Utjecaj ronjenja na komprimirani zrak i primjene vitamina C i E na izabrane funkcije ljudskog srca i endotelnu funkciju nadlaktične arterije

Obad, Ante

Doctoral thesis / Disertacija

2009

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

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:105:051243

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-08-07**

Repository / Repozitorij:

Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET

Ante Obad

Utjecaj ronjenja na komprimirani zrak i primjene vitamina C i E na izabrane funkcije ljudskog srca i endotelnu funkciju nadlaktične arterije

DISERTACIJA

Zagreb, 2009.

Disertacija je izrađena na Katedri za fiziologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu

Voditelj laboratorija: prof. dr. sc. Željko Dujić
Mentor: prof. dr. sc. Zoran Valić

Zahvaljujem mentoru i kolegama na pomoći i podršci.

Disertaciju posvećujem svojoj obitelji - supruzi Fani i kćeri Petri, te ocu, majci i braći

SADRŽAJ

2. POPIS NAJČEŠĆE KORIŠTENIH SKRAĆENICA 6
3. UVOD 7
3.1. Općenito o ronjenju 7
3.1.1. Ronilačka oprema 8
3.1.2 Fizika ronjenja 8
3.2. Utjecaj ronjenja na komprimirani zrak na pojavu mjehurića inertnog plina u venskoj cirkulaciji, te na arterijski tlak i krvožilni otpor u plućnoj arteriji 8
3.2.1. Utjecaj ronjenja na komprimirani zrak na fiziološki stres organizma 11
3.3. Ronjenje i utjecaj antioksidansa na funkciju srca i endotela krvnih žila 11
3.4. Ciljevi istraživanja 14
4. ISPITANICI I METODE 16
4.1. Ispitanici i etičnost postupka 16
4.2. Metode 16
4.3. Protokoli svojstveni pojedinim studijama 18
4.3.1 Učinak ronjenja na odabrane parametre funkcije desnog srca, PAP i PVR 18
4.3.2. Učinci akutne primjene antioksidantnih vitamina na odabrane parametre funkcije srca i endotela krvnih žila u ljudi tijekom zarona 21
4.3.3. Utjecaj primjene vitamina C i E u razdoblju od četiri tjedna na edotelnu funkciju krvnih žila tijekom ronjenja.....25
4.3.4. Prikaz slučaja intrapulmonalnog skretanja (shunting) venskih plinskih mjehurića za vrijeme tjelovježbe nakon zarona na komprimirani zrak.....28
5. REZULTATI.....29
5.1. Utjecaj ronjenja na komprimirani zrak na pojavu mjehurića inertnog plina u venskoj cirkulaciji, na arterijski tlak i krvožilni otpor u plućnoj arteriji, te na volumene i sistoličku funkciju desnog srca 29

5.2. Učinci akutne primjene antioksidantnih vitamina na odabrane parametre funkcije srca i endotela krvnih žila u ljudi tijekom zarona 35
6. RASPRAVA 50
6.1. Utjecaj ronjenja na komprimirani zrak na pojavu mjehurića inertnog plina u venskoj cirkulaciji, na vrijednosti arterijskog tlaka i krvožilnog otpora u plućnoj arteriji, te na funkciju desnog srca 50
6.1.1. Mehanizmi povećanja sistoličke i srednje vrijednosti krvnog tlaka.....50
6.2. Učinci antioksidanata na funkciju srca i endotela krvnih žila u ljudi tijekom zarona na komprimirani zrak 53
6.2.1. Endotelna funkcija nadlaktične arterije.....53
6.2.2. Tlak plućne arterije.....55
6.2.3. Srčana funkcija kod zarona na komprimirani zrak.....56
6.3. Utjecaj primjene vitamina C i E u razdoblju od četiri tjedna na endotelnu funkciju krvnih žila tijekom ronjenja s komprimiranim zrakom 58
6.4. Prikaz slučaja intrapulmonalnog skretanja (shunting) venskih plinskih mjehurića za vrijeme tjelovježbe nakon zarona na komprimirani zrak.....63
7. ZAKLJUČCI.....65
8. SAŽETAK 67
8.1. Utjecaj ronjenja na komprimirani zrak na pojavu mjehurića inertnog plina u venskoj cirkulaciji, te na arterijski tlak i krvožilni otpor u plućnoj arteriji 67
8.2. Učinci antioksidanata na funkciju srca i endotela krvnih žila u ljudi tijekom zarona s komprimiranim zrakom 68
8.3. Utjecaj primjene vitamina C i E uz razdoblju od četiri tjedna na endotelnu funkciju krvnih žila tijekom ronjenja s komprimiranim zrakom 69
8.4. Prikaz slučaja intrapulmonalnog skretanja (shunting) venskih plinskih mjehurića za vrijeme tjelovježbe nakon zarona na komprimirani zrak 69

9. SUMMARY 70
9.1 A single open sea air dive increases pulmonary artery pressure and reduces right ventricular function in professional divers 70
9.2 The effects of acute oral antioxidants on diving-induced alterations in human cardiovascular function 70
9.3 Antioxidant pretreatment and reduced arterial endothelial dysfunction after diving.....71
9.4 Detection of intra-pulmonary shunting of venous gas bubbles by sonography during exercise after diving in a professional diver.....72
10. POPIS LITERATURE 73
11. ŽIVOTOPIS.....83

2. POPIS NAJČEŠĆE KORIŠTENIH SKRAĆENICA

Acct	–	vremenski interval između početka i vršne brzine protoka krvi preko zaliska plućne arterije (engl. Acceleration time)
CO	–	srčani minutni volumen (engl. Cardiac Output)
DCS	–	dekompresijska bolest (engl. Decompression Sickness)
EDRF Factor(s)	–	opuštajući čimbenici endotelnog podrijetla (engl. Endothelium Derived Relaxing
EKG	–	elektrokardiogram
FMD	–	dilatacija posredovana protokom (engl. Flow Mediated Vasodilatation)
IP	–	unutarplućni (engl. IntraPulmonary)
IVS	–	intraventrikulski septum (engl. Intraventricular Septum)
LVPW	–	stražnja stijenka lijeve klijtke (engl. left Ventricle Posterior Wall)
LVIDd i LVIDs	–	unutarnji promjeri lijeve klijetke na kraju sistole i dijastole (engl. left Ventricle Internal diametes in diastole/systole)
LV-EDV	–	volumen lijeve klijetke na kraju dijastole (engl. Left Ventricle End -Diastolic Volume)
LV-ESV	–	volumen lijeve klijetke na kraju sistole (engl. Left Ventricle End- Systolic Volume)
LVEF	–	ejekcijska frakcija lijeve klijetke (engl. Left Ventricle Ejection Fraction)
MBV	–	srednja brzina protoka krvi (engl. Mean Blood Velocity)
PA	–	plućna arterija (engl. Pulmonary Artery)
PAP	–	plućni arterijski tlak (engl. Pulmonary Artery Pressure)
PFO	–	otvoreni foramen ovale (engl. Patent Foramen Ovale)
PVR	–	plućni krvožilni otpor (engl. Pulmonary Vascular Resistance)
ROS i RNS	–	reaktivni oblici molekula kisika i dušika (engl. Reactive Oxygen and Nitrogen Species)
RV-EDV	–	volumen desne klijetke na kraju dijastole (engl. Right Ventricle End-Diastolic Volume)
RV-ESV	–	volumen desne klijetke na kraju sistole (engl. Right Ventricle End - Systolic Volume)
RVEF	–	ejekcijska frakcija desne klijetke (engl. Right Ventricle Ejection Fraction)
RVET	–	remenski interval između početka i kraja sistoličkog protoka krvi preko zaliska plućne arterije (engl. Right Ventricular Ejection Time)
SV	–	udarni volumen (engl. Stroke Volume)
UZV	–	ultrazvuk
VO_{2MAX}	–	maksimalni primitak kisika (engl. Volume per time, Oxygen, maximum)
VTI	–	vremenski integral brzine (engl. Velocity Time Integral)

3. UVOD

3.1. Općenito o ronjenju

Zainteresiranost ljudi za more, a osobito podmorje oduvijek je bila velika. U mnogo povijesnih dokumenata opisuju se aktivnosti ljudi vezanih uz more, a među njima tema ronjenja zauzima važno mjesto. Daleka je povijest ronjenja isključivo vezana za ronjenje na dah, dok je od kraja 19. stoljeća ronjenje vezano i uz različite postupke dostavljanja zraka tijekom ronjenja neophodne za produženje vremena i dubine ronjenja. U današnje vrijeme jedan od najčešćih način ronjenja je ronjenje s bocama na komprimirani zrak (engl. «SCUBA» ronjenje). Engleski naziv SCUBA je skraćenica od Self-Contained Underwater Breathing Apparatus, ili u prijevodu kompletna oprema za disanje pod vodom. Prvi su je uveli Jacques Cousteau i Emile Gagnon 1943. godine. U početku se skuba ponajprije rabila u mornarici i u druge profesionalne svrhe, kao što je izranjavanje bisera. Međutim, zadnjih 20-30 godina sve učestalije je ronjenje u rekreacijske svrhe. Oprema za ronjenje na komprimirani zrak zadnjih petnaestak godina je sve dostupnija, što uz iskonsku zainteresiranost ljudi za ronjenje rezultira sve većim brojem rekreacijskih i profesionalnih ronilaca, uz značajno povećanje broja zarona na komprimirani zrak, odnosno ukupnog vremena koji ljudi provedu roneći. Podatci dostupni zadnjih nekoliko godina sugeriraju kako je ronjenje s bocama ispunjenim komprimiranim zrakom jedna od najpopularnijih aktivnosti u slobodno vrijeme. U Sjedinjenim Američkim Državama broj registriranih ronilaca prelazi 9 milijuna (prema podacima iz organizacije DAN – Divers Alert Network, http://www.dan.org/), a također je sve širi dobni raspon, sve veći broj žena, te ljudi graničnih psihofizičkih sposobnosti uključenih u takve aktivnosti. U prošlosti su se ronjenjem obično bavili profesionalci, s određenom fizičkom spremnošću, te određenom edukacijom o tehnici i mogućim komplikacijama ronjenja. Danas se često susrećemo s fizički nepripremljenim i slabo educiranim rekreacijskim roniocima s isključivo sezonskim iskustvom u ronjenju, što može uzrokovati i specifične komplikacije tijekom ronjenja ponekad sa smrtnim ishodom.

3.1.1. Ronilačka oprema

Ronjenje s komprimiranim zrakom zahtijeva specijaliziranu opremu koja omogućuje disanje pod vodom. Najvažniji dio opreme je sistem koji se sastoji od spremnika pod tlakom (čeličnog ili aluminijskog), koji se obično nosi na leđima. Regulator omogućuje da ronilac dobiva zrak uz isti tlak kao što je onaj u vanjskoj okolini. 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 su uključeni u džepove kompenzacijske naprave za plutanje koji se mogu brzo isprazniti. S obzirom na toplinska svojstva vode, za smanjenje gubitka topline tijekom ronjenja rabi se mokro ili suho odijelo. U mnogim se situacijama nose i rukavice i čizme, obično izrađene od neoprena. Kao što se može zamisliti, kada je ronilac potpuno pripremljen, mišićno skeletni sustav je pod znatnim stresom i prije no što ronilac uđe u vodu.

3.1.2 Fizika ronjenja

Ronjenje na komprimirani zrak sastoji se od udisanja zraka (mješavina različitih plinova, najčešće kisika i dušika) na različitim dubinama zarona. Plin se ponaša prema zakonima fizike na određenim dubinama zarona, što ovisi o tlaku okoliša kojemu je plin izložen. Kako ronilac ide dublje, vanjski se tlak povećava. Na razini mora tlak iznosi jednu atmosferu, a povećava se za svakih deset metara ispod razine mora, tako da na 10 metara tlak iznosi 2 atmosfere (tj. podvostručen je), na 20 metara iznosi 3 atmosfere itd.

3.2. Utjecaj ronjenja na komprimirani zrak na pojavu mjehurića inertnog plina u venskoj cirkulaciji, te na arterijski tlak i krvožilni otpor u plućnoj arteriji

Skuba ronjenje uvodi nas u strani svijet, svijet koji nije zamišljen da se u njemu živi. Ronioci su izloženi uvjetima okoliša koji se ne nalaze u drugim aktivnostima, a uključuju povećani tlak okoline, povećani parcijalni tlak kisika i povećani otpor

disanju, povećani otpor kretanju, dodatnu težinu i pritisak ronilačke opreme, te stres uzrokovan hladnoćom. To je razlog da postoje različiti učinci okoliša koji se javljaju kada uđemo u vodu. Disanje kroz skuba opremu povećava otpor disanju; to može povećati radno opterećenje respiracijskog sustava. Prilagođujuća reakcija na stres izazvan dodatnim otporom disanju je pokušaj smanjivanja minutne ventilacije (VE). Niži VE uz zadani VO2 znači da se poboljšala učinkovitost disanja (1) Tijekom zarona, temperatura na dubini zarona je u pravilu niža nego temperatura na površini. Reguliranje temperature je u pravilu otežano, te je neophodna odgovarajuća odjeća za izlaganje takvim temperaturama. Doubt (1) izvještava da uranjanje u hladnu vodu može izazvati hiperventilaciju koja normalno prestaje unutar nekoliko minuta. Za vrijeme uranjanja u hladnu vodu dolazi do povećanja aktivnosti simpatičkog živčanog sustava što uzrokuje povećanje frekvencije srca. Također kao posljedica zaranjanja srce mora raditi više zbog povećanja perifernog otpora (1-3). Od drugih čimbenika koji povećavaju rizik zastoja srca u ronilaca je i ronilački refleks. Prisutan je u sisavaca, kao što su npr. kitovi, da ih osposobi za ronjenje u dubini u duljim razdobljima; u manjem je opsegu prisutan i u ljudi.

Kod rekreativnih ronilaca trenutno najozbiljniji problem vezan za ronjenje je oštećenje neurološkog sustava kao posljedica dekompresijske bolesti (engl. Decompression Sickness, DCS). Dekompresijska bolest bila je problem s kojim su se susretali ronioci već od 19. stoljeća.

