmjerenih vrijednosti izračunat je srednji arterijski krvni tlak (engl. *mean arterial pressure*, MAP, mmHg).

$$\text{MAP} = (\text{SBP} - \text{DBP}) / 3 + \text{DBP} \quad (\text{Jednakost 5})$$

Protokom posredovana dilatacija (FMD):

Navedena pretraga koja ovisi o funkciji endotela provodila se prije i nakon intervencije retrogradnim smičnim opterećenjem prema standardnim metodama. U ovom istraživanju ispitivan je FMD brahijalne arterije nakon kratkotrajne okluzije radijalne arterije. Manžeta za mjerenje krvnog tlaka (Hokanson, Bellevue, WA, SAD) bila je smještena na podlaktici distalno od olekranona. Početne slike snimljene su 1 minutu prije napuhavanja manžete. Zatim se manžeta podlaktice napuhavala na 220 mmHg tijekom 5 minuta. Neprekidno bilježenje promjera i brzine krvi nastavljeno je 30 s prije ispuhavanje manžete i nastavljeno 5 min nakon toga. Za mjerenja promjera i protoka krvi korišten je prilagođeni softver. Vršni promjer nakon ispuhavanja manžete automatski je otkriven u skladu s algoritmom koji je identificirao maksimalni skup podataka nakon pokretanja funkcije zaglađivanja prozora.

Vrijeme je za promjer (s) vrha izračunat od točke ispuhavanja manžete do najvećeg promjera postdeflacije. Podaci o promjeru prikazani su kao apsolutni (FMD, mm) i relativni (FMD postotak) porast promjera vrha od prethodnog promjera osnovne linije. U skladu s

proceduralnim preporukama, izmjerili smo i područje post-deflacije ispod krivulje brzine smicanja (SRAUC) za najbolje tumačenje svih promjena u FMD. Apsolutna mjerenja FMD-a naknadno su ispitana uz uključivanje osnovnog promjera i SRAUC-a kao kovarijante. Alometrijsko skaliranje korišteno je za prilagodbu varijabilnosti.

3.4. Uzorkovanje krvi i laboratorijska analiza

Određivanje laboratorijskih parametara učinjeno je prema standardnim laboratorijskim načelima. Uzorkovanje krvi je obavljeno preko kubitalne vene u vremenskoj točki sukladno prokolu istraživanja (v. iznad).

3.5. Statistički postupci

Normalnost raspodjele podataka je ispitivana Kolmogorov-Smirnov testom. Kvantitativne varijable prikazane su kao srednja vrijednost \pm standardna devijacija. Razina statističke značajnosti postavljena je na $P < 0.05$.

Cerebrovaskularni i kardiovaskularni parametri su analizirani u segmentima od 30 s, u mirovanju i prije završetka svakog stadija tjelovježbe. Razlike između odgovarajućih vrijednosti u mirovanju i svakog stadija tjelovježbe određene su jednosmjernom analizom varijance ponavljanih mjerenja (One-way Repeated Measures ANOVA). Kada su pronađene statistički značajne razlike, t-test uparenih uzoraka s korekcijom prema Bonferroni metodi primijenjen je na sve značajne interakcijske učinke. Za usporedbu vrijednosti iz terenske studije korištene su vrijednosti dobivene u laboratorijskoj studiji t-testa za nezavisne skupine.

Cerebrovaskularni i kardiovaskularni parametri analizirani su u segmentima od 10 minuta, prije intervencije i 30, 60 te 90 minuta nakon intervencije. Kada su pronađene statistički značajne razlike, korištene su post-hoc analize za točno određivanje mjerenja pri kojem je intervencija utjecala na kardiovaskularne i Kardiovaskularne i cerebrovaskularne varijable između različitih mjerenja uspoređivane su dvosmjernom analizom varijance ponavljanih mjerenja (Two-way Repeated Measures ANOVA) koristeći sljedeće čimbenike (vrijeme mjerenja – prije intervencije ili 30 min ili 60 min ili 90 min nakon intervencije; liječenje - placebo ili vitamin C) za dva stanja odvojeno (SCUBA ronjenje, hiperoksijski uvjeti). cerebrovaskularne varijable. Za ispitivanje učinaka primjene vitamina C na kardiovaskularne i cerebrovaskularne promjene inducirane intervencijom, korišten je dvosmjerni t-test uspoređujući varijable prije i nakon intervencije. Promjena FMD-a analizirana je trosmjernom

analizom varijance ponavljanih mjerenja (Three-way Repeated Measures ANOVA) koristeći sljedeće čimbenike (vrijeme mjerenja – prije ili nakon intervencije; liječenje – placebo ili vitamin C; stanje – SCUBA ronjenje ili hiperoksijski uvjeti) i prilagođena je za brzinu smicanja korištenjem post-deflacijskog područja ispod krivulje (AUC). Apsolutne mjere FMD-a testirane su na isti način s uključivanjem promjera osnovne vrijednosti i područja ispod krivulje kao kovarijabli. Nakon učinka interakcije, post-hoc analiza provedena je korištenjem dvosmjernog student t-testa. Kada su pronađene statistički značajne razlike, korištene su post-hoc analize za usporedbu samo s osnovnm vrijednostima. Korekcija za višestruke usporedbe napravljena je koristeći Bonferroni metodu.

4. REZULTATI

Osnovna obilježja ispitanika

Svi su ispitanici završili protokol istraživanja. Prosječna dob ispitanika bila je $37,6 \pm 8,5$ godina uz prosječnu tjelesnu visinu od $186,0 \pm 6,0$ cm i tjelesnu masu od $90,5 \pm 12,9$ kilograma (Tablica 2). Nije utvrđeno znakova dekompresijske bolesti među ispitanicima.

Tablica 2. Antropometrijski podatci i pokazatelji plućne funkcije

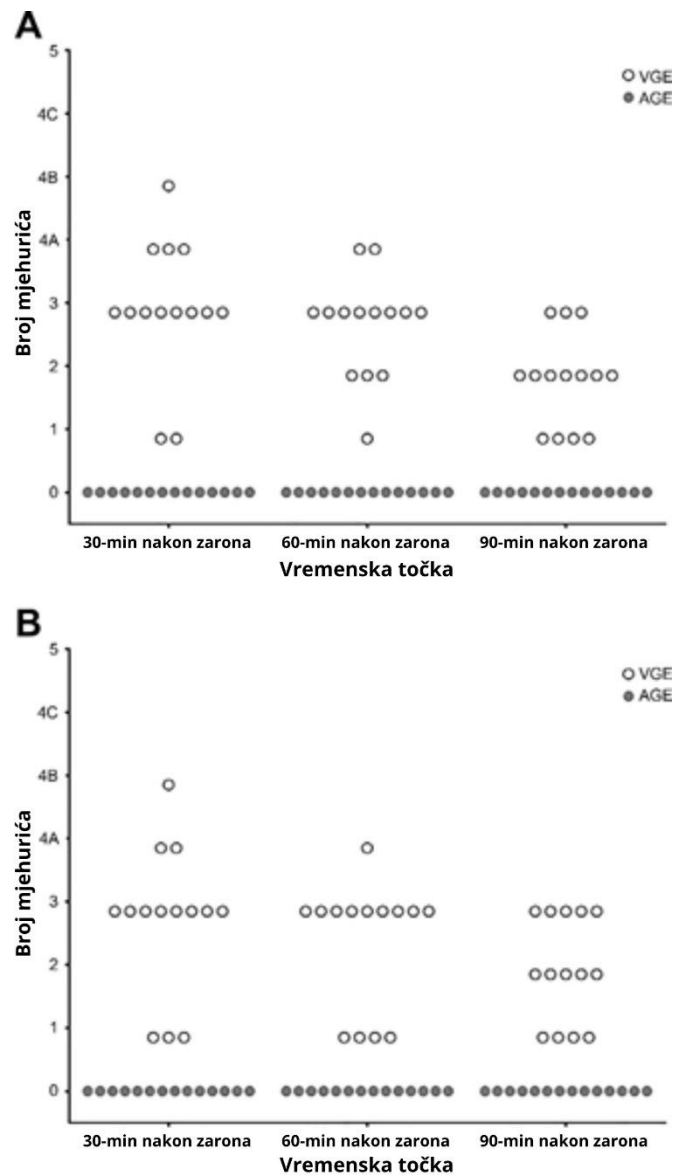
Parametar	Odredene vrijednosti	Predviđene vrijednosti
Dob (godine)	$37,6 \pm 8,5$	
Tjelesna visina (cm)	$186,0 \pm 6,0$	
Tjelesna masa (kg)	$90,5 \pm 12,9$	
FVC (l)	$6,58 \pm 0,73$	($121,8 \pm 12,2\%$)
FEV ₁ (l)	$5,12 \pm 0,60$	($115,4 \pm 9,2\%$)
FEV ₁ /FVC (%)	$77,86 \pm 5,68$	($96,8 \pm 6,2\%$)

Podatci su izraženi kao srednja vrijednost \pm standardna devijacija.

Legenda: FEV₁ – forsirani ekspiracijski volumen u prvoj sekundi; FVC – forsirani vitalni kapacitet.

Faza ronjenja

Nakon ronjenja, svih 14 ronilaca razvilo je VGE, ali niti jedan od njih nije prešao u arterijsku fazu u mirovanju. Dvije VGE prešle su u arterijsku fazu nakon manevara vježbanja ruku i nogu, ali TCD nije zabilježio mikroembolijske signale u cerebralnoj cirkulaciji. Rezultatski zbroj mjehurića nakon ronjenja ovisio je o primijenjenoj intervenciji (**Slika 6**).

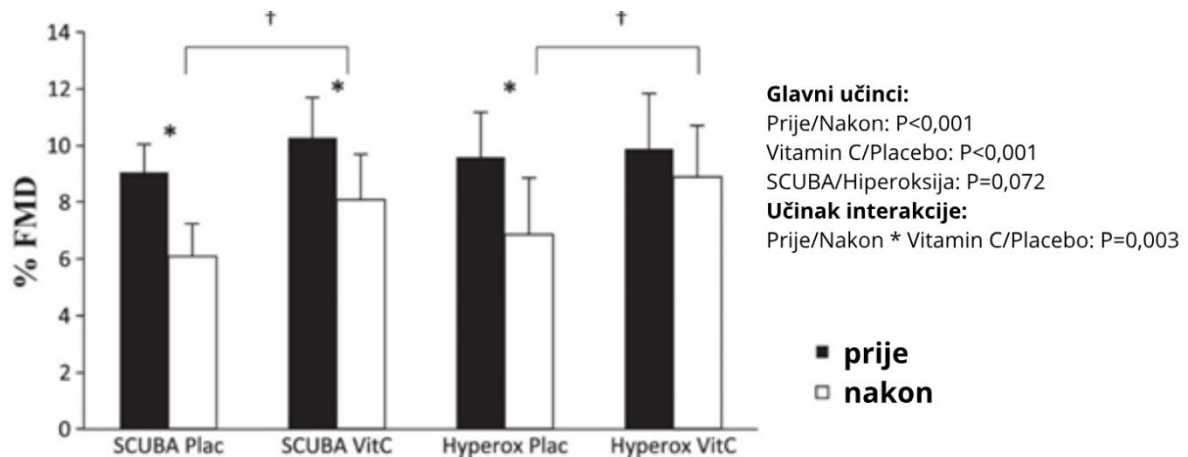


Slika 6. Rezultatski zbroj mjehurića nakon ronjenja tijekom ispitivanja:

A. Vitamin C; **B.** Placebo.

Protokom inducirana dilatacija (FMD)

Nakon prilagodbe za postmično naprezanje (SR_{AUC}), utvrđena je statistička značajnost povezanosti vremena i promjene FMD ($P < 0,001$), kao i davanja vitamina C ($P < 0,001$). S druge strane, nije utvrđena statistička povezanost s oblikom izloženog stanja (SCUBA ronjenje ili hiperoksija) ($P = 0,072$) (Slika 7).



Slika 7. Postotak dilatacije posredovane protokom (FMD) prije i nakon zarona u ispitivanjima s primjenom hiperoksije, placeba i vitamina C.

Nadalje, uočen je interakcijski učinak vremena \times liječenja ($P=0,003$). Učinak interakcije (vrijeme \times liječenje, $P=0,04$ i vrijeme \times liječenje \times izloženo stanje, $P<0,001$) zadržao se nakon alometrijskog skaliranja, uključujući SR_{AUC} i početni promjer kao kovarijable (**Tablica 3**).

Tablica 3. Protokom inducirana dilatacija brahijalne arterije prije i nakon intervencije (SCUBA ronjenje) nakon primjene placeba ili vitamina C

Varijable	SCUBA ronjenje ($n = 14$)			
	Placebo		Vitamin C	
	Prije	Nakon	Prije	Nakon
Bazalni promjer (cm)	4,73 \pm 0,75	5,13 \pm 0,98	4,64 \pm 0,45	4,69 \pm 0,54
Vršni promjer (cm)	5,17 \pm 0,83	5,44 \pm 0,95	5,09 \pm 0,49	5,06 \pm 0,62
Vrijeme do vršnog promjera (s)	77 \pm 11	79 \pm 15	76 \pm 12	77 \pm 12
SR_{AUC} (AUC)	17149 \pm 2537	16919 \pm 2190	17094 \pm 2170	17173 \pm 2076
FMD (%)	9,18 \pm 1,35	5,97 \pm 1,36*	9,88 \pm 1,53	7,90 \pm 1,64*†
Korigirani FMD (%)	9,20 \pm 0,50	6,25 \pm 0,50*	9,97 \pm 0,40	7,78 \pm 0,40*†

Podatci su prikazani kao srednje vrijednost \pm SD.