Bila je najveći ubojica profesionalnih ronilaca. Na primjer, ronioci bisera iz Broome (zapadna Australija) rijetko su doživjeli više od 40 godina zbog razornih učinaka te bolesti. Početkom 20. stoljeća dr. J.S. Haldane je u cilju rješavanja toga problema matematički priredio dekompresijske tablice (2,3). Istraživanja se u tom području još uvijek nastavljaju, te se danas zna mnogo više o tom problemu, a uz pojavu tablica ronjenja i rekompresijskih komora, broj ronilačih smrti se smanjio. DCS nije jedinstveni entitet već skup simptoma koji su uzrokovani pojavom mjehurića inertnog plina (dušika kod ronjenja na zrak) unutar krvotoka. Postoji više teorija koje pokušavaju objasniti mehanizam i mjesto nastanka mjehurića plina koji se javljaju pri naglom padu tlaka okoline. Tijekom zarona dolazi do otapanja dodatnih količina plinova (N2, He) u tjelesnim tekućinama i tkivima, koje postižu stanje prezasićenosti.

Ako dođe do pada tlaka izvan tijela (kao pri izronu, u avionu ili tijekom leta u svemir) otopljeni plin prelazi u plinovito stanje što se najčešće očituje pojavom mjehurića u venskoj krvi, desnoj strani srca, u plućnoj cirkulaciji i dalje u krvotoku. Venski plinski mjehurići, kada se pojavljuju bez izraženih kliničkih znakova DCS, nazivaju su „tihim mjehurićima“ (4). Iako su „tihi mjehurići“ asimptomatski, prisustvo mnoštva mjehurića plina u venskoj cirkulaciji jasno je povezano s visokim rizikom nastanka DCS (5).

Prethodno je utvrđeno kako venski plinski mjehurići uzrokuju smanjenje endotelne funkcije svinjske plućne arterije (6), te da prisustvo malog broja venskih plinskih mjehurića može smanjiti endotelnu funkciju arterija zečeva (7). Kako su venski plinski mjehurići nakon zarona bili prisutni u venskoj, odnosno plućnom dijelu cirkulacije, smatralo se kako nemaju utjecaja na arterijsku stranu krvotoka. Nadalje se smatra da je protjecanje krvi iz desne u lijevu stranu srca (desno-lijevi šant), koje je moguće u prisutnosti otvorenog foramena ovale (engl. Patent Foramen Ovale, PFO), neophodno kako bi mjehurići utjecali na sistemske arterije. Neki su autori (8) prikazali vezu između prisutnosti PFO-a i učestalosti neurološkog oblika DCS. Drugi razlog prolaska venskih plinskih mjehurića, koji se također pokazao mogućim, je postojanje anatomskog unutarplućnog (engl. Intra-Pulmonary, I-P) šanta. Eldridge je sa suradnicima (9) pokazao kako tjelovježba pogoduje prolasku ultrazvučnog kontrasta (uobičajeno sastavljenog od malih plinskih mjehurića), te dopušta prolazak kontrasta kroz plućni krvotok i ulazak u arterijsku cirkulaciju u ispitanika bez PFO.

Utjecaj venskih plinskih mjehurića na plućnu cirkulaciju, osobito na vrijednosti tlaka i otpora u plućnoj arteriji (PAP i PVR) dosada su istraživane na nekoliko životinjskih i ljudskih modela prilikom simuliranog zarona u hiperbaričnoj komori (23). Porast PVR nakon simuliranog zarona u hiperbaričnoj komori može dovesti do porasta tlaka u desnom dijelu srca, što može prouzrokovati obrat u gradijentu normalnog transseptalnog tlaka, te na taj način povećati vjerojatnost prolaska venskih plinskih mjehurića iz desnog u lijevo srce, što također povećava vjerojatnost arterijske plinske embolije. Ostali postupci koji mogu poticati desno-lijevi šant mjehurića su sva ona stanja koja dovode do pojačanog priliva venskih plinskih mjehurića u desno srce, kao što je kašljanje i Valsalvin manevar (10). Dosadašnja istraživanja kod ljudi

kontradiktorna su onima na životinjama, naime istraživanja na životinjskom modelu ukazuju na povećanje razine PAP (11,12).

3.2.1. Utjecaj ronjenja na komprimirani zrak na fiziološki stres organizma

Fiziološki stres kojem je izložen ljudski organizam prilikom ronjenja u moru, u usporedbi s istim u hiperbaričnoj komori, veći je zbog čimbenika kao što su uranjanje, tjelesna aktivnost tijekom zarona, snižene temperature mora na većim dubinama i sl. Nedavna istraživanja u našem laboratoriju pokazala su kako jedan zaron u moru uzrokuje reverzibilni negativni učinak na respiracijske funkcije, te dovodi do smanjenja srčanog minutnog volumena (13). Marabotti i sur. (14) također su potvrdili da je rekreativno ronjenje na komprimirani zrak povezano s promjenama srčanih funkcija dva sata nakon izrona, navodeći za posljedicu preopterećenje desnog srca, te poremećaj dijastoličke funkcije obje klijetke. Uočava se da postoji mnogo okolišnih učinaka na tijelo koji se javljaju ulaskom u vodu. Oprema za skuba ronjenje omogućuje roniocima da uđu u taj svijet relativno lako. Međutim, podvodni okoliš, uz to što je prekrasan i jedinstven, može biti štetan ili smrtonosan za ronioce. Prilikom zarona može vrlo brzo doći do gubitka topline, što uz druge učinke, kao što su povećanje minutne ventilacije, smanjenje frekvencije srca i rizik od aritmija, uz smanjenje periferne cirkulacije i povećanje perifernog otpora može dovesti do smrtnog ishoda.

3.3. Ronjenje i utjecaj antioksidansa na funkciju srca i endotela krvnih žila Vazodilatacija posredovana protokom

Istraživanja vezana uz povećanje promjera krvnih žila (vazodilatacija) nakon što se kroz njih propusti krv ili fiziološka otopina intenziviraju se početkom osamdesetih godina prošlog stoljeća (15;16). 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 narav te/tih tvari bila nepoznata te ih se nazivalo zbirnim imenom opuštajući

čimbenici endotelnog podrijetla (od eng. EDRF - Endothelium Derived Relaxing Factor(s)). Međutim, već 1987. dva nezavisna istraživanja potvrđuju kako je dušikov oksid (NO) najvažniji medijator protokom posredovane vazodilatacije (17;18). Nešto kasnije potvrđuje se kako je NO aktivan čimbenik i u vazodilataciji posredovanoj protokom intaktne nadlaktične arterije ljudi. Nakon tog zapažanja razvijaju se postupci kako bi se što preciznije neinvazivno procijenila protokom posredovana vazodilatacija u ljudi (19-22). Ti su postupci važni zbog toga što se primijetilo da kod različitih patoloških stanja kardiovaskularnog sustava (npr. ateroskleroza, hipertenzija, infarkt miokarda) dolazi do promjena u veličini vazodilatacije posredovane protokom. Štoviše, zapaženo je kako smanjenje protokom posredovane vazodilatacije prethodi klinički vidljivim znakovima bolesti te je ukazano kako provođenje takvog testiranja može dovesti do selekcije bolesnika pod jače izraženim rizikom. Dostupnost ultrazvučnih uređaja omogućilo je široku primjenu testiranja dilatacije posredovane protokom, ali se sve više ukazuje i na njezinu nekritičnu primjenu. Treba naglasiti da su promjene promjera nadlaktične arterije relativno male i iznose do 0.5%.

U novije se vrijeme predlažu modifikacije samoga postupka testiranja, te se u procjenu uključuje površina ispod krivulje protoka, različiti držači, standardiziranje trajanja okluzije, mrak u prostoriji i sl. kako bi se dobilo što objektivnije pokazatelje endotelne funkcije. U našim smo istraživanjima nastojali mjerenja učiniti što objektivnijim. Sva je mjerenja obavio isti istraživač. Mjerenja promjera i protoka rađena su istodobno i snimke su pohranjene na računalo ultrazvuka radi kasnije provjere i računanja.

Kao što je već spomenuto, tijekom ronjenja na komprimirani zrak ronioci su izloženi različitim oblicima stresa koji mogu djelovati na hemodinamiku i kardiovaskularnu funkciju, kao što je povećanje volumena desne i lijeve klijetke pri kraju dijastole izazvano centralizacijom krvi prema središnjem kardiopulmonalnom području tijekom zarona, hladnoćom izazvano povećanje naknadnog opterećenja (engl. afterload), smanjeno punjenje lijevog srca zbog udisanja plinskih mješavina visoke gustoće, hiperoksija, stvaranje venskih plinskih mjehurića, stres zbog opterećenja i psihološki stres. Naša je istraživačka skupina kroz ranija istraživanja pokazala kako simulirano ronjenje u hiperbaričnoj komori izaziva disfunkciju

arterijskog endotela, a ne dovodi do promjena u PAP (23). Endotelna funkcija nakon ronjenja može biti promijenjena i u srcu, a to bi moglo biti odgovorno za zamijećeno smanjenje srčane funkcije (24). Zaronjavanje dovodi do povećanja intratorakalnog volumena krvi pa se volumenu srca s povećanjem svih četiriju klijetki dodaje 180-240 mL krvi (25). U zdravih ispitanika nakon uranjanja do vrata centralizacijom protoka udarni se volumen povećava za oko 50% (26), što uzrokuje značajno povećanje volumena desne klijetke i PAP-a, pa čak može uzrokovati i edem pluća (27). Prema tome, uranjanje i hiperoksija s dodatnim stvaranjem plinskih mjehurića uzrokovanih padom tlaka u okolini organizma može povećati ukupni periferni otpor, promijeniti funkciju plućne arterije te oštetiti sveze endotela i miokarda u srcu. Iako ima samo jedan sloj, zdravi endotel je optimalno smješten i sposoban je odgovoriti na fizičke i kemijske signale proizvodnjom širokog raspona čimbenika koji reguliraju krvožilni tonus, staničnu adheziju, tromborezistenciju, proliferaciju stanica glatkih mišića i upalu žilne stijenke. Važnost endotela najprije je bila uočena njegovim učinkom na krvožilni tonus. Regulacija krvožilnog tonusa se postiže proizvodnjom i otpuštanjem nekoliko vazoaktivnih molekula koje opuštaju ili stišću žilu, kao i odgovorom i preinakom cirkulirajućih vazoaktivnih posrednika kao što su bradikinin i trombin. Krvožilni tonus ima direktnu ulogu u ravnoteži tkivne opskrbe kisikom i u drugim metaboličkim zahtjevima tkiva, a uključen je i u remodeliranje vaskularne strukture i dugotrajne perfuzije organa.

Pionirski eksperimenti Furchgotta i Zawadskija su prvi pokazali opuštajući faktor koji proizvodi endotel za koji se naknadno pokazalo da je NO (28-30). NO proistječe iz L-arginina djelovanjem endotelne sintaze NO (eNOS) u prisutnosti kofaktora kao što je tetrahidrobiopterin. U normalnoj vaskularnoj fiziologiji NO ima ključnu ulogu u održavanju žilne stijenke u mirnom stanju inhibicijom upale, stanične proliferacije i tromboze.

Oksidativni stres u stijenci krvne žile i endokardu povezan je s nastajanjem različitih reaktivnih oblika molekula kisika i dušika (eng. Reactive Oxygen and Nitrogen Species, ROS i RNS), te promijenjenim aktivnostima nekoliko oksidaza kao što je NOS (31). Pokazano je da superoksidni anion prigušuje NO (32), ali isto tako s njime i reagira stvarajući peroksinitrat, koji uzrokuje dodatni oksidativni stres zbog

aktivacije oksidaza i inaktivacije antioksidantnih enzima (31). Smanjenje lokalnog NO pomoću ROS uzrokuje hiperoksičnu vazokonstrikciju i smanjuje vazodilataciju ovisnu o NO (33;34). Oksidativni stres se u novije vrijeme okrivljuje za različita kardiovaskularna patološka stanja kao što su ateroskleroza (35), hipertenzija (36), šećerna bolest (37), fibrilacija atrija (38) i ishemijsko-reperfuzijsko oštećenje (39). Pokazalo se da mnoštvo antioksidansa, uključujući vitamine C i E, štiti funkciju endotela plućne arterije nakon kardiopulmonalnog premoštenja (40), ali štiti i sveukupni endotel (41).

3.4. Ciljevi istraživanja

Cilj ove disertacije je istraživanje utjecaja ronjenja na komprimirani zrak na odabrane parametre funkcije srca i endotela krvnih žila, te utjecaj antioksidanata - vitamina C i E na te parametre. Svrha studija je:

1. Razjasniti utjecaj jednokratnog zarona na komprimirani zrak na umjerenim dubinama u moru na vrijednosti PAP i PVR, te na sistoličku funkciju desne klijetke;
2. Procijeniti utjecaj visokih doza antioksidacijskih vitamina C i E na endotelnu funkciju krvnih žila nakon zarona, te na moguće promjene volumena i funkcije desnog i lijevog srca nakon zarona u moru;
3. Procijeniti vrijednost preventivnog, svakodnevnog uzimanje nižih doza antioksidacijskih vitamina u određenom razdoblju na endotelnu funkciju krvnih žila u profesionalnih ronilaca.

Planiranim studijama s roniocima pri zaronu u moru na umjerenim dubinama od 30-tak metara analiziralo se:

1. Utjecaj zarona s komprimiranim zrakom na vrijednosti PAP i PVR, te na funkciju i volumene desne klijetke. U dosadašnjim istraživanjima na simuliranim zaronima u hiperbaričnoj komori uočio se porast PAP kod zarona korištenjem životinjskih modela, ali su studije na ljudima dale oprečne rezultate na različitim

modelima zarona. Studija 1. testirala je hipotezu da će jednokratni zaron na komprimirani zrak na umjerenim dubinama u moru dovesti do povećanja vrijednosti PAP i PVR, te posljedično utjecati na sistoličku funkciju desne klijetke.

2. Cilj druge skupine istraživanja je procijeniti utjecaj antioksidansa na endotelnu funkciju krvnih žila, te na volumene i funkciju lijeve i desne klijetke, kao i na vrijednosti PAP. Naime, u dosadašnjim istraživanjima reaktivni hiperemijski odgovor nadlaktične arterije nakon simuliranog zarona u hiperbaričnoj komori bio je smanjen, što ukazuje na promjenu endotelne funkcije krvnih žila nakon zarona, a promjene funkcije desnog srca uočene su u prvoj studiji. U toj je studiji postavljena hipoteza korisnog učinka akutno primijenjenih antioksidantnih vitamina na endotelnu funkciju arterija, te funkciju desnog i lijevog srca.
3. U trećoj seriji pokusa cilj istraživanja bio je uočiti djelovanje dugoročnog uzimanja (u trajanju od četiri tjedna) nižih doza antioksidacijskih vitamina C i E na reaktivni hiperemijski odgovor nadlaktične arterije. Tom se studijom želi postaviti model bliži preporučenim dnevnim dozama vitamina C i E, a zadržati njihov pozitivan utjecaj istih na endotel krvnih žila. Taj bi model bio najbliži svakom rekreativnom roniocu, jer se velika većina rekreativnih sportaša specifičnom aktivnošću bave samo u određenim intervalima tijekom godine.

U svim studijama koristilo se ronjenje u moru kako bi se postiglo vjerodostojni zbroj svih vanjskih utjecaja tijekom zarona s bocama na komprimirani zrak.

4. ISPITANICI I METODE

4.1. Ispitanici i etičnost postupka

U provedenim studijama ukupno je sudjelovalo 25 ispitanika, iskusnih ronilaca Hrvatske ratne mornarice. U vrijeme izvođenja pokusa svisu ronioci bili bez znakova akutne ili kronične bolesti, te su imali važeću liječničku dozvolu za provedena ronjenja. Svi su ispitanici bili nepušači s urednim vrijednostima arterijskog krvnog tlaka, i urednim vrijednostima masnoća i šećera u krvi.

Svi su pokusi bili izvedeni na ljudskom modelu u skladu s Principima za provođenje istraživanja koja uključuju životinje i ljudska bića Američkog udruženja fiziologa (American Physiological Society's Guiding Principles for Research Involving Animals and Human Beings), Deklaracijom iz Helsinkija, te svim pozitivnim zakonima Republike Hrvatske, a nakon odobrenja od Etičkog povjerenstva Medicinskog fakulteta u Splitu i Etičkog povjerenstva Medicinskog fakulteta u Zagrebu. Istraživanja su provedena u sklopu znanstveno-istraživačkog projekta «Anaerobna tjelovježba reducira stvaranje mjehurića kod ronioca» (šifra projekta 0216006), voditelja prof. dr. sc. Željka Dujića.

Svi postupci i zahvati bili su u potpunosti objašnjeni ispitanicima, od kojih je dobiven pisani pristanak za sudjelovanje u istraživanju. Ispitanicima je objašnjeno da u svakom trenutku smiju napustiti istraživanje, a za svoje sudjelovanje su primili simboličnu nagradu. Pored pristupnika, u pokusima su sudjelovali za to obučeni istraživači odgovarajućih struka.

4.2. Metode

Protokoli studija koji čine ovu doktorsku disertaciju izvedeni su u razdoblju od dvije godine u Laboratoriju za fiziologiju Zavoda za integrativnu fiziologiju Medicinskog fakulteta u Splitu, te u objektima Hrvatske ratne mornarice u Splitu.

Antropometrijska mjerenja i spiroergometrijsko testiranje izvedeni su u Laboratoriju za fiziologiju, a preostali dio istraživanja u objektima Hrvatske ratne

mornarice (mjerenje stupnja i broja venskih plinskih mjehurića, ultrazvučna mjerenja odabranih srčanih parametara, određivanje PAP i PVR, te mjerenje endotelne funkcije nadlaktične arterije).

Dva tjedna prije započinjanja samih studija ispitanicima su određeni antropometrijski parametri (tjelesna masa i visina, indeks tjelesne mase, te su prikupljeni opći anamnestički podatci i podatci o ronilačkom iskustvu: ukupan broj sati ronjenja, pojava DCS), te su podvrgnuti spiroergometrijskom testiranju. Pušenje je bilo isključujući kriterij za sudjelovanje u studijama. Također smo odabrali osam ispitanika s prisutnim TR mlazom iz skupine od deset ispitanih pojedinaca. Ta prevalencija ispitanika s TR pozitivnim mlazom slična je drugim studijama u sportaša (42) i zdravih osoba (43). Naši su ispitanici bili vrlo izdržljivi, posebno izvježbani vojni ronioci s redovitim održavanjima aerobnog treninga. Mjesto samog zaranjanja na dubinu od 30 metara bilo je smješteno u neposrednoj blizini vojne luke, na koje su ronioci prevoženi gumenim čamcem. Brzina zarona bila je 10 m/min, a brzina izrona 9 m/min. Sam zaron je trajao 30 minuta, tijekom kojega je roniocima naloženo da plivaju u dužini od 500 metara što je bilo umjereno opterećenje. Prilikom izrona dekompresijska je stanka bila na dubini od 3 m i trajanju 3 minute (sukladno dekompresijskim tablicama Američke mornarice). Tijekom ronjenja postignuta dubina zarona kontrolirana je uz pomoć ronilačkog računala (Mosquito, Suunto, Finska) koji je dodijeljen svakom paru ronilaca. Srčana frekvencija tijekom zarona praćena je uređajem za neprekinuto mjerenje srčane frekvencije (HR Polar S810i, Vantage, Finland), a podatci naknadno pohranjeni u osobno računalo.

Spiroergometrijsko testiranje obavljeno je na bicikli ergometru (Marquette Hellige Medical Systems 900 ERG, Milwaukee, SAD) uz pomoć uređaja za kardiopulmonalno testiranje pod opterećenjem (Quark b2, Cosmed, Rim, Italija), a srčana frekvencija je mjerena uređajem za neprekinuto mjerenje srčane frekvencije (HR Polar S810i Polar, Vantage, Finland). Svim ispitanicima određen je maksimalni primitak kisika (VO2MAX) i maksimalna srčana frekvencija. Kriteriji za prihvaćanje VO_{2MAX} bili su: (1) srčana frekvencija iznad 90% maksimalne predviđene za dob (220–dob), (2) respiracijski kvocijent >1,1 i (3) postizanje zaravni na krivulji primitka kisika (ili povećanje <150 mL) unatoč povećanju opterećenja. Ako su bila

ispunjena najmanje dva od navedenih kriterija, izmjereni primitak kisika izabran je kao ispitanikov VO_{2MAX}.

4.3. Protokoli svojstveni pojedinim studijama

4.3.1 Učinak ronjenja na odabrane parametre funkcije desnog srca, PAP i PVR

Studija je uključila osam ronilaca Hrvatske ratne mornarice u dobi od 35,6±3,6 godina (srednja vrijednost ± SD, raspon 32-40) s prosječnim indeksom tjelesne mase 25,9±2,4 kg/m (raspon 21,4-29), visine 1,81±0,05 m (raspon 1,75-1,87), indeksa tjelesne masti 17,1±3,0 (% tjelesne masti/kg). Svi su ispitanici bili iskusni ronioci sa znatnim iskustvom ronjenja (s više tisuća sati ronjenja). Svim je roniocima jedan tjedan prije pokusa određena maksimalna potrošnja kisika i maksimalna frekvencija srca (HRmax) na bicikl ergometru korištenjem inkrementalnog protokola (Marquette Hellige Medical Systems 900 ERG, Milwaukee, SAD). Ispitanici su na početku zagrijavani tijekom 10 min vozeći bicikl uz 25 W. Početno opterećenje bilo je 50 W, s dodatnim povećanjem od 25 W svake iduće minute do iscrpljenosti. To se dogodilo u svih ispitanika unutar 11-14 min. Maksimalna potrošnja kisika za skupinu iznosila je 42,2±4,5 mL/kg/min, a vršna srčana frekvencija pri toj potrošnji kisika iznosila je 178,8±8,5 otkucaja/min.

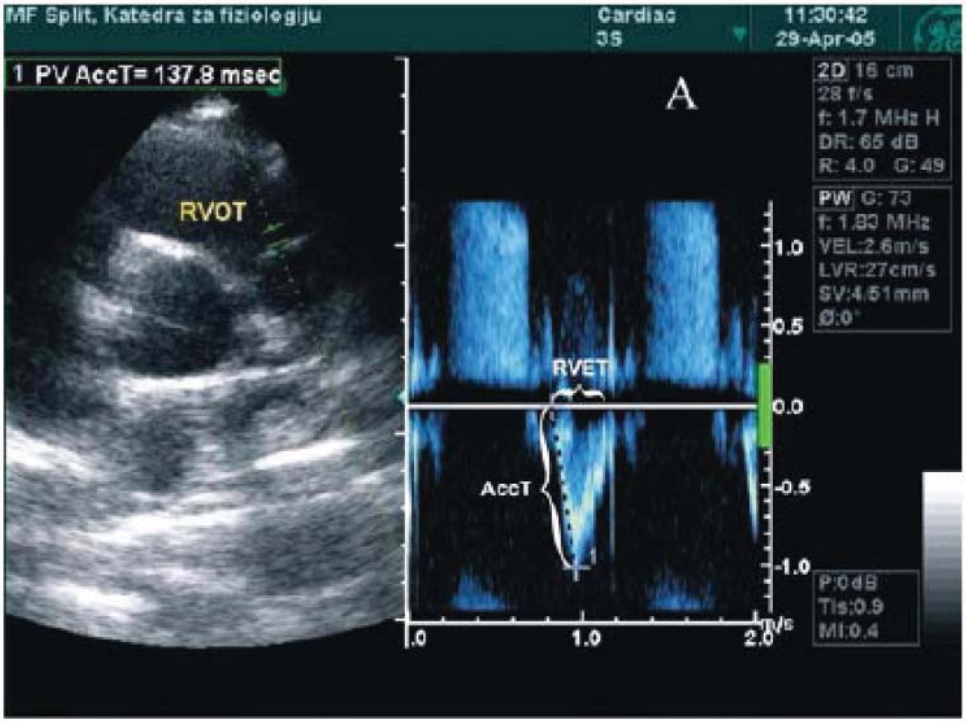
Svi zaroni izvedeni su po protokolu navedenom u uvodu, a kardiovaskularni parametri mjereni su s ultrazvukom Vivid 3 Expert (GE, Milwaukee, SAD) širokopojasnom sektorskom sondom (1.5 – 3.3 MHZ) 30 min prije, te 20 i 40 min poslije zarona u ležećem položaju. Sva je ultrazvučna mjerenja napravio isti ispitivač. Apeks srca određen je palpacijom srca na ispitaniku u lijevom bočnom položaju. Apikalnim pristupom širokopojasnom sektorskom sondom prikazana je dvodimenzionalna slika četiri srčane šupljine i srčanih pregrada nakon čega je položaj sonde podešen kako bi se postiglo optimalnu kakvoću slike. Tim prikazom mjeren je volumen desne klijetke na kraju sistole (RV-ESV) i dijastole (RV-EDV), te je izračunavana ejekcijska frakcija desne klijetke (RVEF) uporabom Simpsonove metode (44). Minutni volumen (CO)

mjeren je kao umnožak udarnog volumena i srčane frekvencije. Udarni volumen mjeren je iz umnoška poprečne površine plućne arterije i vremenskog integrala brzine (VTI). Nakon zarona pojava venskih plinskih mjehurića (slika 1.) u području desnog srca i plućne arterije mjerena je na osnovu prihvaćene metode Eftedala i sur. (45). Ona uključuje sljedeće stupnjeve venskih plinskih mjehurića: bez mjehurića – 0. stupanj, rijetki mjehurići – 1. stupanj, barem 1 mjehurić u svakom četvrtom srčanom otkucaju – 2. stupanj, barem jedan mjehurić u svakom srčanom otkucaju – 3. stupanj, kontinuirano pojavljivanje mjehurića, barem jedan mjehurić po cm² – 4. stupanj, zabijeljenje, pojedinačni mjehurići ne mogu biti uočeni – 5. stupanj. Stupnjevanje mjehurića na ultrazvučnoj slici pokazuje nelinearnost kada se usporedi sa stvarnim brojem venskih plinskih mjehurića u plućnoj arteriji. Kako bismo postigli linearnost, stupanj mjehurića pretvorili smo u broj mjehurića po cm², kako je ranije opisano u literaturi (46).

Slika 1. Prikaz venskih plinskih mjehurića u području desnog srca (RA i RV)

Nakon stupnjevanja venskih plinskih mjehurića PAP je kod svih ispitanika mjeren uporabom pulsnog doplera prije, te 20 i 40 min poslije zarona, pomoću

dvije različite metode. Doplerska mjerenja su iskazana kao srednja vrijednost triju uzastopnih srčanih ciklusa. Mjereni su AccT (vremenski interval između početka i vršne vrijednosti brzine plućnog protoka, u ms), RVET (vremenski interval od početka do završetka brzine sistoličkog plućnog protoka, u ms) i R-R interval (ms) (vremenski interval između dvaju R valova elektrokardiograma). Omjer AccT/RVET izračunat je za svaki srčani ciklus (slika 2.). Početni omjer AccT/RVET prije ronjenja bio je srednja vrijednost dvaju mjerenja. Kao indeks srednjega PAP upotrijebili smo odnos AccT/RVET, jer su drugi pokazali dobru povezanost između AccT/RVET i invazivno mjerenog PAP u zdravih osoba (r = -0,91) (47). Sistolički PAP (SPAP) mjeren je uporabom ultrazvučnog pulsnog doplera mjerenjem vršne vrijednosti brzine mlaza regurgitacije kroz trikuspidalni zalistak (TR) tijekom sistole (48). Brzina najvišeg protoka ili Vmax TR mlaza korištena je za izračunavanje sistoličkog tlaka desnog ventrikla (RVSP). Da se dobije procjena Vmax, izračunata je prosječna vrijednost od pet mjerenja u svakoj mjernoj točki. U ovoj je studiji pretpostavljeno da je tlak desnog atrija (PRA) 5 mm Hg. SPAP se izračunalo ovom jednadžbom: RVSP = 4(TRVmax)2 + PRA (48). Ako nema plućne stenoze, RVSP i SPAP su jednaki.