Legenda: n , broj ispitanika. FMD, protokom inducirana dilatacija; SR_{AUC} , stopa smicanja (površine ispod krivulje).

*Značajna razlika između mjerenja prije i nakon intervencije ($P<0.05$),

†Značajna razlika između placeba i vitamina C u istoj vremenskoj točki nakon intervencije ($P<0.05$).

Utvrđen je glavni učinak vremena ($P<0,001$) i liječenja ($P=0,046$) na FMD, ali nije primijećena povezanost s izloženim stanjem ($P=0,073$) (Tablica 4).

Tablica 4. Protokom inducirana dilatacija brahijalne arterije prije i nakon intervencije (hiperoksija) nakon primjene placeba ili vitamina C

Varijable	Hiperoksija ($n=12$)			
	Placebo		Vitamin C	
	Prije	Nakon	Prije	Nakon
Bazalni promjer (cm)	4,51±	4,51±	4,60±	4,64±
	0,43	0,45	0,44	0,66
Vršni promjer (cm)	4,94±	4,82±	5,05±	5,05±
	0,48	0,47	0,49	0,73
Vrijeme do vršnog promjera (s)	74±	74±11	72±12	73±10
	13			
SR _{AUC} (AUC)	17417±	17092±	17998±	17717±
	2343	2238	2464 [†]	2245 [†]
FMD (%)	9,50±	6,80±	9,76±	8,98±
	1,54	1,84 [*]	1,80	1,66 [†]
Korigirani FMD (%)	9,31±	6,71±	9,52±	8,76±
	0,52	0,51 [*]	0,50	0,51 [†]

Podatci su prikazani kao srednje vrijednost ± SD.

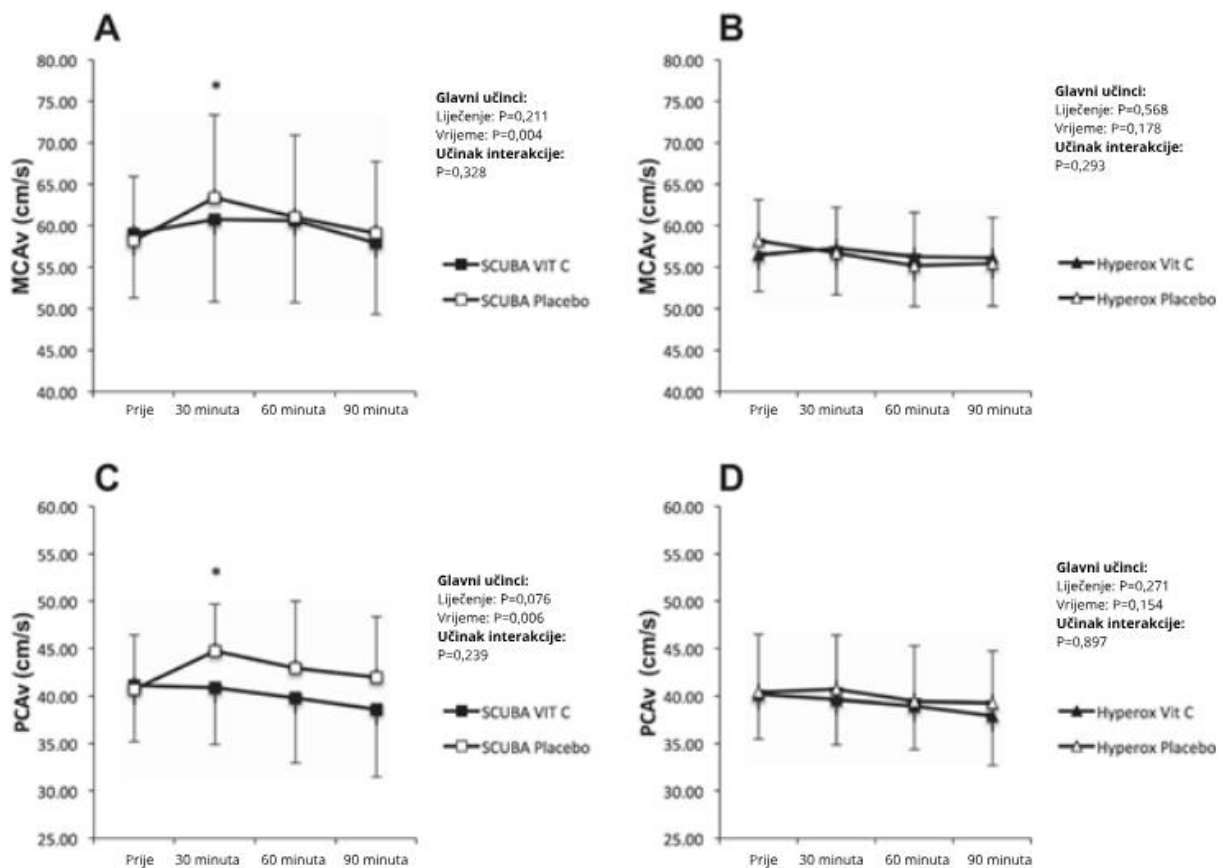
Legenda: n , broj ispitanika. FMD, protokom inducirana dilatacija; SR_{AUC}, stopa smicanja (površine ispod krivulje).

^{*}Značajna razlika između prije i nakon intervencije ($P<0.05$),

[†]Značajna razlika između placeba i vitamina C u istoj vremenskoj točki nakon intervencije ($P<0.05$).

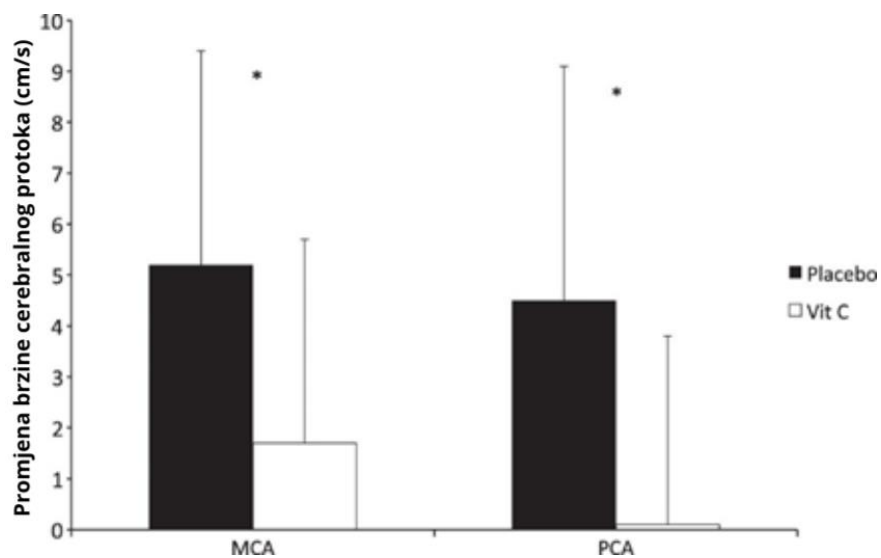
Cerebrovaskularne promjene

Utvrđena je značajna povezanost vremena za MCAv i PCAv tijekom ronjenja ($P < 0,05$), ali nije primijećena povezanost liječenja i interakcije ($P > 0,05$). *Post-hoc* analiza utvrdila je značajnu razliku između stanja prije i 30 minuta nakon ronjenja, uz povećanje MCAv i PCAv 30 minuta nakon ronjenja ($P < 0,05$). Kako bi se ispitali učinci vitamina C na promjene CBV-a izazvane ronjenjem između faza prije i 30 minuta nakon ronjenja, korišten je jednostavan t-test (Slika 8).



Slika 8. Brzine krvi u srednjoj cerebralnoj arteriji (MCAv) i stražnjoj cerebralnoj arteriji

Značajne razlike u delta MCAv i PCAv između ispitivanja vitamina C i placeba bile su prisutne 30 minuta nakon zarona ($P < 0,05$) (Slika 9).



Slika 9. Promjene brzine krvi u srednjoj cerebralnoj arteriji i stražnjoj cerebralnoj arteriji.

Nije bilo glavnih učinaka vremena, liječenja i interakcije za MCAv i PCAv u stanju hiperoksije ($P>0,05$). Zbog nedostatka promjena u MAP-u, CVC je ostao nepromijenjen i u intervencijama i u liječenju (**Tablica 5**).

Tablica 5. Učinci SCUBA ronjenja na hemodinamske parametre i cerebrovaskularni protok

Varijable	SBP (mm Hg)	DBP (mm Hg)	MAP (mm Hg)	SV (ml)	HR (/min)	CO (ml /min)	TPR	CVC MCA	CVC PCA
Placebo									
Prije	118,8± 6,9	73,6± 7,4	88,6± 6,6	114,1± 9,9	65± 10	7,35± 0,98	12,18± 1,21	0,66± 0,11	0,46± 0,06
Nakon 30min	122,2± 10,6	74,9± 6,6	90,6± 7,4	108,1± 12,2*	61± 7*	6,57± 0,90*	13,98± 1,86*	0,70± 0,14	0,50± 0,07
Nakon 60min	124,1± 9,9	76,9± 7,4	92,6± 7,4	105,7± 11,6*	60± 8*	6,29± 0,87*	14,78± 1,88*	0,67± 0,13	0,48± 0,08
Nakon 90min	124,8± 8,8	76,6± 6,4	92,7± 6,4	104,9± 13,8*	59± 8*	6,06± 0,92*	15,58± 2,33*	0,64± 0,11	0,46± 0,07
Vitamin C									
Prije	117,6± 8,1	75,7± 8,1	89,7± 7,6	113,9± 7,4	63± 11	7,20± 1,32	12,82± 2,33	0,66± 0,13	0,46± 0,08
Nakon 30min	119,9± 8,8	77,6± 8,1	91,7± 7,0	105,6± 14,0*	59± 8*	6,20± 0,93*	15,07± 2,48*	0,67± 0,13	0,45± 0,08
Nakon 60min	121,7± 9,8	78,1± 8,1	92,7± 8,1	103,9± 13,8*	58± 8*	6,03± 1,03*	15,81± 3,11*	0,67± 0,14	0,43± 0,08
Nakon 90min	121,1± 7,4	77,5± 7,4	92,1± 6,5	101,4± 17,2*	57± 8*	5,69± 0,95*	16,66± 3,40*	0,64± 0,12	0,42± 0,07
ANOVA ponavljanih mjerenja (dvosmjerna)									
Vrijeme	0,104	0,622	0,304	0,003	0,049	<0,001	<0,001	0,571	0,332

Liječenje	0,151	0,139	0,660	0,461	0,271	0,121	0,039	0,720	0,054
Interakcija	0,953	0,959	0,956	0,959	1,000	0,976	0,973	0,959	0,672

Podatci su prikazani kao srednja vrijednost \pm SD.

Legenda: *n*, broj ispitanika. CO, srčani minutni volumen; CVC_{MCA} , cerebrovaskularni protok u srednjoj cerebralnoj arteriji; CVC_{PCA} , cerebrovaskularni protok u stražnjoj cerebralnoj arteriji; DBP, dija stolički krvni tlak; HR, srčana frekvencije; MAP, srednji arterijski tlak; SBP, sistolički arterijski tlak; SV, udarni volumen; TPR, ukupni periferni otpor.

*Značajne razlike između prije i nakon (u vremenskim točkama nakon 30, 60 i 90 minuta) unutar stanja, neovisno o liječenju ($P < 0.05$).

Hemodinamske promjene

Utvrđena je povezanost vremena i udarnog volumena (SV), HR i CO u stanju ronjenja i na HR i CO u stanju disanja O₂, ali nije bilo glavnog učinka primijenjenog liječenja i interakcije (P > 0,05). Bradikardija, smanjeni SV i CO bili su prisutni nakon zarona (P < 0,05). Ove su promjene trajale do 90 minuta, bez obzira na liječenje. Povišenja TPR (P < 0,05) bila su prisutna i do 90 minuta nakon zarona. Primijećen je glavni učinak liječenja, ali nije bilo učinka interakcije. Disanje O₂ smanjilo je HR i CO i povećalo TPR (P < 0,05); ti su parametri ostali povišeni i do 90 minuta nakon disanja O₂, ali nije primijećen glavni učinak liječenja (**Tablica 5 i Tablica 6**).