Slika 2. Prikaz mjerenja omjera AccT/RVET u izlaznom traktu desne klijetke, kao indeksa srednje vrijednosti plućnog arterijskog tlaka

Plućni krvožilni otpor (PVR)

PVR je ocijenjen iz omjera vršne brzine trikuspidne regurgitacije (TRV, m s^{-1}) i integrala vremena brzine istjecajnog trakta desnog ventrikla (TVI_{RVOT}, cm) dobivenih doplerskom ehokardiografijom (TRV/TVI_{RVOT} x 10 + 0,16, u Woodsovim jedinicama, WU). Normalni raspon PVR je od 1 do 4 (49).

Podatci su prikazani kao srednja vrijednost ± standardna devijacija (SD). Učinak ronjenja na komprimirani zrak na proučavane varijable funkcije srca i krvnih žila napravljene su Friedmanovom neparametrijskom analizom varijance, dok su *post hoc* usporedbe učinjene Wilcoxonovim testom. Rabljeni su neparametrijski testovi zbog malog uzorka (N = 8). $P < 0,05$ smatralo se statistički značajnim. Sve su analize urađene softverom Statistica 7.0. (Statsoft, Inc., Tulsa, OK, SAD).

4.3.2. Učinci akutne primjene antioksidantnih vitamina na odabrane parametre funkcije srca i endotela krvnih žila u ljudi tijekom zarona

Ova se studija sastojala od dva odvojena protokola. Prvog u kojem primjena vitamina nije bila nasumce određena i drugog gdje je uporabljen dvostruko slijepi dizajn pokusa kontroliran placebom.

Ispitanici

Protokol 1. U studiji je sudjelovalo sedam iskusnih muških ronilaca Hrvatske mornarice u dobi do 34,1±3,5 godina (srednja vrijednost±standardna devijacija, SD) s prosječnim indeksom tjelesne mase 25,9±2,4 kg/m^2, prosječne visine 1,82±0,04 m i s indeksom tjelesne masti 20,1±3,4 (%, tjelesne masti/kg).

Protokol 2. Šest ispitanika iz protokola 1. sudjelovalo je u drugom protokolu koji je proveden 8 mjeseci nakon završetka prve skupine eksperimenata.

Svih sedam ispitanika u protokolu 1 i šest u protokolu 2 uspješno je završilo studijske protokole, bez znakova dekompresijske bolesti ili znakova drugih komplikacija tijekom i nakon ronjenja.

Plan mjerenja

Ispitanicima je 48 sati prije izvođenja eksperimenta bilo zabranjeno obavljanje težih tjelesnih aktivnosti i ronjenje.

Protokol 1. Ronioci su izveli dva ronjenja. Prvo, kontrolno, bez farmakološke intervencije. Drugo ronjenje slijedilo je nakon 24 h, a 2 h prije samog zarona ispitanicima su dani vitamini C i E. Ultrazvukom visoke rezolucije, 30 minuta prije zarona i 30 minuta nakon svakog zarona procijenjena je endotelna funkcija nadlaktične arterije i funkcija srca ispitanika (ukupno 4 mjerenja).

Protokol 2. Ispitanici su ponovili gore navedeno istraživanje s time da je primjena antioksidacijskih vitamina (C i E), te ronjenje bez vitamina nasumice odabrano (randomizirana studija), a razmak između pojedinih zarona iznosio je tri dana. Funkcija endotela nadlaktične arterije, kao i kardiovaskularni parametri procijenjeni su 30 minuta prije zarona i 30 minuta, 24, 48 i 72 sata nakon svakog zarona.

Mjerenje venskih plinskih mjehurića

Pojava venskih plinskih mjehurića određivana je 30 minuta nakon izrona pomoću ultrazvuka Vivid 3 Expert i prenosivim Logic Book XP (GE, Milwaukee, SAD). U svih su ispitanika dobivene slike visoke kakvoće, a venske plinske mjehuriće uočilo se kao odraze visokog intenziteta u desnom srcu i plućnoj arteriji u mirovanju i nakon kašlja. Analiza venskih plinskih mjehurića obavljena je na isti način kao i u Studiji 1.

Procjena endotelne funkcije nadlaktične arterije

Funkcija endotela nadlaktične arterije ocijenjena je kod svih ispitanika po metodi opisanoj od strane Corretti i sur. (50). Ukratko, ispitivao se porast protoka krvi i promjera nadlaktične arterije koji nastaje u odgovoru na reaktivnu hiperemiju. Tijekom istraživanja ispitanici su boravili u prostoriji kontrolirane temperature u ležećem položaju. Sva su mjerenja obavljena u isto vrijeme dana kako bi se isključile dnevne varijacije endotelne funkcije, a nakon 15 minuta strogog mirovanja. Mjerenja su učinjena s pomoću linearne sonde (5.7-13.3 MHz) prije navedenim ultrazvučnim uređajima. Za promjer nadlaktične arterije uzeta je udaljenost između dviju intimalnih

površina žile (prednje i stražnje) na uzdužnim prikazima arterije. Za vrijeme mjerenja neprekinuto je praćen EKG kako bi se određivanje promjera nadlaktične arterije uz pomoć elektronskog kalipera uvijek obavilo u istoj fazi srčanog ciklusa (na „kraju“ dijastole). Usporedo s prikazom promjera nadlaktične arterije, određivana je i srednja brzina protoka krvi (MBV) uporabom pulsnog doplera u uzorku volumena iz sredine arterije. Položaj ultrazvučne sonde na nadlaktici bio je označen kako bi se osigurao isti položaj za sva mjerenja (3 do 5 cm proksimalno od antekubitalne udubine). Nakon mjerenja bazalnih vrijednosti MBV i promjera nadlaktične arterije, izvedena je njena okluzija napuhivanjem manšete živinog tlakomjera na podlaktici u trajanju od 5 minuta (na vrijednosti od 240 mm Hg). Nakon isteka 5 minuta, manšeta je ispuhana što je dovelo do značajnog porasta protoka krvi kroz nadlaktičnu arteriju uz posljedično povećanje njena promjera. Mjerenja MBV i promjera nadlaktične arterije učinjena su neposredno nakon ispuhivanja manšete, svakih 30 s tijekom prve 3 minute, te na kraju četvrte i pete minute nakon ispuhivanja manšete. Vazodilatacija posredovana protokom (engl. Flow Mediated Vasodilation, FMD) izračunata je kao relativan porast promjera nadlaktične arterije u odnosu na bazalne vrijednosti. Protok krvi određen je iz umnoška MBV i poprečne površine nadlaktične arterije. Podatci su pohranjeni na osobno računalo ultrazvuka u obliku slika i kratkih filmova (engl. still and cine-loop) kako bi ih se moglo naknadno analizirati. Vazodilataciju neovisnu o endotelu u ovoj studiji nismo testirali uporabom nitroglicerina zbog njegova učinka na pojavu venskih plinskih mjehurića tijekom ronjenja.

Tlak plućne arterije određen je po jednakom protokolu kao u studiji 1.

Ultrazvučna analiza odabranih parametara funkcije srca

Funkcija desnog srca procijenjena je na način i pomoću uređaja opisanih u Studiji 1.

U analizi funkcije lijevog srca rabili smo dvije metode: po Simpsonu i po Teicholzu. Ultrazvučnom sektorskom sondom napravljen je prikaz srca s apeksa u projekciji četiri srčane šupljine, te je napravljen prikaz endokarda lijeve klijetke, uporabom softverskog alata prije navedenih uređaja šupljina lijeve srčane klijetke

podijeljena u niz diskova radi mjerenja njezinog volumena. Mjerenja su učinjena na kraju sistole i na kraju dijastole (LV-ESV/LV-EDV) kako bi se izračunalo ejekcijsku frakciju lijeve klijetke (LVEF).

Nadalje, parasternalnim smještajem sonde ultrazvučnog uređaja prikazana je duga os srca, u prvom redu inferoposteriorna stijenka lijeve klijetke i interventrikulski septum. Promjer šupljine lijeve klijetke u razini vrška papilarnog mišića, debljina intraventrikulskog septuma (IVS) te debljina stražnje stijenke lijeve klijetke (LVPW) mjereni su u M-mod prikazu na kraju sistole i na kraju dijastole. Mjerena su tri uzastopna srčana ciklusa i izračunate prosječne vrijednosti. Sva su mjerenja urađena prema smjernicama Američkog društva za ehokardiografiju (44)

Iz dvodimenzionalnih i jednodimenzionalnih mjerenja izračunati su unutarnji promjeri lijeve klijetke na kraju sistole i dijastole (LVIDd i LVIDs). Frakcijska skraćenja endokarda (FS) izračunata su po jednadžbi:

$$FS(\%) = 100 \times (LVIDd - LVIDs)/LVID$$

Udarni volumen (SV u mL) je izračunat iz razlike volumena lijeve klijetke na kraju dijastole i na kraju sistole po formuli:

$$SV = LV\text{-}EDV - LV\text{-}ESV$$

Množenjem vrijednosti udarnog volumena i srčane frekvencije dobivena je vrijednost srčanog minutnog volumena CO u L/min). Ejekcijska frakcija desne i lijeve klijetke izračunata je po jednadžbi:

$$EF\ (\%) = (EDV - ESV)/EDV$$

Ejekcijska frakcija je uporabljena kao indeks kontraktilnosti miokarda. Debljine stijenki lijeve klijetke prije i nakon ronjenja rabljene su i za dodatnu procjenu kontraktilnosti miokarda.

Statistička analiza

Podatci su prikazani kao srednja vrijednost ± SD. Razlike u promjeru arterije i odgovoru na hiperemiju, srčanu funkciju i tlak plućne arterije prije i nakon ronjenja

testirane su Studentovim t-testom za parne uzorke. Razlike između kontrolnih i eksperimentalnih ronjenja uspoređene su uporabom Studentova t-testa za parne uzorke (protokol 1.).

Da se ocijene učinci placeba naprama davanju vitamina C i E u randomiziranoj studiji na svim varijablama rezultata (protokol 2.), rabljena je Friedmanova neparametrijska analiza varijance, dok su *post hoc* usporedbe učinjene Wilcoxonovim testom. Povezanosti između metričkih varijabli procijenjene su Pearsonovim koeficijentom korelacije. Granica značajnosti postavljena je na $p < 0,05$. Sve su analize urađene softverom Statistica 7.0. (Statsoft, Inc., Tulsa, OK, SAD).

Farmakološka intervencija

Ispitanicima je davana askorbinska kiselina (2 g čistog praška, Ph.Eur.II, Medimon, Split, Hrvatska) i vitamin E (400 IJ, Twinlab, Hauppauge, NY, SAD) 2 sata prije drugog ronjenja (protokol 1.). Naknadno smo izveli dvostruko slijepu studiju u kojoj su ispitanicima slučajnim izborom davani ili placebo ili antioksidansi (protokol 2.). Randomizaciju farmakološke intervencije antioksidacijskim vitaminima izveo je ljekarnik koji nije bio uključen u prikupljanje ili analizu podataka. Istraživač koji je prikupio i analizirao podatke nije znao ni skupinu niti uvjete postupaka s ispitanicima.

4.3.3. Utjecaj primjene vitamina C i E u razdoblju od četiri tjedna na edotelnu funkciju krvnih žila tijekom ronjenja.

Studija je provedena na 8 muškaraca nepušača, iskusnih hrvatskih mornaričkih ronilaca u dobi 35,6±3,6 godina, prosječnog indeksa tjelesne mase od 25,9±2,4 kg/m^2, visine 1,81±0,05 m i indeksa tjelesne masti od 17,1±3,0 (tjelesna masnoća/kg%).

Vremenski niz mjerenja

Ronioci su izveli dva ronjenja, prvo kao kontrolno ronjenje, a drugo nakon 4 tjedna svakodnevnog uzimanja antioksidantnih vitamina. Ispitanici su ultrazvučno ispitivani 30 min prije ronjenja, te u razdoblju 20 i 40 min nakon izranjanja. Svim su

roniocima 2 tjedna prije eksperimenata određeni srednja maksimalna potrošnja kisika (VO_{2max}) i maksimalna frekvencija srca (HR_{max}).

Mjesto studije

Studija je provedena u vojnoj bazi Hrvatske mornarice tijekom 4tjedna. Mjesto ronjenja bilo je u blizini baze kamo su ronioci bili prebacivani motornim čamcem. Temperatura mora iznosila je između 14° i 16° C pri ronjenju prije i nakon davanja antioksidansa, a vanjska se temperatura kretala između 15° i 18° C.

Protokol ronjenja

Ronioci su izvodili dva ronjenja, prvo kao kontrolno, a drugo nakon 4 tjedna uzimanja C i E vitamina. Svi su ronioci zamoljeni da tijekom eksperimentalnog razdoblja ne mijenjaju prehranu. Sva su ronjenja izvedena u jutarnjim satima s roniocima opremljenima ronilačkim odijelima u skladu s Priručnikom za ronjenje mornarice SAD, a prema naprijed opisanom protokolu zaranjanja. Svaki je par ronilaca imao ronilački kompjutor (Mosquito, Suunto, Finska).

Praćenje nakon ronjenja i ehokardiografski pregled

Oko 20 min nakon izronjavanja ispitanici su smješteni na lijevi bok, te je učinjen ehokardiografski pregled s faznom ultrazvučnom sondom (1,5-3,3 MHz) uz uporabu ultrazvučnog skenera Vivid 3 Expert (GE, Milwaukee, WI, SAD). Od svih su ispitanika dobivene slike visoke kakvoće. Mjehuriće plina odziva visokog intenziteta vidjelo se u desnoj strani srca i u plućnoj arteriji. Slike su stupnjevane kao što je prije opisano (45,51), a stupnjevi mjehurića su bili linearizirani na mjehurići/cm^2 područja slike, kako je prethodno opisano (46).