Tablica 6. Učinci hiperoksije na hemodinamske parametre i cerebrovaskularni protok

Varijable	SBP (mmHg)	DBP (mmHg)	MAP (mmHg)	SV (ml)	HR (/min)	CO (ml/min)	TPR	CVC MCA	CVC PCA
Placebo									
Prije	120,3±7,3	73,8±6,0	89,3±5,8	115,8±19,2	63±8	7,34±1,45	12,55±2,28	0,65±0,08	0,46±0,06
Udisanje O₂	124,8±10,1	76,1±7,0	92,4±7,3	116,7±18,6	58±8*	6,84±1,38*	13,94±2,94*	0,61±0,08	0,43±0,07
Nakon 30 min	123,8±6,5	76,7±7,2	92,4±5,8	109,7±19,8	57±6*	6,27±1,32*	15,32±3,16*	0,62±0,08	0,44±0,07
Nakon 60 min	123,7±5,9	78,1±8,5	93,3±7,1	106,5±14,7	57±7*	6,03±1,02*	15,91±3,15*	0,60±0,10	0,43±0,07
Nakon 90 min	123,9±7,5	78,2±8,4	92,4±7,1	106,8±18,9	57±6*	6,11±1,20*	15,84±3,42*	0,60±0,10	0,43±0,06
Vitamin C									
Prije	120,0±7,7	76,4±7,7	90,9±7,2	115,3±13,8	64±9	7,40±1,31	12,57±1,99	0,63±0,08	0,45±0,07
Udisanje O₂	123,3±8,4	77,4±6,4	92,7±6,4	117,4±14,1	58±7*	6,77±1,07*	13,90±1,64*	0,60±0,09	0,43±0,06
Nakon 30 min	121,3±5,8	75,7±5,9	90,9±4,9	113,5±15,5	58±7*	6,52±1,16*	14,27±2,24*	0,63±0,08	0,44±0,06
Nakon 60 min	123,0±4,9	75,8±6,2	91,6±5,0	112,3±14,2	58±8*	6,52±1,13*	14,38±2,36*	0,62±0,08	0,43±0,05
Nakon 90 min	125,7±6,4	77,1±5,5	93,4±4,9	110,6±16,9	59±8*	6,42±1,06*	14,87±2,28*	0,60±0,07	0,41±0,05

ANOVA ponavljanih mjerenja (dvosmjerna)

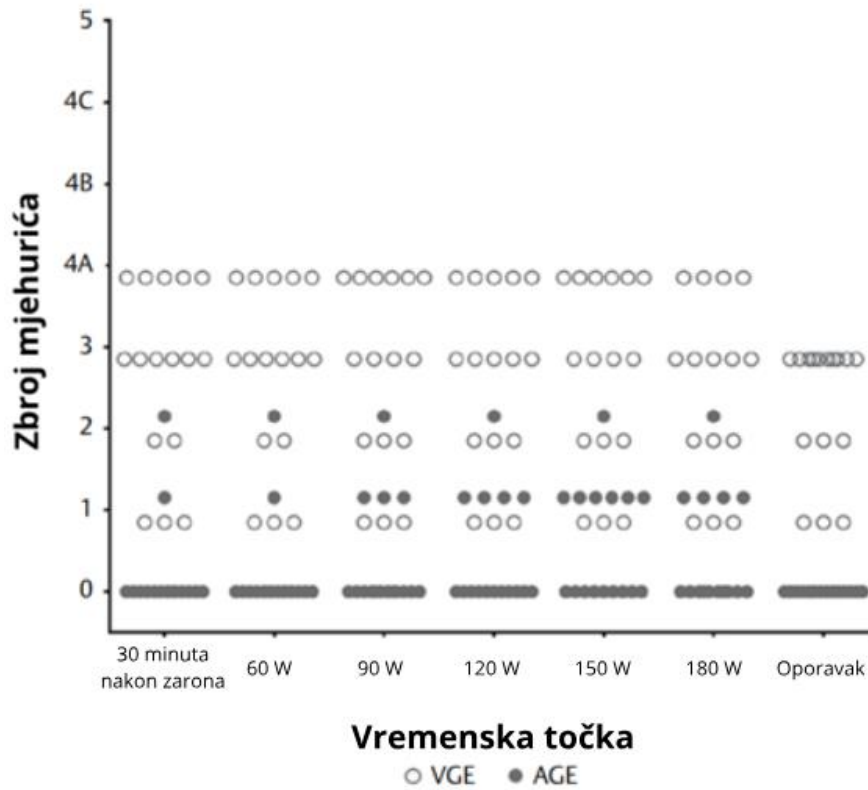
Vrijeme	0,250	0,766	0,474	0,351	0,038	0,023	0,002	0,505	0,415
Liječenje	0,630	0,948	0,815	0,363	0,682	0,346	0,138	0,971	0,611
Interakcija	0,849	0,749	0,869	0,949	0,989	0,935	0,779	0,861	0,988

Podatci su prikazani kao srednja vrijednost \pm SD.

Legenda: *n*, broj ispitanika. CO, srčani minutni volumen; CVC_{MCA}, cerebrovaskularni protok u srednjoj cerebralnoj arteriji; CVC_{PCA}, cerebrovaskularni protok u stražnjoj cerebralnoj arteriji; DBP, dija stolički krvni tlak; HR, srčana frekvencije; MAP, srednji arterijski tlak; SBP, sistolički arterijski tlak; SV, udarni volumen; TPR, ukupni periferni otpor.

*Značajne razlike između prije i nakon (u vremenskim točkama nakon 30, 60 i 90 minuta) unutar stanja, neovisno o liječenju ($P < 0.05$).

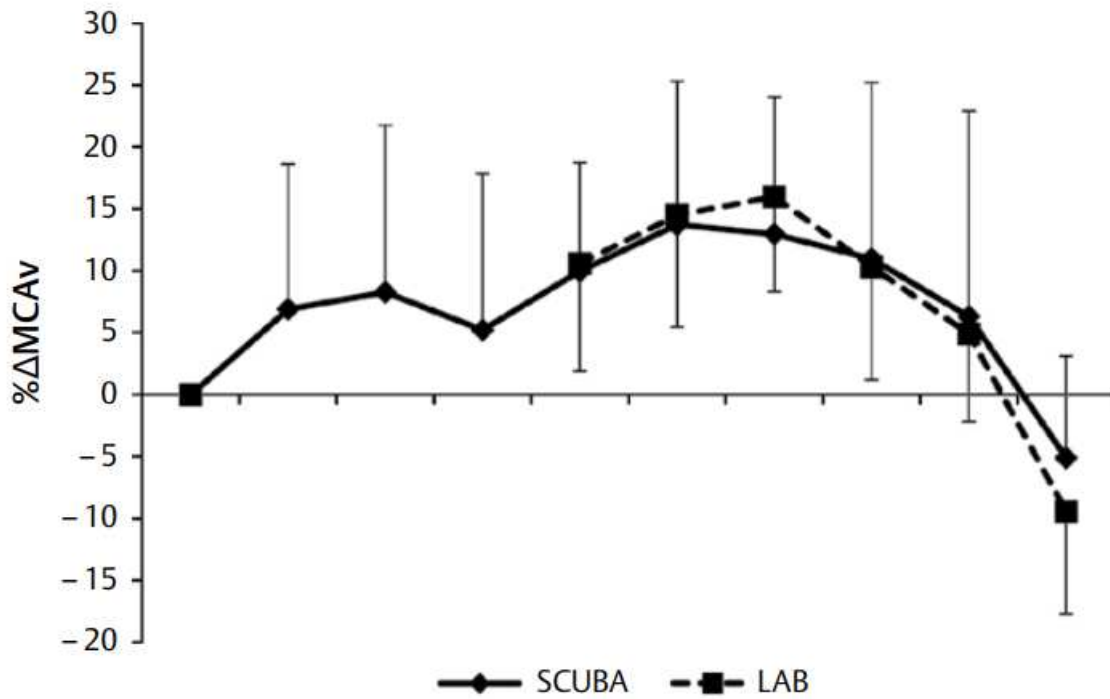
Svi su ispitanici dovršili protokol i nisu zabilježeni znakovi dekompresijske bolesti. Svih 16 ronioaca razvilo je venske plinske emboluse (VGE) nakon ronjenja, dok su 2 prešla u arterijsku fazu u mirovanju (**Slika 10**).



Slika 10. Stupnjevi mjehurića u različitim fazama: mirovanje nakon 30 minuta od izranjanja; površinska tjelovježba; mirovanje.

Cerebrovaskularni i hemodinamski nakon mirovanja – srednja cerebralna arterija

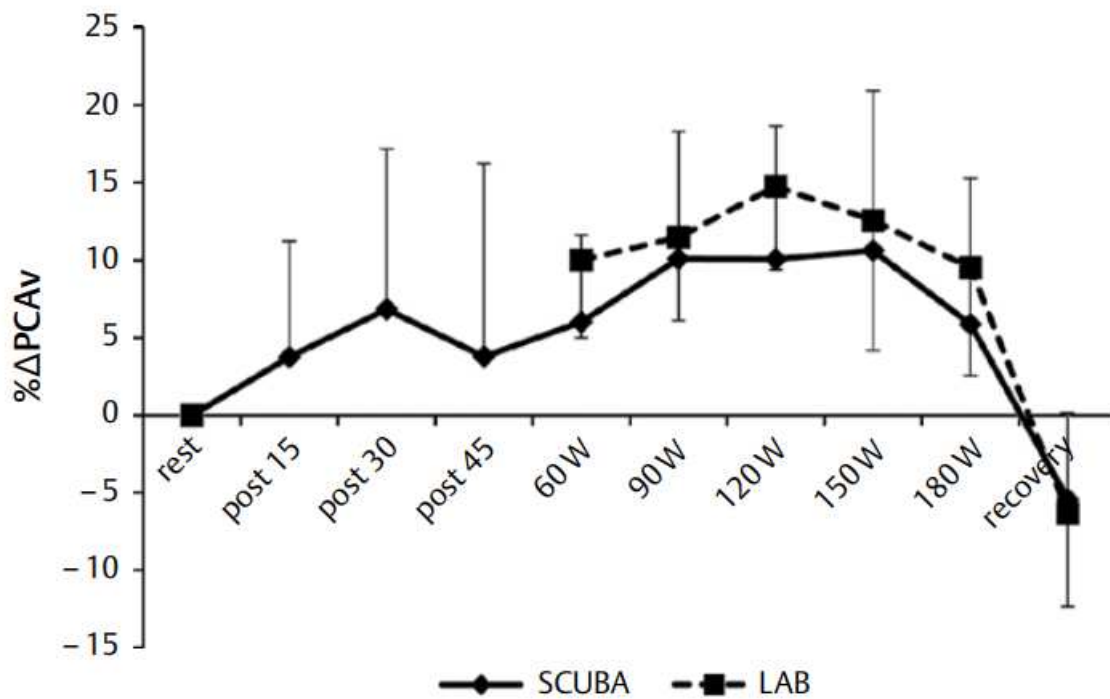
Nakon zarona, MCA brzina je porasla nakon 15 i 30 min od izranjanja (za $3,3 \pm 5,8$ i $4,0 \pm 6,9$ cm/s; $p < 0,05$) (Slika 11).



Slika 11. Cerebrovaskularni i hemodinamski parametri nakon mirovanja u srednjoj cerebralnoj arteriji.

Cerebrovaskularne i hemodinamske promjene nakon mirovanja – stražnja cerebralna arterija

Nadalje, povećana je brzina PCA nakon 30 minuta od izranjanja (za $3,0 \pm 4,5$ cm/s; $p < 0,05$) (Slika 12).



Slika 12. Cerebrovaskularni i hemodinamski parametri nakon mirovanja u stražnjoj cerebralnoj arteriji.

Hemodinamske promjene nakon ronjenja

Nakon ronjenja zabilježena su smanjenja udarnog volumena i minutnog volumena uz povećanje ukupnog perifernog otpora, ali bez promjena u krvnom tlaku i srčanoj frekvenciji ($p>0,05$) (Tablica 7)

Tablica 7. Hemodinamske promjene tijekom i nakon ronjenja

Varijable	Prije zarona	15 minuta nakon izranjanja	30 minuta nakon izranjanja	45 minuta nakon izranjanja
SBP (mmHg)	124,0± 9,0	127,4± 10,5	127,8±1 0,6	129,1± 9,8
DBP (mmHg)	74,4± 6,3	76,4± 6,8	76,5± 5,8	76,8± 5,4
MAP (mmHg)	91,0± 6,5	93,4± 7,2	93,6± 6,2	94,3± 5,9
SV (mL)	101,7± 13,2	84,3± 17,5*	86,5± 18,9*	84,5± 14,3*
HR (/min)	67± 10	63± 10	63± 10	61± 8*
CO ml/min)	6,78± 1,04	5,28± 1,28*	5,39± 1,12*	5,11± 1,02*
TPR (mmHg*min /l)	13,75± 2,49	18,70± 4,97*	18,29± 5,15*	19,22± 4,70*
MCAv (cm/s)	60,76± 7,41	64,83± 9,28*	65,65± 10,11*	63,76± 9,20
PCAv (cm/s)	42,83± 2,82	44,96± 4,45	46,36± 5,97*	44,40± 6,41
CVC _{mca}	0,67± 0,11	0,70± 0,10	0,70± 0,10	0,68± 0,09
CVC _{pca}	0,48± 0,04	0,48± 0,05	0,50± 0,07	0,48± 0,07
CVR _{mca}	1,52± 0,23	1,46± 0,21	1,45± 0,21	1,50± 0,19
CVR _{pca}	2,11± 0,16	2,09± 0,23	2,04± 0,26	2,15± 0,35

Legenda: SBP – sistolički krvni tlak; DBP – dijastolički krvni tlak; MAP – srednji krvni tlak; SV – udami volumen; HR – srčana frekvencija; CO – srčani minutni volumen; TPR – ukupni periferni otpor; MCAv – brzina protoka u srednjoj cerebralnoj arteriji; PCAv – brzina protoka u stražnjoj cerebralnoj arteriji; CVC – cerebrovaskularni protok; CVR – cerebrovaskularni otpor; * označava statističku značajnost između faza prije i nakon ronjenja.

Cerebrovaskularne i hemodinamske promjene nakon kopnenog vježbanja

Svi ronionci osim jednog završili su kopneni test vježbanja nakon zarona. Vježbe nakon ronjenja povećale su brzine u MCA i PCA do vježbanja s 150 W (za $6,5 \pm 7,5$, odnosno $4,7 \pm 5,0$ cm/s; N=16; $p < 0,05$), a nakon vježbanja sa 180 W (N=15) slijedilo je smanjenje brzina prema bazalnim vrijednostima. Povećanje CVR-a nakon vježbanja sa 150 W utvrđeno je u obje cerebralne arterije. Svi hemodinamski parametri povećavali su se vježbanjem, a ukupni se periferni otpor smanjio (**Tablica 8**).

Tablica 8. Hemodinamske promjene tijekom kopnenog vježbanja

Varijable	60W	90W	120W	150W	180W	Oporavak
SBP (mmHg)	154,3± 17,4*	163,13± 19,9*	174,5± 20,9*	184,0± 19,6*	193,1± 23,1*	120,7± 10,2*
DBP (mmHg)	80,7± 4,3*	81,1± 3,9*	82,1± 3,0*	84,3± 3,8*	86,0± 2,6*	74,5± 6,7
MAP (mmHg)	105,2± 7,8*	108,5± 8,2*	110,9± 9,8*	117,5± 7,8*	121,7± 8,0*	89,9± 7,2*
SV (ml)	93,6± 14,9*	95,4± 19,1*	97,5± 21,8*	100,2± 21,3*	99,6± 22,3*	91,2± 16,6
HR (/min)	91± 10*	101± 11*	112± 11*	124± 14*	138± 16*	80± 14*
CO (ml/min)	8,49± 1,28*	9,54± 1,73*	10,86± 2,34*	12,38± 2,53*	13,64± 2,93*	7,31± 1,82*
TPR (mmHg*min/l)	12,62± 1,87*	11,73± 2,36*	10,69± 2,75*	9,90± 2,34*	9,33± 2,21*	13,14± 3,74*
MCAv (cm/s)	69,96± 11,00*	72,38± 12,48*	71,79± 11,09*	70,7± 10,2*	67,04± 10,04	60,52± 7,75
PCAv (cm/s)	47,30± 7,32*	49,15± 8,22*	49,09± 8,04*	49,14± 8,00*	47,31± 7,28	42,77± 6,12
CVC_{mca}	0,67± 0,12	0,68± 0,13	0,67± 0,13	0,61± 0,10*	0,56± 0,10*	0,68± 0,11

CVC_{pca}	0,45± 0,07	0,46± 0,08	0,45± 0,08	0,42± 0,07*	0,39± 0,06*	0,48± 0,09
CVR_{mca}	1,53± 0,30	1,53± 0,31	1,56± 0,34	1,68± 0,29*	1,85± 0,35*	1,51± 0,25
CVR_{pca}	2,26± 0,38	2,25± 0,40	2,29± 0,44	2,44± 0,40*	2,62± 0,38*	2,14± 0,43

Legenda: SBP – sistolički krvni tlak; DBP – dijastolički krvni tlak; MAP – srednji krvni tlak; SV – udami volumen; HR – srčana frekvencija; CO – srčani minutni volumen; TPR – ukupni periferni otpor; MCAv – brzina protoka u srednjoj cerebralnoj arteriji; PCAv – brzina protoka u stražnjoj cerebralnoj arteriji; CVC – cerebrovaskularni protok; CVR – cerebrovaskularni otpor; * označava statističku značajnost između faza 45 min nakon izranjanja i tjelovježbe.

Laboratorijske cerebrovaskularne i hemodinamske promjene

Svi su sudionici završili test vježbanja. U laboratorijskoj studiji vježbanje se odrazilo na porast MCAv do 150 W (za $5,8 \pm 5,2$ cm/s; $p < 0,05$) praćen smanjenjem prema početnoj liniji na 180 W, dok je PCAv ostao povišen čak i na 180 W (za $4,0 \pm 2,8$; $p < 0,05$). Nakon oporavka cerebralna brzina protoka krvi (CBV) pala je ispod početnih vrijednosti u obje cerebralne arterije. CVR u MCA povećao se na 150 W ($p < 0,05$), a u PCA samo na 180 W ($p < 0,05$). Svi hemodinamski parametri (osim DBP-a) povećavali su se vježbanjem ($p < 0,05$), dok se ukupni periferni otpor smanjivao ($p < 0,05$). TPR na svim odgovarajućim razinama vježbanja bio je niži nego tijekom vježbanja nakon ronjenja ($p < 0,05$). Nismo pronašli razliku u CBV tijekom vježbanja između terenskih i laboratorijskih studija ($p > 0,05$) (Tablica 9).

Tablica 9. Laboratorijske i hemodinamske promjene tijekom kopnenog testa vježbanja

Varijable	Odmor	60W	90W	120W	150 W	180 W	Oporavak
SBP (mmHg)	125,0± 8,2	150,3± 12,7*	160,4± 14,2*	169,4± 18,9*	176,5± 20,2*	186,1± 17,9*	113,8± 11,2*
DBP (mmHg)	75,0± 7,8	75,6± 10,8	77,0± 10,5	78,6± 9,9	79,3± 9,4	79,5± 10,8	68,1± 11,1*
MAP (mmHg)	91,7± 6,9	100,5± 8,3*	104,8± 8,2*	108,9± 8,6*	111,7± 8,2*	115,6± 8,6*	83,3± 9,8*
SV (mL)	101,1± 9,9	116,4± 12,7*†	118,0± 13,6*†	116,9± 14,1*†	117,7± 18,3*†	116,4± 15,1*†	103,5± 14,3†
HR (/min)	68± 8	99± 11*	108± 14*	120± 14*	129± 15*	144± 19*	84± 11*
CO (mL/min)	6,85± 0,84	11,54± 1,94*†	12,76± 1,90*†	14,00± 2,45*†	15,20± 3,27*†	16,77± 3,07*†	8,68± 1,56*†
TPR (mmHg*min /L)	13,54± 1,88	8,93± 1,60*†	8,39± 1,40*†	8,00± 1,51*†	7,65± 1,66*†	7,09± 1,50*†	9,94± 2,78*†
MCAv (cm/s)	59,08± 8,16	65,45± 11,24*	67,51± 12,04*	68,38± 9,64*	65,37± 8,73*	63,15± 6,30	53,64± 6,63*†
PCAv (cm/s)	40,79± 5,31	44,89± 6,32*	45,58± 6,75	46,89± 7,15*	46,41± 7,11*	46,31± 5,63*	38,31± 6,36*†

CVC_{mca}	0,66± 0,13	0,65± 0,15	0,65± 0,15	0,63± 0,12	0,59± 0,11*	0,55± 0,08*	0,67± 0,16
CVC_{pca}	0,45± 0,05	0,46± 0,08	0,45± 0,08	0,44± 0,08	0,43± 0,07	0,41± 0,06*	0,74± 0,09
CVR_{mca}	1,57± 0,27	1,60± 0,34	1,61± 0,35	1,63± 0,27	1,74± 0,29*	1,86± 0,29*	1,56± 0,36
CVR_{pca}	2,26± 0,26	2,24± 0,38	2,30± 0,43	2,33± 0,41	2,42± 0,44	2,48± 0,40*	2,21± 0,46

Legenda: SBP – sistolički krvni tlak; DBP – dijastolički krvni tlak; MAP – srednji krvni tlak; SV – udami volumen; HR – srčana frekvencija; CO – srčani minutni volumen; TPR – ukupni periferni otpor; MCAv – brzina protoka u srednjoj cerebralnoj arteriji; PCAv – brzina protoka u stražnjoj cerebralnoj arteriji; CVC – cerebrovaskularna provodljivost; CVR – cerebrovaskularni otpor; * označava statističku značajnost između faza prije i nakon ronjenja, kao i faza 45 min nakon izranjanja i tjelovježbe.

5. RASPRAVA

Ovo znanstveno istraživanje pruža nekoliko važnih otkrića. Prije svega, profilaktičko uzimanje vitamina C učinkovito je smanjilo krvožilnu disfunkciju nakon izlaganja 60% O₂, ali nije u potpunosti utjecalo na smanjenje FMD-a nakon ronjenja. Navedeno ukazuje na to da je endotelna disfunkcija nakon ronjenja pod utjecajem drugih čimbenika ili posredovana drugim mehanizmima neovisnim o vitaminu C. Prolazna povišenja CBV javila su se samo 30 minuta nakon zarona, a bila su ublažena vitaminom C. Međutim, te se promjene nisu dogodile nakon izlaganja isključivo hiperoksiji što sugerira da su i drugi čimbenici uključeni u posredovanje cerebrovaskularnih promjena tijekom ronjenja.

Nadalje, novo otkriće ove disertacije jest prolazno povišenje brzine protoka krvi u mirovanju tijekom 30 minuta nakon zarona. Takve promjene nisu bile očite tijekom vježbanja na kopnu. Postoji niz potencijalnih mehanizama koji mogu podržati povišenje intrakranijskih protoka tijekom ronjenja, uključujući promjene u plinovima arterijske krvi, cerebrovaskulamu endotelnu disfunkciju i cerebralnu vazokonstrikciju. U nastavku su istaknuti navedeni mehanizmi kojima se potencijalno mogu objasniti razlike u promjenama intrakranijskih protoka tijekom ronjenja u odnosu na vježbanje na kopnu.

Poremećaj endotelne funkcije u ronilaca koji su procijenjeni FMD-om brahijalne arterije izmjeren je nakon pojedinačnog i ponavljajućeg zarona (58, 97). Na ovu oštećenu krvožilnu funkciju može utjecati niz čimbenika, poput oksidativnog stresa izazvanog hiperoksijom (98, 99), VGE, AGE i oštećenja integriteta endotela (100). Po prvi put, prema našim saznanjima, pokazali smo neovisne učinke hiperoksije i ustanovili da hiperoksični stres nije jedini doprinos endotelnoj disfunkciji izazvanoj ronjenjem. Poznato je da je oksidativni stres (posebno superoksidni radikal) jedan od glavnih čistača NO-a, zbog toga što smanjuje njegovu bioraspoloživost (101, 102). Tijekom SCUBA ronjenja, ronionci su izloženi hiperoksiji koja može potaknuti povećano stvaranje reaktivnih vrsta kisika (ROS-a) i može smanjiti bioraspoloživost NO-a, kako brzom izravnom reakcijom s njim, tako i narušavanjem funkcije NO sintaze (103, 104). Otpuštanje slobodnih radikala usredotočenih na kisik povećano tijekom hiperoksičnog disanja, dovodi do porasta koncentracije reaktivnih produkata tiobarbitume kiseline u plazmi i moguće ometa osnovni učinak NO-a na stijenku žile (105). Naša otkrića pokazuju da je endotelna disfunkcija inducirana hiperoksijom uspješno poništena primjenom vitamina C dok je endotelna disfunkcija inducirana SCUBA ronjenjem samo djelomično ublažena antioksidativnim tretmanom.

Naši rezultati dodatno podupiru hipotezu da oksidativni stres igra važnu ulogu u vaskularnim oštećenjima izazvanim ronjenjem (98, 99, 106), ali također naglašava da se u patogenezi ovih promjena moraju uzeti u obzir i drugi čimbenici stresa povezani s ronjenjem. Doista, ukidanje hiperoksije uzrokovano oštećenjem FMD-a, ali samo djelomično ublažavanje oštećenja FMD-a nakon podmorja ukazuje na to da su drugi mehanizmi nepovezani s hiperoksijom u osnovi ove promjene u FMD-u. Potencijalni čimbenici uključuju promjene u VGE, AGE, fiziološke parametre prije zarona i podvodnu tjelesnu aktivnost, povećani ambijentalni tlak i / ili oštećenje endotela s povećanim brojem cirkulirajućih MP i aktivacijom neutrofila (73, 100, 107). Opterećenje VGE moglo bi rezultirati oslobađanjem vazoaktivnih humoralnih čimbenika (108) što dovodi do disfunkcije endotela u sistemske cirkulaciji. Također se može nagađati da manji VGE, koji se ehosonografijom ne može otkriti, može arterijalizirati i mehanički oštetiti sistemski arterijski endotel, uz evidentno izbacivanje endotelnih MP u cirkulaciju izazvanu stresom ronjenja (100, 109). Doista, ranije je uočeno da povećanje broja endotelnih MP zajedno s MP proizvedenih iz leukocita, eritrocita i trombocita te aktivacijom neutrofila, dokazuje sistemski upalni proces post-dekompresije koji može prouzročiti dodatnu vaskularnu disfunkciju (107, 109, 110).