Procjena endotelne funkcije nadlaktične arterije

Funkciju endotela se određivalo prema metodi Correttija i sur. (50) koja određuje arterijski odgovor na reaktivnu hiperemiju i FMD. Ispitanici su bili smješteni u mirnu sobu temperature od oko 20° C i mirovali su 15 min na klupi u položaju na

leđima. Sudionici su bili pregledani u isto vrijeme dana. Tehnika samog neinvazivnog određivanja endotelne funkcije brahijalne arterije opisana je u studiji 2., s time da se u ovoj studiji procjenjivala i vazodilatacija neovisna o endotelu uporabom sublingvalne aplikacije nitroglicerinskog spreja.

Naime nakon standardnog protokola određivanja protokom posredovane vazodilatacije (FMD), ispitanicima se nakon 10 min mirovanja sublingvalno apliciralo 0,4 mg nitroglicerinskog spreja (Nitrolingual spray, gliceriltrinitrat, Rhone-Poulenc Rorer, Inc., Collegeville, PA, SAD), da se ocijeni odgovor koji ne ovisi o endotelu.

FMD se izračunalo kao postotak povećanja promjera brahijalne arterije iz stanja mirovanja do maksimalne dilatacije. Krvni se protok izračunavalo iz mjerenja MBV i promjera žile uz pretpostavku da je žila okrugla.

Svi su podaci pohranjeni na tvrdi disk računala ultrazvučnog aparata (kao slike i kratki filmovi) za kasniju obradu. Prema novim smjernicama za FMD (52;53), mi smo ih standardizirali na brzinu smicanja, posebnu varijablu koja ovisi o promjeru žile (54).

Reaktivna hiperemija nakon okluzije

Prva mjerenja brzine protoka krvi učinjena su tijekom početnih 5-7 s nakon otpuštanja manšete. Mjerenja brzine vršnog protoka i 5-sekundnog prosječnog protoka izračunata su putem sljedeće jednadžbe: površina presjeka krvne žile x MBV. Brzina vršnog protoka i 5-sekundna prosječna brzina smicanja određivani su kao 4 x MBV/srednji promjer (54).

Standardizirani FMD

Mjerenja FMD su standardizirana na prosječnu brzinu smicanja, jer je pokazano da jačina dilatacije ovisi o posljedičnom hiperemičnom stimulusu protoka predstavljenog brzinom smicanja (standardizirani FMD = FMD/prosječna brzina smicanja) (54). Vrijednosti su prikazane kao postotak na sekundu.

Farmakološka intervencija

Ispitanicima su davani C vitamin (prosječno 750 mg/d; u početku 2 tjedna po 500 mg/d i zadnja 2 tjedna po 1000 mg/d čistog praška, Medimon, Split, Hrvatska) i E vitamin (400 IU/d; Twinlab, Hauppauge, NY) tijekom 4 tjedna. Rečeno im je da zadnju dozu uzmu ujutro za vrijeme ponovnog posjeta, 3-4 sata prije drugog ronjenja.

Statistička analiza

Podaci su prikazani kao srednja vrijednost ± SD. Razlike u promjeru arterije i odgovora na hiperemiju prije i nakon ronjenja određivane su uporabom Studentova t-testa za parne uzorke. Granica značajnosti postavljena je na $p = 0,05$. Sve su analize izvedene sa Statistica 7,0 (Statsoft, Inc., Tulsa, OK, SAD).

4.3.4. Prikaz slučaja intrapulmonalnog skretanja (shunting) venskih plinskih mjehurića za vrijeme tjelovježbe nakon zarona na komprimirani zrak

Nakon zarona s jednakim protokolom kao i u ostalim studijama u jednog se ispitanika uočio visoki stupanj venskih plinskih mjehurića, te je provedeno opterećenje visokog stupnja na bicikl-ergometru (3. stupanj opterećenja protokola po Bruceu). Cijelo vrijeme opterećenja šupljine lijevog i desnog srca promatrane su uporabom sektorske ultrazvučne sonde, ultrazvučnog aparata Vivid 3. Nakon zamjećivanja plinskih mjehurića u lijevim srčanim šupljinama ultrazvučne su slike pohranjene u memoriju UZV aparata. Nakon uočene pojave venskih plinskih mjehurića u lijevim srčanim šupljinama napravljen je pregled srčanih pregrada i ostalih srčanih struktura uporabom transezofagijske, visokofrekventne sonde na aparatu Vivid 3, kako bi se isključilo postojanje PFO. Pregled je učinjen standardnom ultrazvučnom tehnikom na lijevom boku ispitanika uz primjenu intravenske aplikacije kontrasta, a prikazane su ane strukture pohranjene u obliku UZV slika u memoriju aparata.

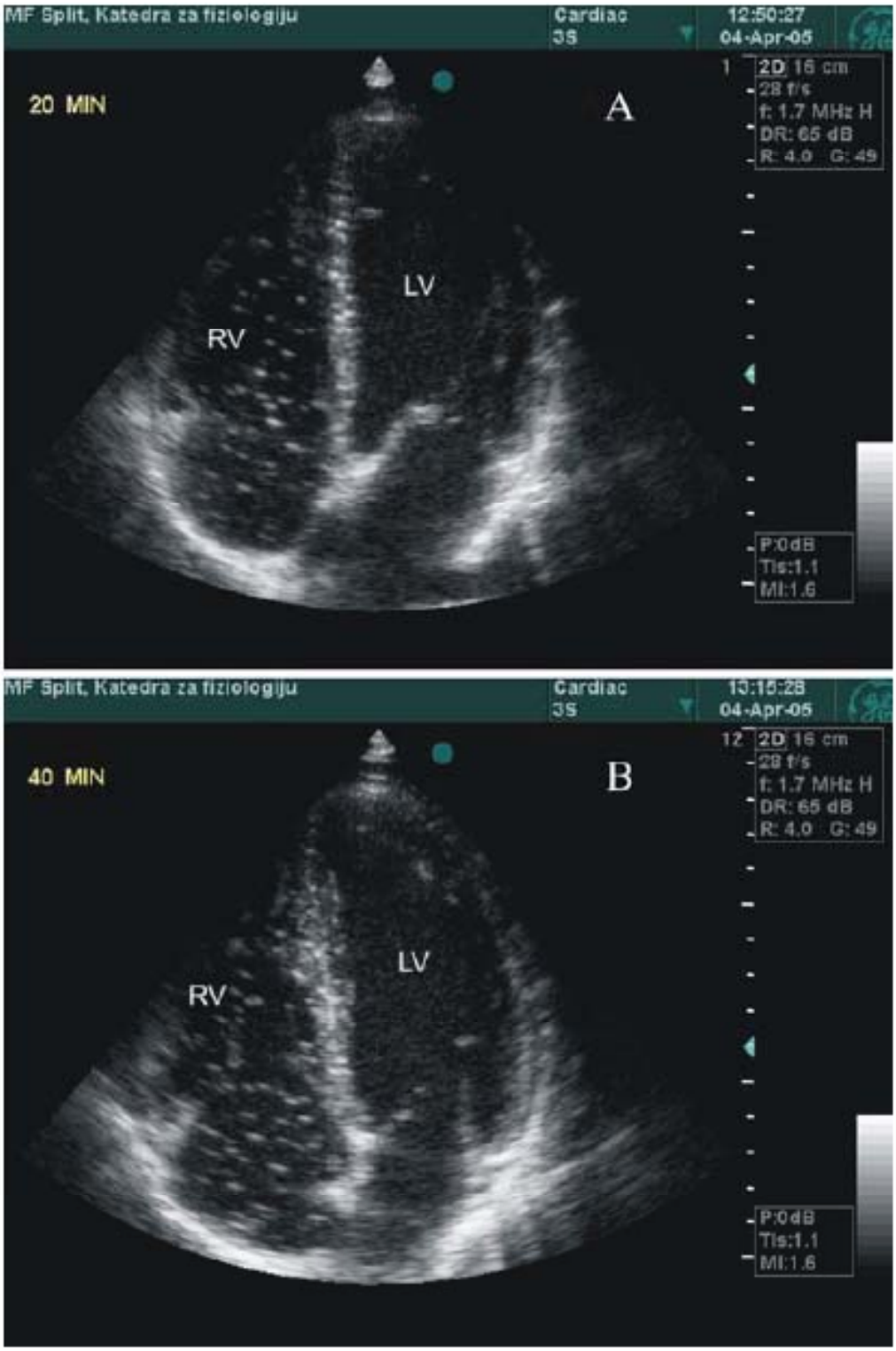
5. REZULTATI

5.1. Utjecaj ronjenja na komprimirani zrak na pojavu mjehurića inertnog plina u venskoj cirkulaciji, na arterijski tlak i krvožilni otpor u plućnoj arteriji, te na volumene i sistoličku funkciju desnog srca

Svih je osam ronilaca uspješno završilo planirani protokol i nijedan sudionik nije imao znakova dekompresijske bolesti. Samo u jednog od sudionika tijekom prvih 40 min mirovanja u položaju na leđima nisu nađeni venski plinski mjehurići, dok je u preostalih sedam provedeni protokol ronjenja proizveo venske plinske mjehuriće (tablica 1.). U sedam ronilaca s mjehurićima nakon ronjenja tijekom Valsalvinog manevra nije utvrđeno postojanje ni PFO niti I-P šanta. Slika 3. prikazuje izgled četiriju srčanih klijetki odmah nakon Valsalvinog manevra ronioca pod br. 6 sa 4. stupnjem mjehurića, prosječnim SPAP od 37 mm Hg i omjerom AccT/RVET 0,27 (u 40. min nakon izrona).

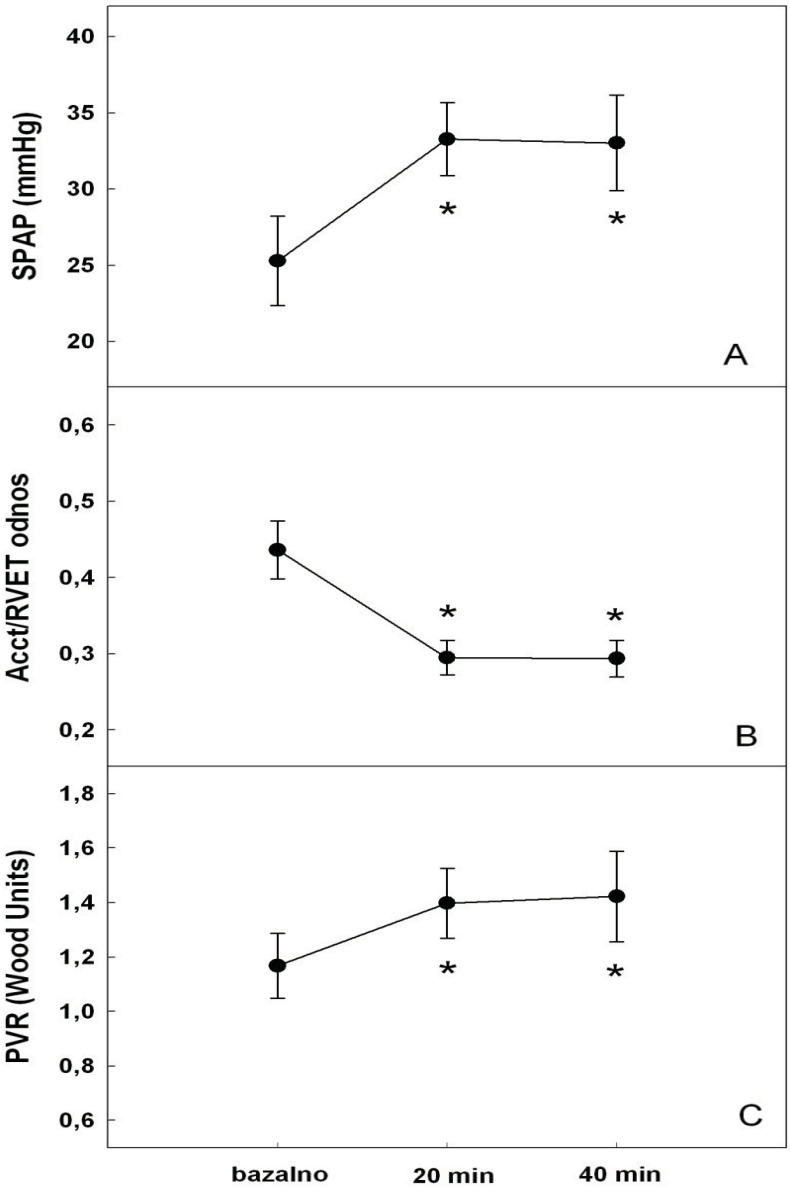
Tablica 1. Pojedinačni mjehurići po cm^2 za svih osam ronilaca

Ispitanik br.	20 min	20 min kašalj	40 min	40 min kašalj
1.	0,05	0,2	0,05	0,05
2.	0,2	0,2	0,2	0,75
3.	0,75	0,75	0,2	0,75
4.	0,05	0,05	0	0,05
5.	0,05	0,05	0,2	0,2
6.	3,5	3,5	3,5	3,5
7.	0	0	0	0
8.	0,2	0,75	0,2	0,2
Srednja vrijednost ±SD	**0,60±1,20**	**0,69±1,18**	**0,54±1,20**	**0,69±1,18**