U skladu s našim prethodnim istraživanjem (111), primijetili smo povišenje brzine intrakranijalne krvi 30 min nakon izranjanja na površinu, oslabljeno nakon primjene vitamina C. Povišenje ROS-a samo po sebi može dovesti do širenja pijalnih arterija kod miševa (112), mačaka i odojaka (113). Promjene u intrakranijalnim brzinama na razini MCA i PCA utječu na promjene promjera distalno stoga bi se privremeni porast CBV-a nakon ronjenja mogao potencijalno posredovati putem ROS-a. Zanimljivo je da nakon udisanja 60% O₂ nije došlo do povećanja intrakranijalnih brzina nakon intervencije, što ukazuje na to da povezane promjene u slobodnim radikalima možda nisu sastavni dio promjena u cerebralnoj perfuziji nakon ronjenja. Iako hiperoksija objašnjava promjene slobodnih radikala posredovane kisikom, izlaganje visokotlačnom N₂ tijekom ronjenja može rezultirati stvaranjem reaktivnih dušikovih vrsta (RNS) (114). U prethodnoj studiji, MP-ovi koji eksprimiraju nitrotirozin (manifestacija nitriranja proteina koja nastaje kao rezultat peroksitnitrata ili druge proizvodnje RNS-a), povećani su nakon ronjenja (115). Međutim, pokazano je da izloženost povišenom PO₂ bez N₂ pod visokim tlakom nije uzrokovala povišenja takvih MP (115). Stoga se čini da je visoki ambijentalni tlak, uz oksidativni stres, ključni čimbenik u razvoju endotelne disfunkcije (109, 116).

Iako na razini pretpostavke, vjerojatno je da bi dodatak vitamina C mogao ublažiti ove promjene u cerebralnom oštećenju endotela (na razini pijalnih žila) djelujući na mjestima povezanim s proizvodnjom RNS-a i ukidajući porast MP koje sadrže nitrotirozin (115).

Tijekom SCUBA ronjenja dolazi do izloženosti okolišnim čimbenicima: povećanja predopterećenja izazvanog uranjanjem, povećanja opterećenja izazvanog hladnom vodom koji mogu dovesti do smanjenog punjenja lijevog srca zbog disanja mješavina plinova velike gustoće, pojačanog rada pri disanju te hiperoksičnog i psihološkog stresa (106). Učinci koji ostaju nakon izranjanja variraju od umjerenog smanjenja funkcije lijeve klijetke do povećanog TPR-a, povećanja tlaka u plućnoj arteriji i preopterećenja desne klijetke (7, 117-119). Naša trenutna otkrića pokazuju da je bar dio kardiovaskularne disfunkcije nakon ronjenja posljedica hiperoksije. Na primjer, tijekom 60%-tnog disanja O₂ u ispitivanju s placeboom, došlo je do značajnog povećanja TPR-a koji je posredovan smanjenjem CO. Sistemski vaskularni otpor ostao je povećan čak i 90 minuta nakon 60%-tnog disanja O₂ što je u skladu s ranijim izvještajima gdje se TPR nije uspio normalizirati tijekom razdoblja ispiranja od 60 minuta nakon primjene normobaričnog 100% O₂ (120, 121). Također u skladu s ranijim izvješćima (120, 122), CO je također smanjen zbog bradikardije i smanjenog SV i nije se vratio na početne vrijednosti niti nakon 90 minuta udisanja zraka u sobi. Učinak vitamina C, međutim, bio je prilično suptilan u utjecaju na ove kardiovaskularne promjene. Međutim, mali učinci bili su vidljivi na TPR nakon ronjenja. Iako su ti učinci naizgled mali, ipak su vrijedni pažnje, dajući informaciju o odgovarajućoj rezervi u ljudskom kardiovaskularnom sustavu.

Dobro je poznato da je mozak vrlo osjetljiv na promjene parcijalnog tlaka CO₂ i u manjoj mjeri arterijskog parcijalnog tlaka O₂ (53, 79, 85). Prethodno smo izvijestili da povećana prisutnost venskih mjehurića doprinosi razvoju akutnog plućnog edema uzrokujući plućnu mikroembolizaciju i oštećenje plućnog endotela (53, 123) što rezultira smanjenjem difuzijskog kapaciteta pluća (7, 52). Te su studije potvrdile da, iako se nakon ronjenja može razviti blaga hipoksemija, PaO₂ rijetko pada ispod 70 mmHg (7, 52). Iako nismo mjerili plinove krvi nakon SCUBA zarona, budući da se cerebralna vazodilatacija ne događa dok vrijednosti PaO₂ nisu <50 mmHg (124, 125), malo je vjerojatno da bi to objasnilo povišenje MCAv i PCAv. Porast arterijskog parcijalnog tlaka CO₂ također vjerojatno neće objasniti naše rezultate jer su prethodne studije izvijestile o normalnim vrijednostima nakon SCUBA ronjenja i primjeni sličnog ronilačkog stresa (7).

Rezultati ovog istraživanja ne mogu se objasniti samo endotelnom disfunkcijom u cerebrovaskularnoj regiji. Naime, nakon uzastopnih zarona, ronionci bez otvorenog foramena ovale nisu pokazali mikroembolijske signale i nemaju veliku razinu arterijalizacije. Nadalje,

nakon ponavljanih zarona nije utvrđena promjena biokemijskih markera (npr. razina enolaze specifične za neurone i S-100 β) propusnosti krvno-moždane barijere i cerebrovaskularne disfunkcije endotela (9). Međutim, i dalje je moguće da manji VGE, koji se ehosonografski ne može otkriti, može arterijalizirati i mehanički oštetiti sistemski arterijski endotel. Uz evidentno izbacivanje endotelnih mikročestica u cirkulaciju izazvanu stresom ronjenja, zajedno s mikročesticama izvedenim iz leukocita, eritrocita i trombocita (89, 100), oni također mogu imati učinke na vaskularnu disfunkciju poput oštećenja endotela u cerebralnim arterijama. Međutim, ako bi došlo do oštećenja cerebralnog endotela, to bi se vjerojatno potaklo smanjenje protoka, a ne njegov porast.

Poznato je da hiperoksija povezana sa SCUBA ronjenjem uzrokuje cerebralnu vazokonstrikciju izravnim i neizravnim putovima. Na primjer, hiperoksija dovodi do vazokonstrikcije povećanim stvaranjem reaktivnih vrsta kisika i smanjenom bioraspoloživošću NO-a, brzom reakcijom s njim ili sporijim narušavanjem funkcije NO sintaze (103, 126). Uz to, dobro je uočeno da hiperoksija uzrokuje cerebralnu vazokonstrikciju i smanjenje CBF-a za 10–33%, ovisno o atmosferskom tlaku (65, 69, 127, 128). Ostaje nepoznato objašnjavaju li se naši rezultati vazokonstrikcijom intrakranijalnih arterija (npr. MCA, PCA) induciranom hiperoksijom što rezultira povećanjem brzine MCA i PCA nakon SCUBA zarona. Za potvrdu ili pobijanje ove hipoteze potrebne su buduće studije u kojima bi se mjerilo volumetrijski protok i promjer ekstrakranijalnih arterija.

Promjene u CBF-u tijekom vježbanja dobro su dokumentirane (88, 129, 130). Povećanje intenziteta vježbanja do približno 60% maksimalnog kapaciteta dovodi do povišenja CBF-a od 10–30%, nakon čega se CBF smanjuje prema početnim vrijednostima zbog nižeg PaCO₂ putem cerebralne vazokonstrikcije inducirane hiperventilacijom (84). Ove posljednje promjene nastavljaju se tijekom vježbanja unatoč znatnom povišenju perfuzijskog tlaka, koje se javljaju tijekom vježbanja visokog intenziteta i ističu glavni utjecaj PaCO₂. Slične promjene u CBF-u pronađene su nakon SCUBA-e i u laboratoriju, što ukazuje na to da promjene u CBF-u izazvane vježbanjem nisu posebno uzrokovane ronjenjem. Treba napomenuti, međutim, da je vježba nakon ronjenja uvedena nakon 45 minuta u ležećem položaju kada su se brzine intrakranijalne krvi vratile na početne vrijednosti prije ronjenja. Ovaj je vremenski interval potreban za postizanje stabilnog broja VGE kod svih ispitanika. Hoće li biti drugačiji ishod ako bi vježba započela dok je prijelazno povišenje u mirovanju CBV-a još uvijek bilo prisutno, ostaje za razmatranje u novoj budućoj studiji.

Provedeno istraživanje ima nekoliko ograničenja. Prvo, nedostatak mjerenja plinova u arterijskoj krvi onemogućava uvid u temeljne mehanizme kojima plinovi krvi mogu posredovati

povišenja intrakranijalnih brzina. Drugo, dizajnom eksperimentalnog protokola ispitali smo promjene unutarkranijalne brzine tijekom vježbe na leđima, a odgovori se mogu razlikovati u uspravnom položaju, što ograničava usporedbe dobivenih rezultata. Napokon, budući da smo morali čekati stabilan broj VGE, započeli smo vježbu 45 minuta nakon zarona. U takvom protokolu nemoguće je opisati opseg neposrednih promjena CBV-a tijekom vježbanja nakon zarona.

U ovoj smo disertaciji pokazali učinke ronjenja na periferno i cerebralno krvožilje te istaknuli neovisne učinke hiperoksije. Već znamo da povišeni PO_2 bez N_2 pod visokim tlakom ne uzrokuje povišenje MP endotela, a čimbenici stresa povezani s ronjenjem, osim parcijalnog tlaka balastnih plinova, sudjeluju u uzrokovanju vaskularnih promjena (50). Drugi pristup bio bi korištenje hipoksične mješavine plina za uklanjanje hiperoksije pri 18 m pod morem, što bi učinkovito uklanjalo hiperoksiju iz zarona. Međutim, iz sigurnosnih razloga započinjanje spuštanja hipoksičnom mješavinom plinova nije izvedivo. Stoga smo laboratorijskom intervencijom odvojili utjecaj hiperoksije, učinkovito uklanjajući ostale mehanizme povezane s ronjenjem od hiperoksije. S obzirom na osjetljivost cerebrovaskularne strukture na promjene u arterijskom CO_2 , bilo bi korisno imati izmjereni CO_2 na kraju izdisaja prije ili nakon plivanja, ali s obzirom na 10-minutni razmak između izrona i dok ronionci dođu u položaj za mjerenje, ove bi promjene bile nerelevantne. Sljedeće ograničenje ovog istraživanja je da TCD procjenjuje samo promjene CBV-a. Procjene promjera i brzine nakon ovih intervencija vjerojatno bi dale širu sliku utjecaja hiperoksije i drugih čimbenika povezanih s ronjenjem na promjene CBF-a.

Zaključno, profilaktičko uzimanje vitamina C učinkovito ukida samo endotelnu disfunkciju povezanu sa hiperoksijom (nakon izlaganja 60% O_2), što ukazuje da postoje drugi čimbenici koji reduciraju FMD-a tijekom ronjenja, s aditivnim učincima na oksidativni stres. Samo dio prijelaznog povišenja CBV-a nakon zarona mogao bi se objasniti oksidativnim stresom, a uključeni su i drugi čimbenici povezani s ronjenjem (vjerojatno povećani ambijentalni tlak). Profilaktički dodatak vitamina C uspješno je umanjio ovu prolaznu hiperemiju. Ovi nalazi zajedno ističu diferencijalni utjecaj vitamina C na perifernu i cerebralnu cirkulaciju nakon ronjenja, koji su samo djelomično posredovani hiperoksijom *per se*. Nadalje, postoji prolazno povišenje brzine protoka krvi u mirovanju od 30 minuta nakon SCUBA zarona. Potrebne su buduće studije kako bi se ispitali mehanizmi i potencijalne neurološke posljedice ove hiperemije.

6. ZAKLJUČCI

1. Profilaktičko uzimanje vitamina C smanjuje endotelnu disfunkciju povezanu sa hiperoksijom (nakon izlaganja 60% O₂);
2. Profilaktičko uzimanje vitamina C ne smanjuje endotelnu disfunkciju povezanu sa ronjenjem;
3. Dolazi do prolaznog povišenja brzina cerebralnog protoka krvi u mirovanju od 30 minuta nakon SCUBA zarona;
4. Utjecaj tjelovježbe na cerebrovaskularni protok ovisan je o stupnju opterećenja;
5. Vitamin C pokazuje diferencijalni učinak na cerebralnu i perifernu cirkulaciju.