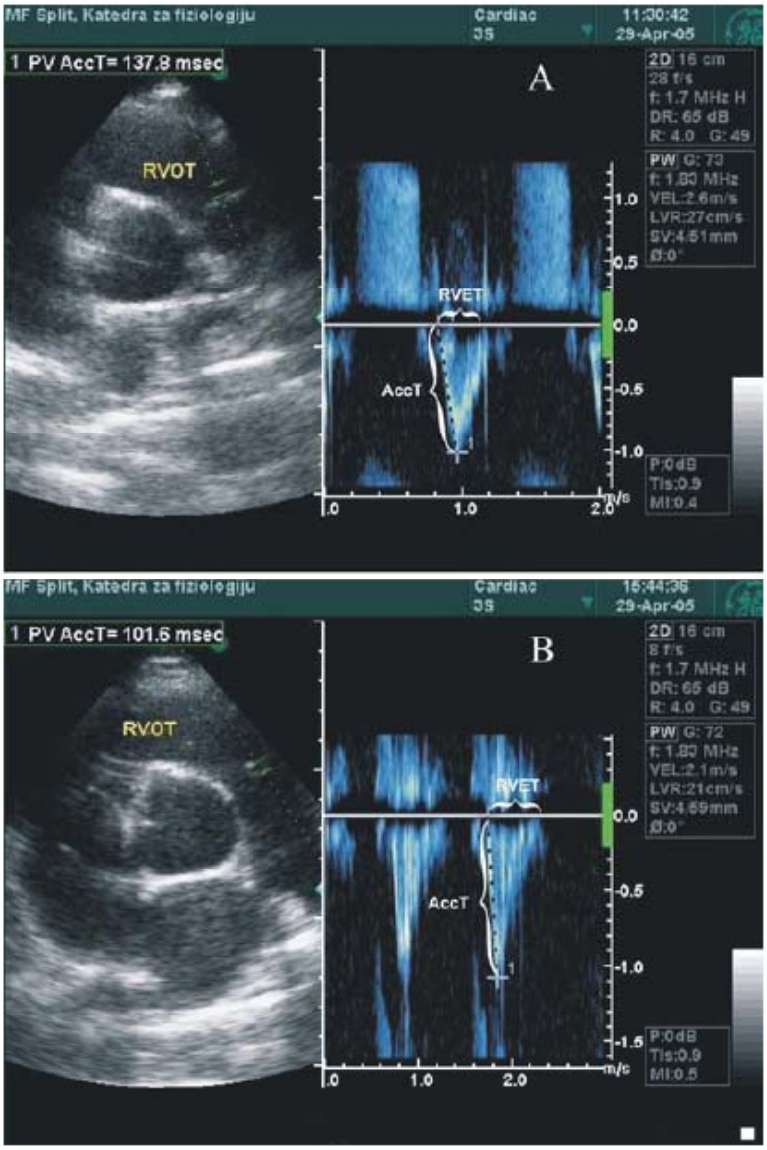
Slika 3. Zračni mjehurići (4. stupnja) desne klijetke (RV) i desne pretklijetke (RA) bez znakova desno-lijevog šanta nakon Valsalvinog manevra u 20. min (**a**) i 40. min (**b**) nakon izlaska na površinu. Slika pokazuje izgled 4 srčane šupljine odmah nakon Valsalvina manevra ronioca pod br. 6 sa 4. stupnjem mjehurića, prosječnog SPAP od 37,1 mm Hg i odnosom AccT/RVET 0,27 (u 40. min nakon zaronjavanja)

Vrijednost SPAP se povećala sa 25±3 na 33±2 mm Hg (P = 0,001), a omjer AccT/RVET se smanjio sa 0,44±0,04 prije ronjenja na 0,3±0,02 20 min nakon ronjenja (P=0,001) (sl. 4.a i b), nalaz ukazuje na povećanje PAP od oko 32%. Te su razlike značajne (P=0,001 i P=0,001). PVR se značajno povećao od 1,2±0,1 na 1,4±0,1 WU (P = 0,001) (sl. 4c).



Slika 4. Promjene sistoličkog tlaka plućne arterije – SPAP(A), odnos AccT/RVET(B) i plućni vaskularni otpor-PVR(C) u 20. i 40. min nakon ronjenja. Vrijednosti su aritmetička sredina ± SD, P<0,05 u usporedbi s početnom vrijednošću.

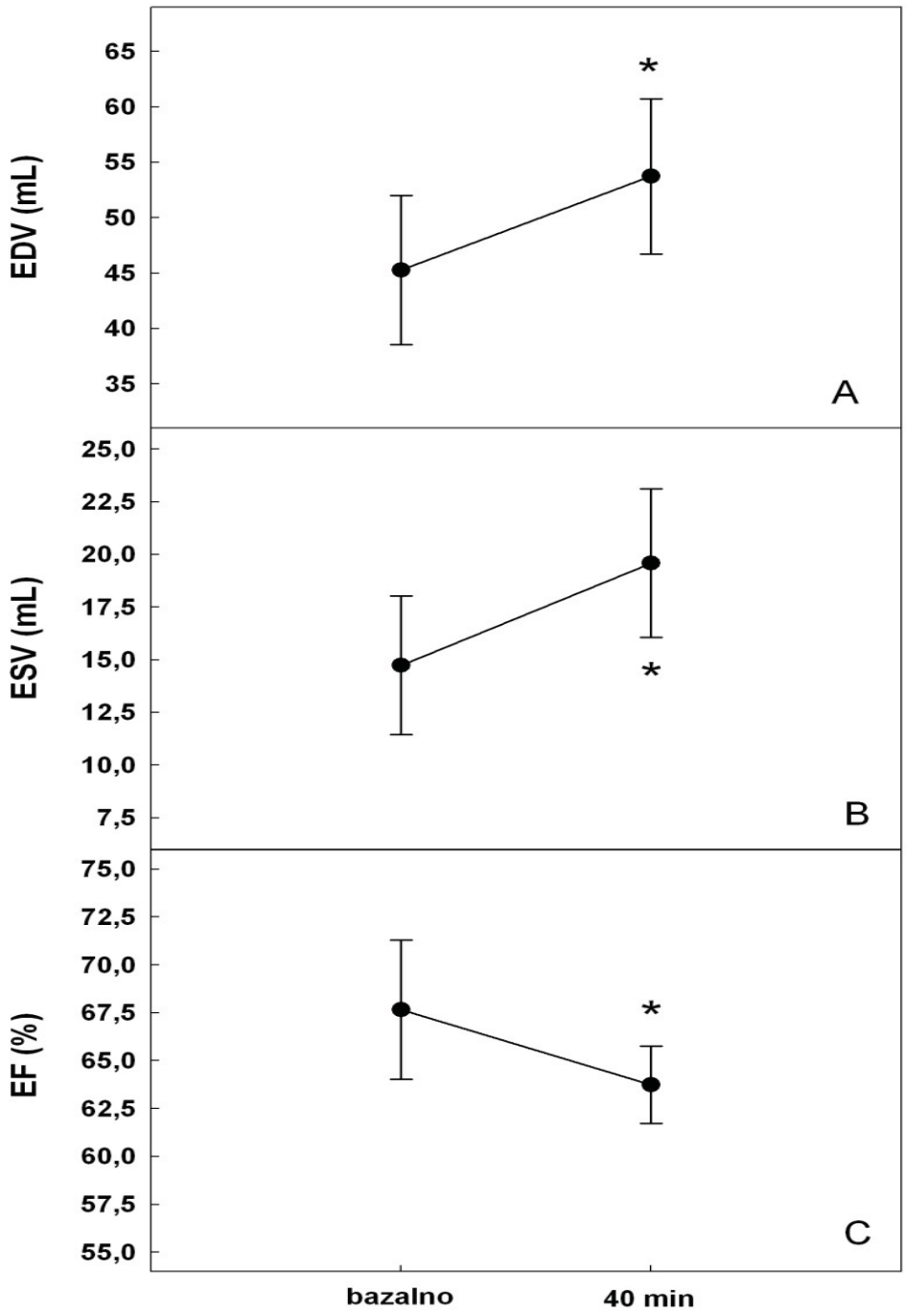
Slika 5a. pokazuje izlazni trakt desne klijetke u ronioca pod br. 8 koji pokazuje da se AccT smanjio sa 137,8 ms na početku na 98 ms u 20. min nakon ronjenja, dok se RVET produljio od 328 na 380 ms (sl. 5.b).



Slika 5. Promjene u AccT i RVET prije (**a**) i 20 min nakon ronjenja (**b**), **a** AccT 137,8 ms, RVET = 328 ms, **b** AccT = 96 ms, RVET = 380 ms

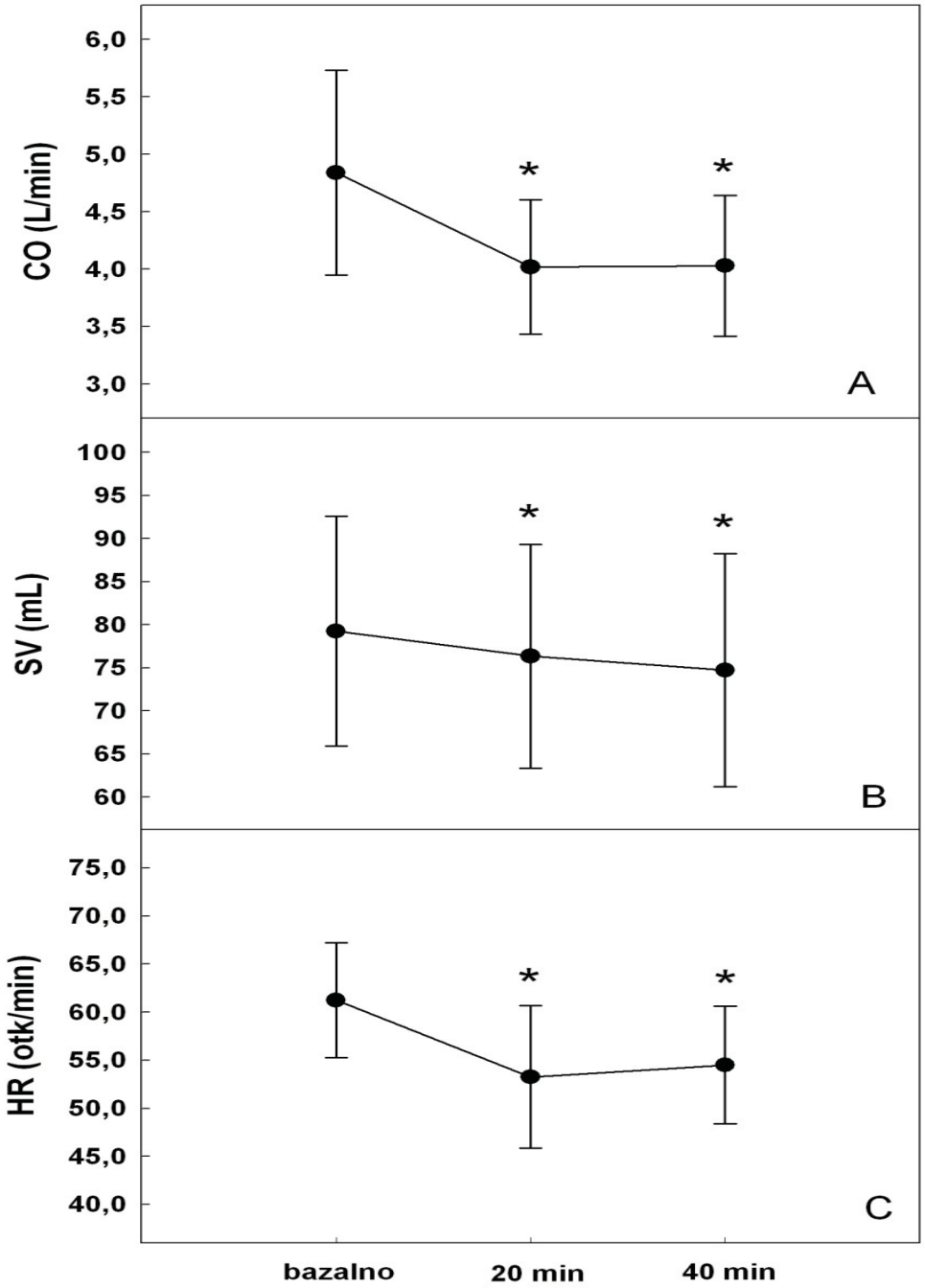
Pri evaluaciji poslije ronjenja, EDS i ESV desnog ventrikla su se povećali za 19% (P=0,001) i 33% (P=0,001), a istisna frakcija desne klijetke smanjila za 6% (P=0,001) (sl. 6). Smanjenje istisne frakcije desne klijetke bilo je veće u ronilaca s većim povećanjem SPAP (P=0,01). Minutni volumen se značajno smanjio od 4,8±0,9

(L/min) temeljne vrijednosti na 4,0±0,6 u 40. min (P= 0,001) nakon ronjenja zbog smanjivanja srčane frekvencije i udarnog volumena (sl.7).



Slika 6. Promjene volumena pri kraju dijastole desnog ventrikla (EDV, **a**), volumena pri kraju sistole (ESV, **b**) i istisne frakcije (EF, **c**) prije i u 40. min nakon ronjenja. Vrijednosti su aritmetičke sredine ±SD, *P<0,05 u usporedbi s početnom vrijednošću

Srčana se frekvencija smanjila sa 61,3 otkucaja u min na početku na 53,3 otkucaja u min u 20. min nakon ronjenja.



Slika 7. Promjena minutnog volumena (CO, a), udarnog volumena (SV, b) i frekvencije srca (HR, c) u 20. i 40. min nakon ronjenja. Vrijednosti su aritmetičke sredine ± standardna devijacija. *p<0,05 u usporedbi s početnom vrijednošću

Prosječan broj mjehurića bio je 1,5 u 20. min i 2,0 u 40. min nakon ronjenja, što daje prosječno opterećenje od 0,6 mjehurića/cm^2 u tom razdoblju.

5.2. Učinci akutne primjene antioksidantnih vitamina na odabrane parametre funkcije srca i endotela krvnih žila u ljudi tijekom zarona

U ovoj je studiji promatrano više ovisnih varijabli funkcije srca i krvnih žila, te specifičnosti povezanih s ronjenjem, kao što je pojavnost venskih plinskih mjehurića.

Venski plinski mjehurići

Plinski su venski mjehurići opaženi nakon ronjenja u svih ispitanika. Tijekom razdoblja promatranja u protokolu 1. prosječni broj venskih mjehurića po kvadratnom centimetru u desnom srcu nakon prvog ronjenja bio je 1,5±1,4, a nakon drugog ronjenja s antioksidantnim vitaminima C i E 1,3±1,5. Ta razlika nije značajna (P=0,18). U protokolu 2. broj venskih mjehurića po kvadratnom centimetru nije bio značajno smanjen od 0,99±1,30 u zaronu bez antioksidantnih vitamina na 0,70±1,37 u zaronu s vitaminima. Pretpostavljam da ni u jednog ispitanika nije postojao veliki otvoreni PFO, jer u LV nisu opaženi mjehurići.