7. POPIS CITIRANE LITERATURE

1. Lynch PR. Historical and basic perspectives of SCUBA diving. *Med Sci Sports Exerc.* 1996;28(5):570-2.
2. Bosco G, Rizzato A, Moon RE, Camporesi EM. Environmental Physiology and Diving Medicine. *Front Psychol.* 2018;9:72-72.
3. Ainslie PN, Smith KJ. Integrated human physiology: breathing, blood pressure and blood flow to the brain. *The Journal of physiology.* 2011;589(Pt 12):2917-17.
4. Levett DZ, Millar IL. Bubble trouble: a review of diving physiology and disease. *Postgrad Med J.* 2008;84(997):571-8.
5. Doubt TJ. Cardiovascular and thermal responses to SCUBA diving. *Med Sci Sports Exerc.* 1996;28(5):581-86.
6. Edmonds C, Thomas RL. Medical aspects of diving. 2. *Med J Aust.* 1972;2(22):1256-60.
7. Dujic Z, Bakovic D, Marinovic-Terzic I, Eterovic D. Acute effects of a single open sea air dive and post-dive posture on cardiac output and pulmonary gas exchange in recreational divers. *Br J Sports Med.* 2005;39(5):e24.
8. Barak OF, Madden D, Lovering AT, Lambrechts K, Ljubkovic M, Dujic Z. Very Few Exercise-Induced Arterialized Gas Bubbles Reach the Cerebral Vasculature. *Med Sci Sports Exerc.* 2015;47(9):1798-805.
9. Bilopavlovic N, Marinovic J, Ljubkovic M, Obad A, Zanchi J, Pollock NW, i sur. Effect of repetitive SCUBA diving on humoral markers of endothelial and central nervous system integrity. *Eur J Appl Physiol.* 2013;113(7):1737-43.
10. Blatteau J-E, Boussuges A, Gempp E, Pontier J-M, Castagna O, Robinet C, i sur. Haemodynamic changes induced by submaximal exercise before a dive and its consequences on bubble formation. *Br J Sports Med.* 2007;41(6):375-79.
11. Brodsky SV, Zhang F, Nasjletti A, Goligorsky MS. Endothelium-derived microparticles impair endothelial function in vitro. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2004;286(5):H1910-5.
12. Brubakk AO, Duplancic D, Valic Z, Palada I, Obad A, Bakovic D, i sur. A single air dive reduces arterial endothelial function in man. *The Journal of physiology.* 2005;566(Pt 3):901-06.
13. Dujic Z, Bakovic D, Marinovic-Terzic I, Eterovic D. Acute effects of a single open sea air dive and post-dive posture on cardiac output and pulmonary gas exchange in recreational divers. *Br J Sports Med.* 2005;39(5):e24-e24.
14. Deanfield JE, Halcox JP, Rabelink TJ. Endothelial function and dysfunction: testing and clinical relevance. *Circulation.* 2007;115(10):1285-95.
15. Gimbrone MA, Jr., García-Cardena G. Endothelial Cell Dysfunction and the Pathobiology of Atherosclerosis. *Circ Res.* 2016;118(4):620-36.
16. Rubanyi GM, Romero JC, Vanhoutte PM. Flow-induced release of endothelium-derived relaxing factor. *Am J Physiol.* 1986;250(6 Pt 2):H1145-9.
17. Rubanyi GM, Vanhoutte PM. Nature of endothelium-derived relaxing factor: are there two relaxing mediators? *Circ Res.* 1987;61(5 Pt 2):li61-7.
18. Furchgott RF, Vanhoutte PM. Endothelium-derived relaxing and contracting factors. *FASEB J.* 1989;3(9):2007-18.
19. Furchgott RF. Endothelium-derived relaxing factor: discovery, early studies, and identification as nitric oxide. *Biosci Rep.* 1999;19(4):235-51.

20. Palmer RMJ, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature*. 1987;327(6122):524-26.
21. Palmer RM, Ashton DS, Moncada S. Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature*. 1988;333(6174):664-6.
22. Förstermann U, Münzel T. Endothelial nitric oxide synthase in vascular disease: from marvel to menace. *Circulation*. 2006;113(13):1708-14.
23. Chiu JJ, Chien S. Effects of disturbed flow on vascular endothelium: pathophysiological basis and clinical perspectives. *Physiol Rev*. 2011;91(1):327-87.
24. Tuttle JL, Nachreiner RD, Bhuller AS, Condict KW, Connors BA, Herring BP, i sur. Shear level influences resistance artery remodeling: wall dimensions, cell density, and eNOS expression. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2001;281(3):H1380-9.
25. Harrison DG, Widder J, Grumbach I, Chen W, Weber M, Searles C. Endothelial mechanotransduction, nitric oxide and vascular inflammation. *J Intern Med*. 2006;259(4):351-63.
26. Govers R, Rabelink TJ. Cellular regulation of endothelial nitric oxide synthase. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2001;280(2):F193-206.
27. Griendling KK, FitzGerald GA. Oxidative stress and cardiovascular injury: Part I: basic mechanisms and in vivo monitoring of ROS. *Circulation*. 2003;108(16):1912-6.
28. Landmesser U, Dikalov S, Price SR, McCann L, Fukai T, Holland SM, i sur. Oxidation of tetrahydrobiopterin leads to uncoupling of endothelial cell nitric oxide synthase in hypertension. *J Clin Invest*. 2003;111(8):1201-9.
29. Vlachopoulos C, Xaplanteris P, Aboyans V, Brodmann M, Cífková R, Cosentino F, i sur. The role of vascular biomarkers for primary and secondary prevention. A position paper from the European Society of Cardiology Working Group on peripheral circulation: Endorsed by the Association for Research into Arterial Structure and Physiology (ARTERY) Society. *Atherosclerosis*. 2015;241(2):507-32.
30. Flammer AJ, Anderson T, Celermajer DS, Creager MA, Deanfield J, Ganz P, i sur. The assessment of endothelial function: from research into clinical practice. *Circulation*. 2012;126(6):753-67.
31. Vita JA, Keaney JF, Jr. Endothelial function: a barometer for cardiovascular risk? *Circulation*. 2002;106(6):640-2.
32. Yeboah J, Folsom AR, Burke GL, Johnson C, Polak JF, Post W, i sur. Predictive value of brachial flow-mediated dilation for incident cardiovascular events in a population-based study: the multi-ethnic study of atherosclerosis. *Circulation*. 2009;120(6):502-9.
33. Green DJ, Jones H, Thijssen D, Cable NT, Atkinson G. Flow-mediated dilation and cardiovascular event prediction: does nitric oxide matter? *Hypertension*. 2011;57(3):363-9.
34. Thijssen DH, Black MA, Pyke KE, Padilla J, Atkinson G, Harris RA, i sur. Assessment of flow-mediated dilation in humans: a methodological and physiological guideline. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2011;300(1):H2-12.
35. Inaba Y, Chen JA, Bergmann SR. Prediction of future cardiovascular outcomes by flow-mediated vasodilatation of brachial artery: a meta-analysis. *Int J Cardiovasc Imaging*. 2010;26(6):631-40.
36. Matsuzawa Y, Kwon TG, Lennon RJ, Lerman LO, Lerman A. Prognostic Value of Flow-Mediated Vasodilation in Brachial Artery and Fingertip Artery for Cardiovascular Events: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Am Heart Assoc*. 2015;4(11).
37. Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, Spiegelhalter DJ, Miller OI, Sullivan ID, i sur. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet*. 1992;340(8828):1111-5.
38. Balletshofer BM, Rittig K, Stock J, Lehn-Stefan A, Overkamp D, Dietz K, i sur. Insulin resistant young subjects at risk of accelerated atherosclerosis exhibit a marked reduction in

- peripheral endothelial function early in life but not differences in intima-media thickness. *Atherosclerosis*. 2003;171(2):303-9.
39. Burger D, Touyz RM. Cellular biomarkers of endothelial health: microparticles, endothelial progenitor cells, and circulating endothelial cells. *J Am Soc Hypertens*. 2012;6(2):85-99.
 40. Woywodt A, Goldberg C, Kirsch T, de Groot K, Erdbruegger U, Haller H, i sur. Circulating endothelial cells in relapse and limited granulomatous disease due to ANCA associated vasculitis. *Ann Rheum Dis*. 2006;65(2):164-8.
 41. Veerasamy M, Bagnall A, Neely D, Allen J, Sinclair H, Kunadian V. Endothelial dysfunction and coronary artery disease: a state of the art review. *Cardiol Rev*. 2015;23(3):119-29.
 42. Pyke KE, Tschakovsky ME. The relationship between shear stress and flow-mediated dilatation: implications for the assessment of endothelial function. *J Physiol*. 2005;568(Pt 2):357-69.
 43. Joannides R, Haefeli WE, Linder L, Richard V, Bakkali EH, Thuillez C, i sur. Nitric oxide is responsible for flow-dependent dilatation of human peripheral conduit arteries in vivo. *Circulation*. 1995;91(5):1314-9.
 44. Green D. Point: Flow-mediated dilation does reflect nitric oxide-mediated endothelial function. *J Appl Physiol* (1985). 2005;99(3):1233-4; discussion 37-8.
 45. Lekakis J, Abraham P, Balbarini A, Blann A, Boulanger CM, Cockcroft J, i sur. Methods for evaluating endothelial function: a position statement from the European Society of Cardiology Working Group on Peripheral Circulation. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*. 2011;18(6):775-89.
 46. Black MA, Cable NT, Thijssen DH, Green DJ. Importance of measuring the time course of flow-mediated dilatation in humans. *Hypertension*. 2008;51(2):203-10.
 47. Liuni A, Luca MC, Lisi M, Dragoni S, di Stolfo G, Mariani JA, i sur. Observations of time-based measures of flow-mediated dilation of forearm conduit arteries: implications for the accurate assessment of endothelial function. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2010;299(3):H939-45.
 48. Parker BA, Trehearn TL, Meendering JR. Pick your Poiseuille: normalizing the shear stimulus in studies of flow-mediated dilation. *J Appl Physiol* (1985). 2009;107(4):1357-9.
 49. Reneman RS, Arts T, Hoeks AP. Wall shear stress--an important determinant of endothelial cell function and structure--in the arterial system in vivo. Discrepancies with theory. *J Vasc Res*. 2006;43(3):251-69.
 50. Harris RA, Nishiyama SK, Wray DW, Richardson RS. Ultrasound assessment of flow-mediated dilation. *Hypertension*. 2010;55(5):1075-85.
 51. Vann RD, Butler FK, Mitchell SJ, Moon RE. Decompression illness. *Lancet*. 2011;377(9760):153-64.
 52. Dujic Z, Eterovic D, Denoble P, Krstacic G, Tocilj J, Gosovic S. Effect of a single air dive on pulmonary diffusing capacity in professional divers. *J Appl Physiol* (1985). 1993;74(1):55-61.
 53. Dujic Z, Obad A, Palada I, Valic Z, Brubakk AO. A single open sea air dive increases pulmonary artery pressure and reduces right ventricular function in professional divers. *Eur J Appl Physiol*. 2006;97(4):478-85.
 54. Papadopoulou V, Tang MX, Balestra C, Eckersley RJ, Karapantsios TD. Circulatory bubble dynamics: from physical to biological aspects. *Adv Colloid Interface Sci*. 2014;206:239-49.
 55. Hagen PT, Scholz DG, Edwards WD. Incidence and Size of Patent Foramen Ovale During the First 10 Decades of Life: An Autopsy Study of 965 Normal Hearts. *Mayo Clin Proc*. 1984;59(1):17-20.

56. Eckenhoff RG, Olstad CS, Carrod G. Human dose-response relationship for decompression and endogenous bubble formation. *J Appl Physiol* (1985). 1990;69(3):914-8.
57. Madden LA, Laden G. Gas bubbles may not be the underlying cause of decompression illness - The at-depth endothelial dysfunction hypothesis. *Med Hypotheses*. 2009;72(4):389-92.
58. Marinovic J, Ljubkovic M, Breskovic T, Gunjaca G, Obad A, Modun D, i sur. Effects of successive air and nitrox dives on human vascular function. *Eur J Appl Physiol*. 2012;112(6):2131-7.
59. Mahon RT, Regis DP. Decompression and decompression sickness. *Compr Physiol*. 2014;4(3):1157-75.
60. Eldridge MW, Dempsey JA, Haverkamp HC, Lovering AT, Hokanson JS. Exercise-induced intrapulmonary arteriovenous shunting in healthy humans. *J Appl Physiol* (1985). 2004;97(3):797-805.
61. Arieli R, Marmur A. Dynamics of gas micronuclei formed on a flat hydrophobic surface, the predecessors of decompression bubbles. *Respir Physiol Neurobiol*. 2013;185(3):647-52.
62. Sekhar K, Rao SC. John Scott Haldane: The father of oxygen therapy. *Indian J Anaesth*. 2014;58(3):350-52.
63. Sykes JJ. Medical aspects of scuba diving. *BMJ (Clinical research ed.)*. 1994;308(6942):1483-88.
64. Florian JP, Simmons EE, Chon KH, Faes L, Shykoff BE. Cardiovascular and autonomic responses to physiological stressors before and after six hours of water immersion. *J Appl Physiol* (1985). 2013;115(9):1275-89.
65. Floyd TF, Clark JM, Gelfand R, Detre JA, Ratcliffe S, Guvakov D, i sur. Independent cerebral vasoconstrictive effects of hyperoxia and accompanying arterial hypocapnia at 1 ATA. *J Appl Physiol* (1985). 2003;95(6):2453-61.
66. Harriss DJ, Atkinson G. Ethical Standards in Sport and Exercise Science Research: 2016 Update. *Int J Sports Med*. 2015;36(14):1121-4.
67. Hoksbergen AW, Legemate DA, Ubbink DT, Jacobs MJ. Collateral variations in circle of willis in atherosclerotic population assessed by means of transcranial color-coded duplex ultrasonography. *Stroke*. 2000;31(7):1656-60.
68. Aaslid R, Lindegaard KF, Sorteberg W, Normes H. Cerebral autoregulation dynamics in humans. *Stroke*. 1989;20(1):45-52.
69. Lambertsen CJ, Dough RH, Cooper DY, Emmel GL, Loeschcke HH, Schmidt CF. Oxygen toxicity; effects in man of oxygen inhalation at 1 and 3.5 atmospheres upon blood gas transport, cerebral circulation and cerebral metabolism. *J Appl Physiol*. 1953;5(9):471-86.
70. Ljubkovic M, Dujic Z, Møllerløkken A, Bakovic D, Obad A, Breskovic T, i sur. Venous and arterial bubbles at rest after no-decompression air dives. *Med Sci Sports Exerc*. 2011;43(6):990-5.
71. Ljubkovic M, Zanchi J, Breskovic T, Marinovic J, Lojpur M, Dujic Z. Determinants of arterial gas embolism after scuba diving. *J Appl Physiol* (1985). 2012;112(1):91-5.
72. Lozo M, Madden D, Gunjaca G, Ljubkovic M, Marinovic J, Dujic Z. The impact of consecutive freshwater trimix dives at altitude on human cardiovascular function. *Clin Physiol Funct Imaging*. 2015;35(2):142-9.
73. Madden D, Barak O, Thom SR, Yang M, Bhopale VM, Ljubkovic M, i sur. The impact of pre-dive exercise on repetitive SCUBA diving. *Clin Physiol Funct Imaging*. 2016;36(3):197-205.
74. Madden D, Ljubkovic M, Dujic Z. Intrapulmonary shunt and SCUBA diving: another risk factor? *Echocardiography*. 2015;32 Suppl 3:S205-10.
75. Madden D, Lozo M, Dujic Z, Ljubkovic M. Exercise after SCUBA diving increases the incidence of arterial gas embolism. *J Appl Physiol* (1985). 2013;115(5):716-22.