Funkcija brahijalne arterije ovisna o endotelu

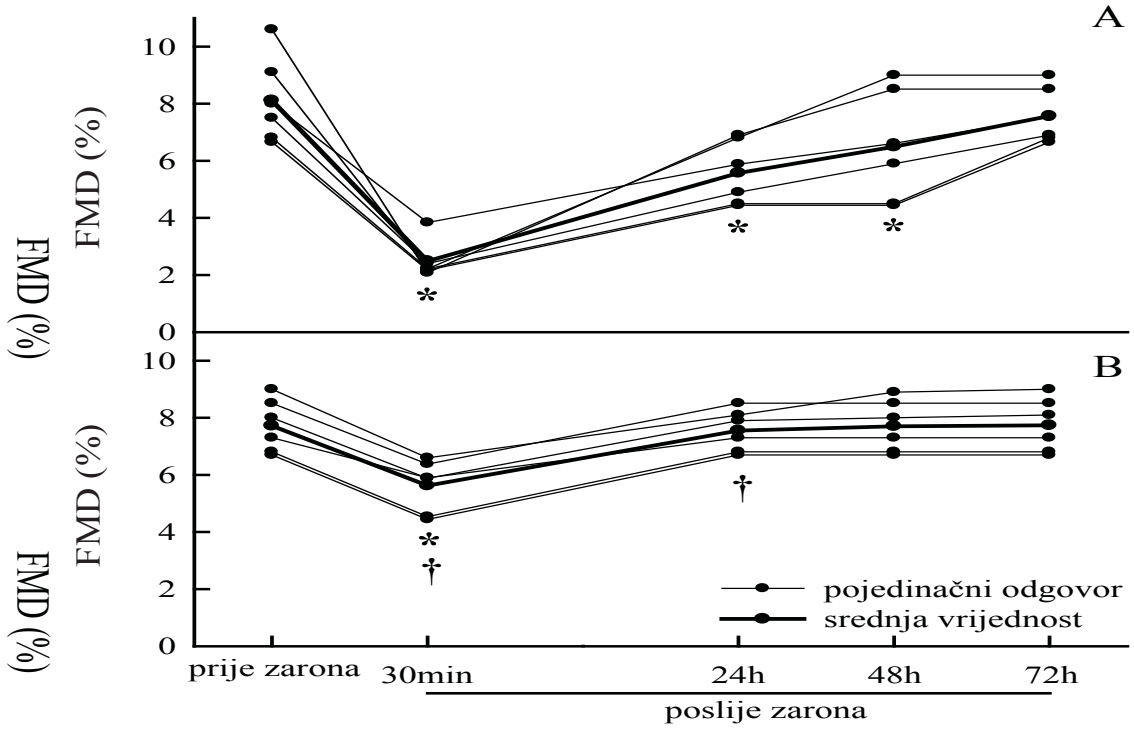
Protokol 1. Prosječni promjer brahijalne arterije nije se značajno mijenjao ni u kontrolnim (P=0,2) niti u eksperimentalnim ronjenjima (P=0,78) (tablica 2.). Akutni antioksidanti nisu imali značajni učinak na temeljni promjer. FMD brahijalne arterije smanjio se od 8,1±0,6 na 2,1±1,0% (P=0,0002) nakon kontrolnog ronjenja. Dvadesetičetiri sata nakon prvog ronjenja FMD je iznosio 5,1±0,8%, što je bilo značajno smanjeno u odnosu na temeljnu vrijednost (P=0,005). Akutni antioksidanti spriječili su daljnje smanjenje FMD nakon drugog ronjenja (5,4±1,1%) i taj je odgovor bio značajno drugačiji od onoga nakon prvog ronjenja (P<0,0001). Vršni protok i protok 5 s nakon okluzije nisu bili promijenjeni nakon ronjenja. Smanjenje FMD nakon kontrolnog ronjenja bilo je u značajnoj korelaciji s povećanjem RV-ESV (γ=-0,84x – 0,88; r=-0,90, P=0,005), a slični, ali neznačajni učinak opažen je za povećanje RV-EDV (P=0,067).

Tablica 2. Funkcija brahijalne i pulmonalne arterije u ronilaca prije i poslije kontrolnog zarona i zarona s akutnom primjenom antioksidantnih vitamina u nerandomiziranom pokusu. Vrijednosti su aritmetičke sredine ± SD, *P<0,05 u usporedbi prije i nakon zarona, † p<0,05 u usporedbi prije kontrolnog zarona i prije zarona s C i E antioksidantima.

	Kontrolni zaron		**C i E zaron**	
	prije zarona	**poslije zarona**	**prije zarona**	**poslije zarona**
Broj venskih mjehurića				
20 min (mjehurića/cm^2)	0	1,46±1,41	0	1,28±1,54
20 min kašalj (mjehurića/cm^2)	0	2,32±1,47	0	1,36±1,49
Brahijalna arterija				
Bazalni dijametar (mm)	4,16±0,57	4,20±0,62	4,24±0,62	4,26±0,63
FMD (%)	8,05±1,75	2,13±1,01 *	5,09±0,75 †	5,42±1,08
Vršni protok (mL/min)	773,5±313,0	752,2±378,8	885,7±389,7	859,6±324,5
Prosječni protok tijekom 5 s (mL/min)	708,2±302,3	697,0±360,4	817,6±372,1†	812,4±320,1
Sila smicanja (s^{-1})	89,1±30,2	83,1±28,9	93,6±33,7	91,4±30,6
Plućna arterija				
AccT (ms)	139,4±12,4	120,0±8,8 *	135,2±6,4	117,1±57 *
RVET (ms)	333,0±15,6	356,0±26,2*	336,3±15,7	349,0±16,9 *
AccT/RVET	0,42±0,04	0,34±0,03 *	0,40±0,03 †	0,34±0,01 *

Protokol 2. U protokolu 2. antioksidantni vitamini nisu mijenjali bazalne promjere brahijalne arterije prije ronjenja. Srednji promjer brahijalne arterije pokazao je

značajno povećanje nakon ronjenja bez antioksidantnih vitamina (P=0,028), ali nije bilo promjene u ronjenju s antioksidantima (tablica 3.). FMD brahijalne arterije se smanjio od 8,1±1,5 na 2,5±0,7 (P=0,028) nakon ronjenja bez antioksidantnih vitamina. Ostao je smanjen tijekom idućih dva dana i na osnovnu se vrijednost vratio tek trećega dana. Kada se ronilo s vitaminima C i E, FMD je bio značajno smanjen od 7,7±0,9 do 5,6±0,9 (P=0,028).



Slika 8. Dilatacija posredovana protokom (FMD) u razdobljima prije i poslije ronjenja (30 min, 24 h, 48 h i 72 h) za kontrolno ronjenje (A) i ronjenje nakon primjene antioksidansa (B) u protokolu 2

To je smanjenje manje od smanjenja u ronjenju bez antioksidantnih vitamina (P=0,0039); vrijeme oporavka za FMD bilo je unutar 24 h (sl.8). Vrijednosti korigiranog FMD (uzimajući u obzir razinu stresa smicanja) dalo je slične rezultate.

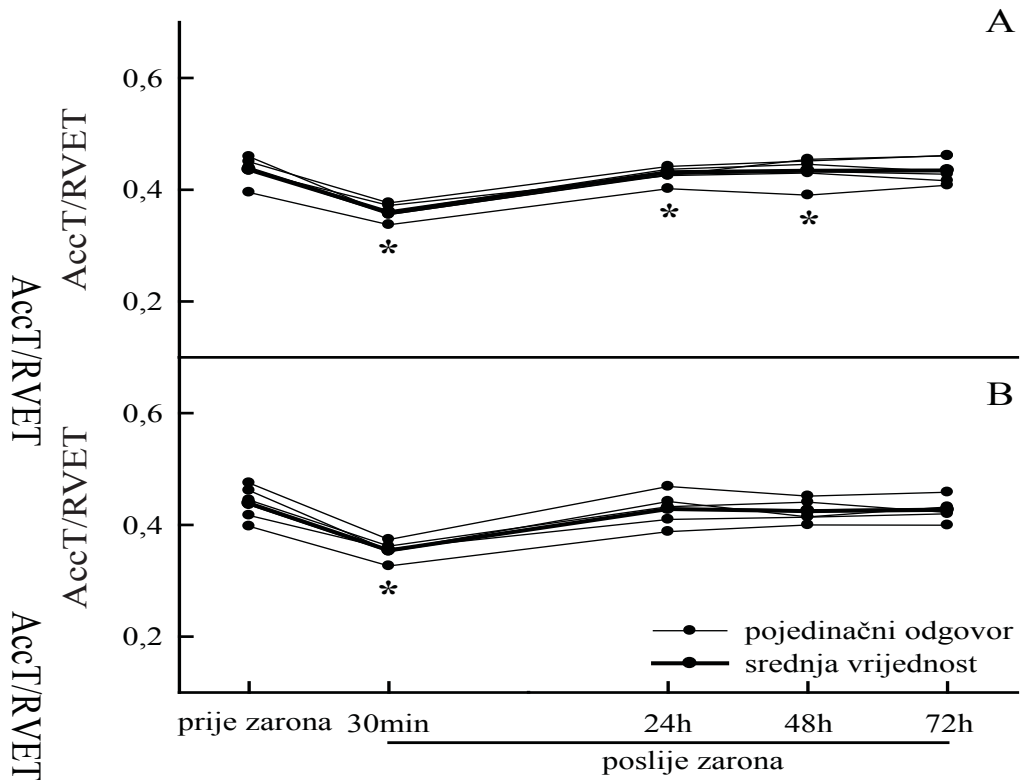
Tablica 3. Funkcija brahijalne i pulmonalne arterije u ronilaca prije i nakon kontrolnog ronjenja i ronjenja s akutnom primjenom antioksidanata u randomiziranom protokolu (protokol 2). Vrijednosti su aritmetičke sredine ± SD, *P<0,05 u usporedbi prije i nakon zarona, † p<0.05 u usporedbi prije kontrolnog zarona i prije zarona s C i E antioksidantima.

	Kontrolni zaron		**C i E zaron**	
	prije zarona	**poslije zarona**	**prije zarona**	**poslije zarona**
Broj venskih mjehurića				
20 min (mjehurića/cm^2)	0	0,83±1,35	0	0,23±0,38
20 min kašalj (mjehurića/cm^2)	0	0,99±1,30	0	0,70±1,37
Brahijalna arterija				
Bazalni di-jametar (mm)	4,50±0,34	4,62±0,37*	4,50±0,34	4,52±0,37
	24h	4,53±0,37		4,50±0,34
	48h	4,50±0,34		4,50±0,34
	72h	4,50±0,34		4,50±0,34
FMD (%)	8,11±1,51	2,49±0,67*	7,72±0,94	5,62±0,92*
	24h	5,57±1,12*		7,55±0,73
	48h	6,49±1,95*		7,70±0,91
	72h	7,57±0,98		7,74±0,94
Plućna arterija				
AccT/RVET	0,44±0,03	0,35±0.02*	0,44±0,02	0,36±0,01*
	24h	0,43±0,03*		0,43±0,01
	48h	0,42±0,02*		0,43±0,02
	72h	0,43±0,02		0,43±0,02

Tlak pulmonalne arterije

Protokol 1. U ovom protokolu odnos vremenskog intervala između početka i vršne brzine protoka krvi preko zaliska plućne arterije (AccT) i vremenskog intervala između početka i kraja sistoličkog protoka krvi preko zaliska plućne arterije (RVET) značajno se smanjio od 0,42±0,04 do 0,34±0,03 (P=0,003) nakon kontrolnog ronjenja (tablica 2.). Dvadesetičetiri sata nakon ronjenja odnos AccT/RVET bio je još uvijek značajno niži od vrijednosti prije zarona (0,4±0,03, P=0,018). Drugo je ronjenje uzrokovalo značajno smanjenje AccT/RVET od 0,4±0,03 do 0,34±0,01 (P=0,0001). Taj se odgovor nije razlikovao od onoga nakon prvog ronjenja upućujući da nije

bilo učinka antioksidanta (P=0,43). Za oba ronjenja smanjenje AccT/RVET bilo je uzrokovano sličnim smanjenjem AccT i povećanjem RVET (tablica 2.).



Slika 9. Promjene odnosa AccT/RVET (za procjenu srednje promjene PAP) u razdoblju prije ronjenja i poslije ronjenja (30 min, 24 h, 48 h i 72 h) za kontrolno ronjenje (A) i ronjenje nakon primjene antioksidanta (B) u protokolu 2.

Smanjenje AccT/RVET nakon kontrolnog ronjenja bilo je u korelaciji sa smanjenjem ejekcijske frakcije RV (RV-EF) (γ=-1,9x + 63,4; r=0,85; P=0,003). Broj mjehurića nakon kontrolnog ronjenja nije bio u korelaciji sa smanjenjem Acct/RVET (P=0,077) ukazujući da nema povezanosti s povećanjem PAP.

Protokol 2. Odgovori u protokolu 2 slijedili su s velikom sličnošću rezultate iz protokola 1 (podatci su prikazani u tablici 3.). Kako je razdoblje praćenja u protokolu 2 trajalo 3 dana, uočili smo statističku razliku u vremenu potrebnom za oporavak između ronjenja s vitaminima C i E i bez njih. Dok je trebalo 3 dana da se odnos Acct/RVET vrati na vrijednost prije zarona kada se nije primijenilo antioksidantnu terapiju, primjena antioksidantnih vitamina skratila je razdoblje oporavka na 1 dan (sl. 9.).

Srčani volumeni i funkcija srca

Protokol 1.

Srčani minutni volumen (CO) bio je slično smanjen nakon oba ronjenja zbog istodobnog sniženja udarnog volumena (SV) i frekvencije srca (HR) (tablica 4.). Antooksidansi nisu uzrokovali promjenu toga odgovora i sva su se tri parametra (CO, SV i HR) vratila na osnovne vrijednosti prije drugoga ronjenja.