76. Madden D, Thom SR, Milovanova TN, Yang M, Bhopale VM, Ljubkovic M, i sur. Exercise before scuba diving ameliorates decompression-induced neutrophil activation. *Med Sci Sports Exerc.* 2014;46(10):1928-35.
77. Marczak M, Pokorski M. Oxygen breathing and ventilation. *J Physiol Pharmacol.* 2004;55(1 Pt 1):127-34.
78. Marsden KR, Haykowsky MJ, Smirl JD, Jones H, Nelson MD, Altamirano-Diaz LA, i sur. Aging blunts hyperventilation-induced hypocapnia and reduction in cerebral blood flow velocity during maximal exercise. *Age (Dordr).* 2012;34(3):725-35.
79. Willie CK, Tzeng YC, Fisher JA, Ainslie PN. Integrative regulation of human brain blood flow. *J Physiol.* 2014;592(5):841-59.
80. Obad A, Marinovic J, Ljubkovic M, Breskovic T, Modun D, Boban M, i sur. Successive deep dives impair endothelial function and enhance oxidative stress in man. *Clin Physiol Funct Imaging.* 2010;30(6):432-8.
81. Hilz MJ, Stemper B, Heckmann JG, Neundörfer B. [Mechanisms of cerebral autoregulation, assessment and interpretation by means of transcranial doppler sonography]. *Fortschr Neurol Psychiatr.* 2000;68(9):398-412.
82. Ackerman RH, Zilkha E, Bull JW, Du Boulay GH, Marshall J, Russell RW, i sur. The relationship of the CO₂ reactivity of cerebral vessels to blood pressure and mean resting blood flow. *Neurology.* 1973;23(1):21-6.
83. Aaslid R. Cerebral autoregulation and vasomotor reactivity. *Front Neurol Neurosci.* 2006;21:216-28.
84. Ogoh S, Ainslie PN. Cerebral blood flow during exercise: mechanisms of regulation. *J Appl Physiol (1985).* 2009;107(5):1370-80.
85. Ainslie PN, Smith KJ. Integrated human physiology: breathing, blood pressure and blood flow to the brain. *J Physiol.* 2011;589(Pt 12):2917.
86. Smith KJ, MacLeod D, Willie CK, Lewis NC, Hoiland RL, Ikeda K, i sur. Influence of high altitude on cerebral blood flow and fuel utilization during exercise and recovery. *J Physiol.* 2014;592(24):5507-27.
87. Observations upon the Vascularity of the Human Occipital Lobe during Visual Activity. *Edinb Med J.* 1930;37(2):118.
88. Smith KJ, Wong LE, Eves ND, Koelwyn GJ, Smirl JD, Willie CK, i sur. Regional cerebral blood flow distribution during exercise: influence of oxygen. *Respir Physiol Neurobiol.* 2012;184(1):97-105.
89. Thom SR, Milovanova TN, Bogush M, Bhopale VM, Yang M, Bushmann K, i sur. Microparticle production, neutrophil activation, and intravascular bubbles following open-water SCUBA diving. *J Appl Physiol (1985).* 2012;112(8):1268-78.
90. Heusser K, Dzamonja G, Tank J, Palada I, Valic Z, Bakovic D, i sur. Cardiovascular regulation during apnea in elite divers. *Hypertension.* 2009;53(4):719-24.
91. D'Andrea A, Conte M, Cavallaro M, Scarafile R, Riegler L, Cocchia R, i sur. Transcranial Doppler ultrasonography: From methodology to major clinical applications. *World J Cardiol.* 2016;8(7):383-400.
92. Babikian VL, Feldmann E, Wechsler LR, Newell DW, Gomez CR, Bogdahn U, i sur. Transcranial Doppler ultrasonography: year 2000 update. *J Neuroimaging.* 2000;10(2):101-15.
93. Park CW, Sturzenegger M, Douville CM, Aaslid R, Newell DW. Autoregulatory response and CO₂ reactivity of the basilar artery. *Stroke.* 2003;34(1):34-9.
94. Lambrechts K, Pontier JM, Balestra C, Mazur A, Wang Q, Buzzacott P, i sur. Effect of a single, open-sea, air scuba dive on human micro- and macrovascular function. *Eur J Appl Physiol.* 2013;113(10):2637-45.

95. Senoner T, Dichtl W. Oxidative Stress in Cardiovascular Diseases: Still a Therapeutic Target? *Nutrients*. 2019;11(9):2090.
96. Miller MR, Hankinson J, Brusasco V, Burgos F, Casaburi R, Coates A, i sur. Standardisation of spirometry. *Eur Respir J*. 2005;26(2):319-38.
97. Brubakk AO, Duplancic D, Valic Z, Palada I, Obad A, Bakovic D, i sur. A single air dive reduces arterial endothelial function in man. *J Physiol*. 2005;566(Pt 3):901-6.
98. Obad A, Valic Z, Palada I, Brubakk AO, Modun D, Dujic Z. Antioxidant pretreatment and reduced arterial endothelial dysfunction after diving. *Aviat Space Environ Med*. 2007;78(12):1114-20.
99. Vucinovic Z, Duplancic D, Seselja-Perisin A, Kukoc-Modun L, Gunjaca G, Radman M, i sur. Acute application of antioxidants protects against hyperoxia-induced reduction of plasma nitrite concentration. *Clin Physiol Funct Imaging*. 2015;35(1):76-80.
100. Thom SR, Milovanova TN, Bogush M, Yang M, Bhopale VM, Pollock NW, i sur. Bubbles, microparticles, and neutrophil activation: changes with exercise level and breathing gas during open-water SCUBA diving. 2013;114(10):1396-405.
101. Landmesser U, Harrison DG, Drexler H. Oxidant stress—a major cause of reduced endothelial nitric oxide availability in cardiovascular disease. *Eur J Clin Pharmacol*. 2006;62(1):13-19.
102. Modun D, Krnic M, Vukovic J, Kokic V, Kukoc-Modun L, Tsikas D, i sur. Plasma nitrite concentration decreases after hyperoxia-induced oxidative stress in healthy humans. *Clin Physiol Funct Imaging*. 2012;32(5):404-8.
103. Mayer B, Andrew P. Nitric oxide synthases: catalytic function and progress towards selective inhibition. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 1998;358(1):127-33.
104. Rubanyi GM, Vanhoutte PM. Superoxide anions and hyperoxia inactivate endothelium-derived relaxing factor. 1986;250(5):H822-H27.
105. Gole Y, Gargne O, Coulange M, Steinberg JG, Bouhaddi M, Jammes Y, i sur. Hyperoxia-induced alterations in cardiovascular function and autonomic control during return to normoxic breathing. *Eur J Appl Physiol*. 2011;111(6):937-46.
106. Obad A, Palada I, Valic Z, Ivancev V, Bakovic D, Wisløff U, i sur. The effects of acute oral antioxidants on diving-induced alterations in human cardiovascular function. *J Physiol*. 2007;578(Pt 3):859-70.
107. Thom SR, Yang M, Bhopale VM, Huang S, Milovanova TN. Microparticles initiate decompression-induced neutrophil activation and subsequent vascular injuries. 2011;110(2):340-51.
108. Malik AB. Pulmonary microembolism and lung vascular injury. *Eur Respir J Suppl*. 1990;11:499s-506s.
109. Thom SR, Milovanova TN, Bogush M, Bhopale VM, Yang M, Bushmann K, i sur. Microparticle production, neutrophil activation, and intravascular bubbles following open-water SCUBA diving. 2012;112(8):1268-78.
110. Thom SR, Bennett M, Banham ND, Chin W, Blake DF, Rosen A, i sur. Association of microparticles and neutrophil activation with decompression sickness. 2015;119(5):427-34.
111. Barak OF, Caljkusic K, Madden D, Ainslie PN, Slavic D, Buca A, i sur. Elevations in Intra-cranial blood flow velocities following a SCUBA Dive and the Influence of Post-dive Exercise. *Int J Sports Med*. 2016;37(8):591-7.
112. Wei EP, Christman CW, Kontos HA, Povlishock JT. Effects of oxygen radicals on cerebral arterioles. 1985;248(2):H157-H62.
113. Leffler CW, Busija DW, Armstead WM, Shanklin DR, Mirro R, Thelin O. Activated oxygen and arachidonate effects on newborn cerebral arterioles. 1990;259(4):H1230-H38.

114. Sureda A, Batle JM, Capó X, Martorell M, Córdova A, Tur JA, i sur. Scuba diving induces nitric oxide synthesis and the expression of inflammatory and regulatory genes of the immune response in neutrophils. 2014;46(17):647-54.
115. Sureda A, Batle JM, Ferrer MD, Mestre-Alfaro A, Tur JA, Pons A. Scuba diving activates vascular antioxidant system. *Int J Sports Med.* 2012;33(7):531-6.
116. Madden LA, Christmas BC, Mellor D, Vince RV, Midgley AW, McNaughton LR, i sur. Endothelial function and stress response after simulated dives to 18 msw breathing air or oxygen. *Aviat Space Environ Med.* 2010;81(1):41-5.
117. Blatteau JE, Boussuges A, Gempp E, Pontier JM, Castagna O, Robinet C, i sur. Haemodynamic changes induced by submaximal exercise before a dive and its consequences on bubble formation. *Br J Sports Med.* 2007;41(6):375-9.
118. Boussuges A, Blanc F, Carturan D. Hemodynamic changes induced by recreational scuba diving. *Chest.* 2006;129(5):1337-43.
119. Marinovic J, Ljubkovic M, Obad A, Bakovic D, Breskovic T, Dujic Z. Effects of successive air and trimix dives on human cardiovascular function. *Med Sci Sports Exerc.* 2009;41(12):2207-12.
120. Thomson AJ, Drummond GB, Waring WS, Webb DJ, Maxwell SRJ. Effects of short-term isocapnic hyperoxia and hypoxia on cardiovascular function. 2006;101(3):809-16.
121. Waring WS, Thomson AJ, Adwani SH, Rosseel AJ, Potter JF, Webb DJ, i sur. Cardiovascular effects of acute oxygen administration in healthy adults. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2003;42(2):245-50.
122. G. W. N. Eggers J, Paley HW, Leonard JJ, Warren JV. Hemodynamic responses to oxygen breathing in man. 1962;17(1):75-79.
123. Marinovic J, Ljubkovic M, Obad A, Bakovic D, Breskovic T, Dujic Z. Effects of successive air and trimix dives on human cardiovascular function. *Med Sci Sports Exerc.* 2009;41(12):2207-12.
124. Willie CK, Macleod DB, Shaw AD, Smith KJ, Tzeng YC, Eves ND, i sur. Regional brain blood flow in man during acute changes in arterial blood gases. *J Physiol.* 2012;590(14):3261-75.
125. Ainslie PN, Shaw AD, Smith KJ, Willie CK, Ikeda K, Graham J, i sur. Stability of cerebral metabolism and substrate availability in humans during hypoxia and hyperoxia. *Clin Sci (Lond).* 2014;126(9):661-70.
126. Rubanyi GM, Vanhoutte PM. Superoxide anions and hyperoxia inactivate endothelium-derived relaxing factor. *Am J Physiol.* 1986;250(5 Pt 2):H822-7.
127. Marczak M, Pokorski M. Oxygen breathing and ventilation. *Journal of physiology and pharmacology : an official journal of the Polish Physiological Society.* 2004;55(1 Pt 1):127-34.
128. Kety SS, Schmidt CF. THE EFFECTS OF ALTERED ARTERIAL TENSIONS OF CARBON DIOXIDE AND OXYGEN ON CEREBRAL BLOOD FLOW AND CEREBRAL OXYGEN CONSUMPTION OF NORMAL YOUNG MEN. *J Clin Invest.* 1948;27(4):484-92.
129. Marsden KR, Haykowsky MJ, Smirl JD, Jones H, Nelson MD, Altamirano-Diaz LA, i sur. Aging blunts hyperventilation-induced hypocapnia and reduction in cerebral blood flow velocity during maximal exercise. *Age (Dordrecht, Netherlands).* 2012;34(3):725-35.
130. Sato K, Ogoh S, Hirasawa A, Oue A, Sadamoto T. The distribution of blood flow in the carotid and vertebral arteries during dynamic exercise in humans. *J Physiol.* 2011;589(Pt 11):2847-56.

8. SAŽETAK

Cilj disertacije: Svrha ovog istraživanja bila je ispitati mogu li se vaskularne promjene u perifernoj i cerebralnoj cirkulaciji izazvane ronjenjem spriječiti oralnim dodavanjem antioksidansa. Nadalje, ispitali smo hipotezu da će promijenjeni hemodinamski parametri nakon zarona SCUBA dovesti do promjena cerebralnog protoka krvi u mirovanju i tijekom vježbanja.

Materijali i metode: Ovo kliničko istraživanje provedeno je u Zavodu za integrativnu fiziologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu. U prvoj fazi istraživanja, 14 ronioaca izvelo je jedno podvodno ronjenje na 18-metarskoj morskoj dubini tijekom 47 minuta. 12 ronioaca sudjelovalo je u naknadnom istraživanju koja je uključivalo udisanje 60% kisika pod atmosferskim tlakom tijekom 47 minuta. Prije oba istraživanja sudionici su 6 dana unosili vitamin C (2 g/dan) ili placebo. Nakon 2 tjedna ispiranja, studija je ponovljena s različitim stanjima. Vazodilatacija ovisna o endotelu brahijalne arterije procijenjena je prije i nakon intervencije pomoću tehnike dilatacije posredovane protokom (FMD). U drugoj fazi istraživanja, 16 ronioaca izvršilo je jedan zaron na 18-metarskoj morskoj dubini tijekom 47 minuta. Nadzorna laboratorijska mjerenja provedena su tjedan dana kasnije. Transkranijalni Doppler ultrazvuk korišten je za mjerenje intrakranijskih brzina krvi.

Rezultati: FMD je smanjen za ~32,8% i ~21,2% nakon zarona u ispitivanju s placebom i vitaminom C, a posthiperoksično stanje u ispitivanju s placebom za ~28,2% ($P < 0,05$). Ovo smanjenje FMD-a umanjeno je za ~10% nakon dodavanja vitamina C u hiperoksičnoj studiji ($P > 0,05$). Povišenje brzine intrakranijalne krvi 30 minuta nakon izranjanja na površinu od ronjenja smanjeno je u studiji s vitaminom C u usporedbi s ispitivanjem placeba ($P < 0,05$). Disanje O_2 nije imalo postintervencijskih učinaka na intrakranijalne brzine ($P > 0,05$). Profilaktičko uzimanje vitamina C učinkovito je poništilo perifernu vaskularnu disfunkciju nakon izlaganja 60% O_2 , ali nije ukinulo smanjenje FMD-a nakon post-zarona. Prolazna povišenja intrakranijalnih brzina nakon zarona smanjena su vitaminom C. Nakon zarona u mirovanju, srednja brzina cerebralne arterije (MCAv) povišena je 15 i 30 minuta nakon izranjanja (za $3,3 \pm 5,8$, odnosno $4,0 \pm 6,9$ cm/s; $P < 0,05$); brzina stražnje cerebralne arterije (PCAv) povećana je 30 minuta nakon izranjanja (za $3,0 \pm 4,5$ cm/s; $P < 0,05$). Tijekom vježbanja nakon ronjenja, MCAv i PCAv povećali su se na 150 W, nakon čega je uslijedio pad prema početnoj liniji na 180 W ($P < 0,05$). Nismo pronašli razliku u CBV tijekom vježbanja između terenskih i laboratorijskih studija ($P < 0,05$).

Zaključci: Ova otkrića ističu diferencijalni utjecaj vitamina C na perifernu i cerebralnu cirkulaciju nakon ronjenja, koji su samo djelomično posredovani hiperoksijom. Također, novo otkriće ove studije jest prolazno povišenje intrakranijalnih brzina u mirovanju unutar 30 minuta nakon SCUBA ronjenja.

9. SUMMARY

Doctoral thesis title: The effect of diving on cerebral blood flow: interaction with post-dive exercise and hyperoxia.

Objectives: The aim of this study was to examine if the diving-induced vascular changes in the peripheral and cerebral circulation could be prevented by oral antioxidant supplementation. Furthermore, we examined the hypothesis that the altered hemodynamic parameters following a SCUBA dive will lead to differential changes in CBF at rest and during exercise.

Materials and methods: This study was conducted in Department of Physiology, University of Split School of Medicine. In the first study phase, 14 divers performed a single scuba dive to 18-meter sea water for 47 min. 12 divers participated in a follow-up study involving breathing 60% of oxygen at ambient pressure for 47 min. Before both studies, participants ingested vitamin C (2 g/day) or a placebo capsule for 6 days. After a 2-wk washout, the study was repeated with the different condition. Endothelium-dependent vasodilator function of the brachial artery was assessed pre- and postintervention using the flow-mediated dilation (FMD) technique. In the second study phase, 16 divers completed a single dive at a depth of 18-meter sea water with a 47-min bottom time. A follow-up laboratory based study was conducted 1-week later. Transcranial Doppler ultrasound was used to measure intracranial blood velocities.

Results: FMD was reduced by ~32.8% and ~21.2% postdive in the placebo and vitamin C trial and posthyperoxic condition in the placebo trial by ~28.2% ($P < 0.05$). This reduction in FMD was attenuated by ~10% following vitamin C supplementation in the hyperoxic study ($P > 0.05$). Elevations in intracranial blood velocities 30 min after surfacing from diving were reduced in the vitamin C study compared with the placebo trial ($P < 0.05$). O₂ breathing had no postintervention effects on intracranial velocities ($P > 0.05$). Prophylactic ingestion of vitamin C effectively abrogated peripheral vascular dysfunction following exposure to 60% O₂ but did not abolish the postdive decrease in FMD. Transient elevations of intracranial velocities postdive were reduced by vitamin C. Following the dive at rest, middle cerebral artery velocity (MCAv) was elevated 15 and 30 min after surfacing (by 3.3 ± 5.8 and 4.0 ± 6.9 cm/s, respectively; $P < 0.05$); posterior cerebral artery velocity (PCAv) was increased at 30 min after surfacing (by 3.0 ± 4.5 cm/s; $P < 0.05$). During exercise following the dive, both MCAv and PCAv increased up to 150W followed by a decrease towards baseline at 180W ($P < 0.05$). We found no difference in CBV during exercise between field and laboratory studies ($P < 0.05$).

Conclusions: These findings highlight the differential influence of vitamin C on peripheral and cerebral circulations following scuba diving, which are only partly mediated via hyperoxia. Also, the novel finding of this study is the transient elevation in resting intra-cranial velocities within 30 min following a SCUBA dive.

10. ŽIVOTOPIS

OSOBNI PODATCI

Ime i prezime: *Krešimir Čaljkusić*

Datum i mjesto rođenja: *16. svibnja 1971. Split*

Državljanstvo: *Hrvatsko*

Adresa stanovanja: *Split, Vinogradska 40*

Telefon: *+385 98 423 865*

E-adresa (1): *kresimir.cajkusic@gmail.com*

E-adresa (2): *kcaljkusic@kbsplit.hr*

OBRAZOVANJE

- 1977.-1985. OŠ Veljko Vlahović, OŠ Ranko Orlić Split
- 1985.-1989. Srednja Kemijska škola Split, kemijski tehničar
- 1989.-1996. Medicinski fakultet u Zagrebu-Studij u Splitu (doktor medicine)
- 1996.-1998. pripravnički staž, KBC Split, Dom zdravlja Split.
- 1999. položen Državni ispit-liječnik
- 2004.-2005. Medicinski fakultet u Splitu- Poslijediplomski studij Temeljne i kliničke medicinske znanosti
- 2007.-2010. KBC Split- Klinika za neurologiju-specijalizacija iz neurologije i poslijediplomski specijalistički studij Klinička neurologija
- 6.12.2010. položen specijalistički ispit-specijalist neurolog
- 18.4.2013. obrana magistarskog rada-„Prevenција i liječenje postpunkcijske glavobolje peroralnom primjenom teofilina“
- Od lipnja 2014.-srpnja 2016. subspecijalizacija iz Intenzivne medicine- subspecijalistiki ispit položen 18.11.2016.
- 2015. III godina Doktorskog studija Klinička medicina utemeljena na dokazima

ZNANJA I VJEŠTINE

- Obojeni dopler ekstrakranijske moždane cirkulacije
- Dopler sonografija intrakranijske cirkulacije
- Primjena transkranijuskog doplera u dijagnostici moždane smrti

- „Advanced international training course in transplant procurement management“
Barcelona 21-25.10.2019

OSTALE AKTIVNOSTI

A. Napredovanje i položaj u zaposlenju

- 1997-2000.g liječnik vaterpolo kluba POŠK (Slobodna Dalmacija, Splitska banka-prvaci Europe 1999)
- 2000.g Liječnik Hrvatske juniorske košarkaške reprezentacije (pripreme u Francuskoj i Italiji, Prvenstvo Europe u Zadru)
- 2000.g liječnik u DZ Korenica
- 2000.g. liječnik u ordinaciji obiteljske medicine u Splitu
- 2001-2006 Stručni suradnik farmaceutske tvrtke Hoffman La Roche
- 2007-2010 specijalizant neurologije
- 2010-specijalist neurolog u Klinici za neurologiju KBC Split
- 2016-subspecijalist intenzivne medicine
- 11/2018- Voditelj Odjela za neurološku intenzivnu skrb pri Zavodu za vaskularnu neurologiju i intenzivno liječenje Klinike za neurologiju KBC Split

B. Obavljanje raznih stručnih i društvenih funkcija

- Član Hrvatske liječničke komore
- Član Hrvatskog neurološkog društva pri Hrvatskom liječničkom zboru
- Član sekcije intenzivne neurologije pri Hrvatskom neurološkom društvu HLZ-a
- Pomoćnik transplantacijskog koordinatora KBC Split

C. Znanstvena aktivnost

1. Bilić I, Dzamonja G, Lusic I, Matijaca M, Caljkusic K. Risk factors and outcome differences between ischemic and hemorrhagic stroke. Acta Clin Croat.2009 Sep;48(4):399.403
1. Bozic I, Cvitkovic I, Carevic V, Caljkusic K, Trgo G, Fabijanic D. Thromboembolic and bleeding risk assessment in patients with non-rheumatic atrial fibrillation using CHA2DS2-VASc and HAS-BLED scoring systems. Liječ Vjesn. 2013 Mar. Apr; 135(3-4):88-91
2. Božić I, Čapkun V, Božić D, Karabuva S, Čaljkusić K, Trgo G. Anticoagulant therapy in patients with permanent atrial fibrillation - evidence based medicine and clinical practice. Liječ Vjesn vol.135 No.5-6 Lipanj 2013.

3. Cvitkovic I, Bozic I, Carevic V, Caljkusic K, Marovic A. Thromboprophylaxis in patients with nonvalvular atrial fibrillation admitted in university hospital split, croatia, due to the ischaemic stroke in relation to thromboembolic and bleeding risk. *Acta Med Croatica* 2015.
2. Lovering AT, Lozo M, Barak O, Davis JT, Lojpur M, Lozo P, Caljkusic K, Dujic Z. Resting arterial hypoxaemia in subjects with chronic heart failure, pulmonary hypertension and patent foramen ovale. *Exp Physiol* 2016 May 1;101(5):657-70
4. Barak OF, Caljkusic K, Madden D, Ainslie PN, Slavic D, Buca A, Dujic Z. Elevations in Intra-cranial blood flow velocities following a SCUBA Dive and the Influence of Post-dive Exercise. *Int J Sports Med.* 2016 Jul;37(8):591-7.
5. Romac R, Barak O, Glavas D, Susilovic Grabovac Z, Lozo P, Roje I, Caljkusic K, Drmic-Hofman I, Davis JT, Dujic Z, Lovering AT. Characterization of blood flow through intrapulmonary arteriovenous anastomoses and patent foramen ovale at rest and during exercise in stroke and transient ischemic attack patients. *Echocardiography.* 2017 May;34(5):676-682
6. Barak OF, Caljkusic K, Hoiland RL, Ainslie PN, Thom SR, Yang M, Jovanov P, Dujic Z. Differential influence of vitamin C on the peripheral and cerebral circulation after diving and exposure to hyperoxia. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2018 Oct 1;315(4):R759-R767. doi: 10.1152/ajpregu.00412.2017. Epub 2018 Jul 11.
7. Stula I, Novak K, Caljkusic K, Batinic T. Two cases of rare basilar hypoplasia. *J Med Imaging Radiat Sci* 2015 Mar;46(1):113-117.
8. Filipovic GP, Matijaca M, Bilic I, Dzamonja G, Lusic I, Caljkusic K, Capkun V. Correlation analysis of visual analogue scale and measures of walking ability in multiple sclerosis patients. *Acta Neurol Belg* 2013 Dec;113(4):397-402.

D. Područje interesa

- intenzivna neurologija
- cerebrovaskularne bolesti

E. Nagrade i priznanja

- 1999. Red Hrvatskog trolista