Svi su ronioci pokazali značajno povećanje RV-EDV i RV-ESV nakon oba ronjenja, što ukazuje da antioksidanti nemaju učinka. Dvadesetičetiri sata nakon kontrolnog ronjenja RV-ESV bio je značajno viši od temeljne vrijednosti (P=0,001), dok je nađena neznačajna slična promjena u RV-EDV (P=0,06). RV-EF se smanjio od 63,3±3,8 na 60,2±3,2% nakon prvog ronjenja (P=0,03) i od 61,2±3,3% na 59,1±3,6% nakon drugog ronjenja (P<0,0001).

Tablica 4. Srčani volumeni i funkcija srca u ronilaca prije i nakon kontrolnog ronjenja i ronjenja s akutnom primjenom antioksidanata u nerandomiziranom protokolu (protokol 1). Vrijednosti su aritmetičke sredine ± SD, *P<0,05 u usporedbi prije i nakon zarona, † p<0,05 u usporedbi prije kontrolnog zarona i prije zarona s C i E antioksidantima.

	Kontrolni zaron		**C i E zaron**	
Lijevo srce				
Minutni volumen (L/min)	5.58±1,06	4,25±0,64 *	5,61±1,0 2	4,39±0,71 *
Srčana frekvencija (bpm)	59,7±4,1	54,1±5,0 *	61,0±3,1	54,6±3,1 *
Udarni volumen (mL)	93,2±14,4	78,5±8,7 *	91,6±13,5	80,2±10,3 *
LV-EDV (mL)	145,6±19,3	140,8±18,6	148,0±19,3	147,9±19,2
LV-ESV (mL)	52,5±6,5	66,6±14,4 *	54,0±7,1	65,2±8,3*
LV-EF (%)	63,8±2,8	55,9±2,9 *	62,8±3,1 †	55,2±1,6 *
LV-IVS promjena (%)	32,3±12,7	13,9±6,4 *	28,9±5,4	15,6±10,0 *
LV-PW promjena (%)	49,5±10,4	35,0±10,4 *	43,7±11,3	34,9±10,5 *
EndoFS (%)	35,1±2,2	29,5±1,6 *	34,4±2,3 †	9,0±1,1 *
Desno srce				
RV-EDV (mL)	58,5±17,7	64,0±17,5 *	61,8±17,2	66,8±17,7 *
RV-ESV (mL)	21,8±7,4	25,3±7,0 *	23,8±6,5 †	27,1±6,9 *
RV-EF (%)	63,3±3,8	60,2±3,2 *	61,2±3,3 †	59,1±3,6 *

Opažena promjena u RV-EF nije se razlikovala u dva ronjenja (P=0,39). RV-EF nakon prvog ronjenja bio je još nakon 24h 3% ispod temeljne vrijednosti (P=0,03) (tablica 4.). LV-ESV se povisio nakon kontrolnog i nakon eksperimentalnog ronjenja (P=0,02 i 0,0007), dok je LV-EDV bio nakon oba ronjenja nepromijenjen (tablica 4.). LV-EF se značajno smanjio od 63,8±2,8 na 55,9±2,9% nakon kontrolnog ronjenja (P=0,0007) i od 62,8±3,1 na 55,2±1,6% nakon ronjenja s antioksidantima (P=0,0003). Dvadesetičetiri sata nakon kontrolnog ronjenja LV-EF bio je još uvijek smanjen ispod temeljne vrijednosti (P=0,04), dok je LV-ESV bio neznačajno povećan (P=0,08). Regionalni pokazatelji kontraktiliteta LV (razlika debljine interventrikularnog septuma pri kraju sistole naprama kraju dijastole, IVS Δ) i razlika debljine stražnje stjenke LV pri kraju sistole naprama kraju dijastole, LV-PW Δ) te globalni pokazatelji kontraktilnosti (endokardno frakcijsko skraćenje, endoFS) bili su značajno smanjeni nakon oba ronjenja osim neznačajnog smanjenja LP-PW Δ nakon drugog ronjenja (P=0,09). Dvadesetičetiri sata nakon prvog ronjenja, endoFS je još uvijek bio značajno smanjen ispod temeljne vrijednosti (P=0,04), dok je nađena neznačajna promjena LP-PW Δ (P=0,06). Akutna primjena antioksidanata nije utjecala na promatrane odgovore u volumenima LV i funkcionalnim parametrima. Visoki indeks mase LV nađen je u svih sedam ronilaca s prosječnom vrijednošću od 260 g, što ukazuje na adaptaciju poput sportskog srca zbog redovitih fizičkih aktivnosti tih profesionalnih vojnih ronilaca.

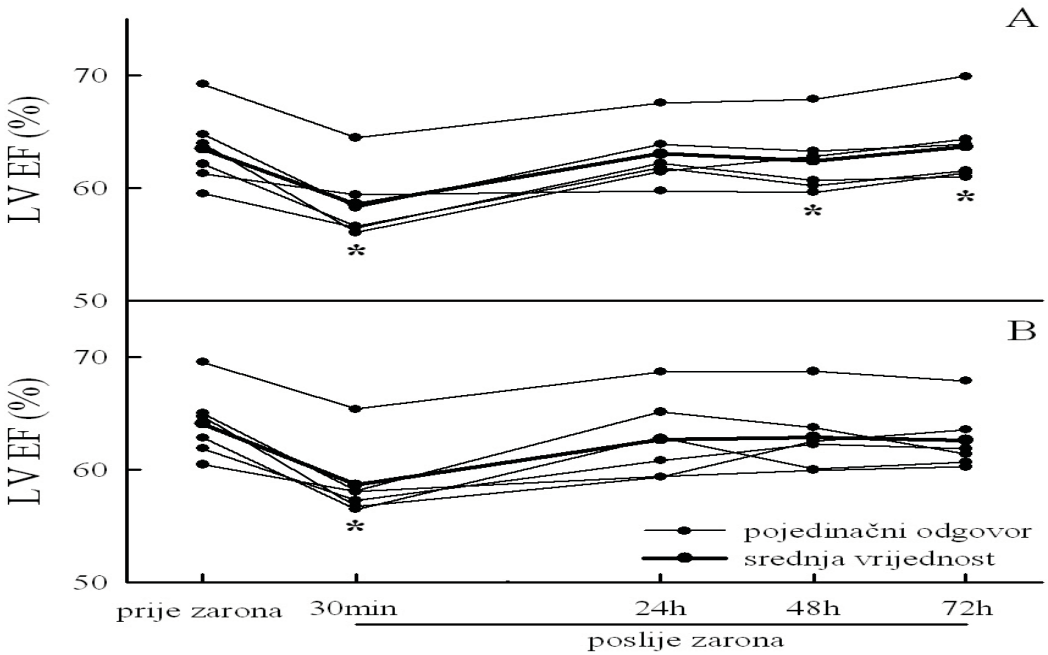
Protokol 2.

Odgovori u CO, SV i HR bili su slični između protokola 1 i 2 (podatci u tablici 5.). RV-EF se smanjio u oba zarona (s antioksidantima i bez njih). Međutim, trodnevno motrenje ronilaca pokazalo je da se smanjenje sistoličke funkcije lijevog ventrikla nije poboljšalo nakon korištenja vitamina C i E, što je trajalo sve do drugog dana (tablica 5.).

Tablica 5. Volumeni srčanih kaviteta u ronilaca prije i poslije kontrolnog zarona, te zarona s akutnom primjenom antioksidanata u randomiziranom pokusu. Vrijednosti su aritmetičke sredine ± SD, *P<0,05 u usporedbi prije i nakon zarona, † p<0,05 u usporedbi prije kontrolnog zarona i prije zarona s C i E antioksidantima.

	Kontrolni zaron		**C i E zaron**	
	prije zarona	**poslije zarona**	**prije zarona**	**poslije zarona**
Lijevo srce				
Minutni volumen	5,44±0,79	4,54±0,58*	5,53±0,68	4,59±0,53*
	24h	5,28±0,78		5,41±0,82
	48h	5,42±0,64		5,31±0,73
	72h	5,38±0,63		5,44±0,70
Udarni volumen	85,94±12,9	81,08±10,50	85,65±11,34	81,30±10,23*
	24h	84,50±12,81		84,86±13,04
	48h	84,14±11,52		84,18±11,81
	72h	83,98±11,14		85,37±12,13
LV-EDV (mL)	134,09±19,27	138,49±19,29*	135,18±19,11	139,18±19,02*
	24h	134,69±18,43		135,10±20,70
	48h	134,07±19,42		134,96±18,85
	72h	134,37±19,30		134,30±19,78
EndoFS (%)	35,08±2,65	31,26±2,41*	34,42±2,95	31,07±2,19*
	24h	34,17±2,82		34,32±2,22
	48h	34,14±2,63*		34,04±2,21
	72h	34,03±2,18		34,67±2,81
Desno srce				
DV-EF (%)	61,65±3,07	55,69±2,60*	61,43±2,80	55,82±2,08*
	24h	60,58±3,79*		59,98±2,94*
	48h	61,03±3,28		61,37±2,72
	72h	61,33±2,61		61,88±2,93

LV-ESV i LV-EDV bili su povećani nakon ronjenja u obim skupinama, a vratili su se na temeljne vrijednosti prije idućeg dana (tablica 5.). Biljezi sistoličke funkcije lijevog ventrikla, tj. LV-EF i endoFS smanjili su se u ronjenjima bez davanja i s davanjem antioksidanata (tablica 5. i sl. 10.). Pri ronjenjima bez primjene vitamina C i E, sistolička funkcija lijevog ventrikla pokazala je statističku razliku u odnosu na bazalnu vrijednost tijekom svih triju dana promatranja. Akutna primjena antioksidanata ubrzala je oporavak sistoličke funkcije lijevog ventrikla (tablica 5. i sl. 10.).



Slika 10. Promjena sistoličke funkcije lijevoga ventrikla (LV-EF) u razdoblju prije i poslije ronjenja (30 min, 24 h, 48 h i 72 h) pri kontrolnom ronjenju (A) i ronjenju nakon primjene antioksidanata (B) u protokolu 2.

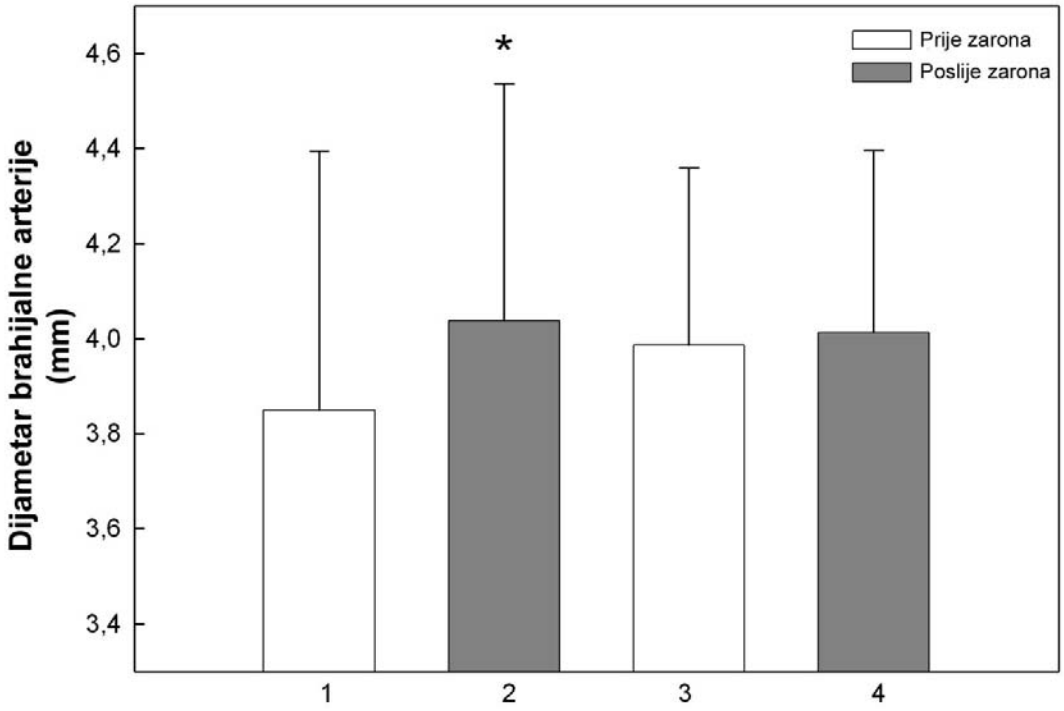
5.3. Utjecaj primjene vitamina C i E uz razdoblju od četiri tjedna na endotelnu funkciju krvnih žila tijekom ronjenja sa komprimiranim zrakom

Svih je osam ronilaca (n=8) uspješno završilo oba ronjenja bez bilo kojeg simptoma dekopresijske bolesti. Jedan sudionik nije pokazivao mjehuriće tijekom 40 min mirovanja u oba ronjenja, dok je u ostalih sedam taj tip ronjenja proizveo umjereno opterećenje mjehurićima u oba slučaja (srednji stupanj mjehurića u oba ronjenja). Prosječni broj venskih mjehurića na kvadratni centimetar na desnoj strani srca tijekom čitavog razdoblja promatranja nakon prvog ronjenja iznosio je 0,6±1,2, a nakon drugog ronjenja 0,9±1,3. Mjehurići nisu primijećeni u lijevom ventriklu ukazujući da nije bilo velikog otvorenog foramena ovale ili nastanka I-P skretanja (shunting).

Procjena endotelne funkcije nadlaktične arterije

Temeljni prosječni promjer brahijalne arterije:

Srednji promjer brahijalne arterije se povećao od kontrolne vrijednosti 3,85±0,55 mm na 4,04±0,5 mm nakon prvog ronjenja (sl. 11.) (P=0,001) u skladu s našim prethodnim nalazima. Sami antioksidanti nisu imali značajni učinak na kontrolni promjer. Ronjenje s antioksidantima nije uzrokovalo dodatnu vazodilataciju (3,99±0,37 *vs* 4,01±0,38 mm).



Slika 11. Promjene promjera brahijalne arterije za sve ronioce (N=8) prije i poslije ronjenja za kontrolno ronjenje (1,2) i ronjenja nakon primjene antioksidanata (3,4). Vrijednosti su aritmetičke sredine±standardne devijacije. * značajna razlika 1 vs 2 (P=0,001).

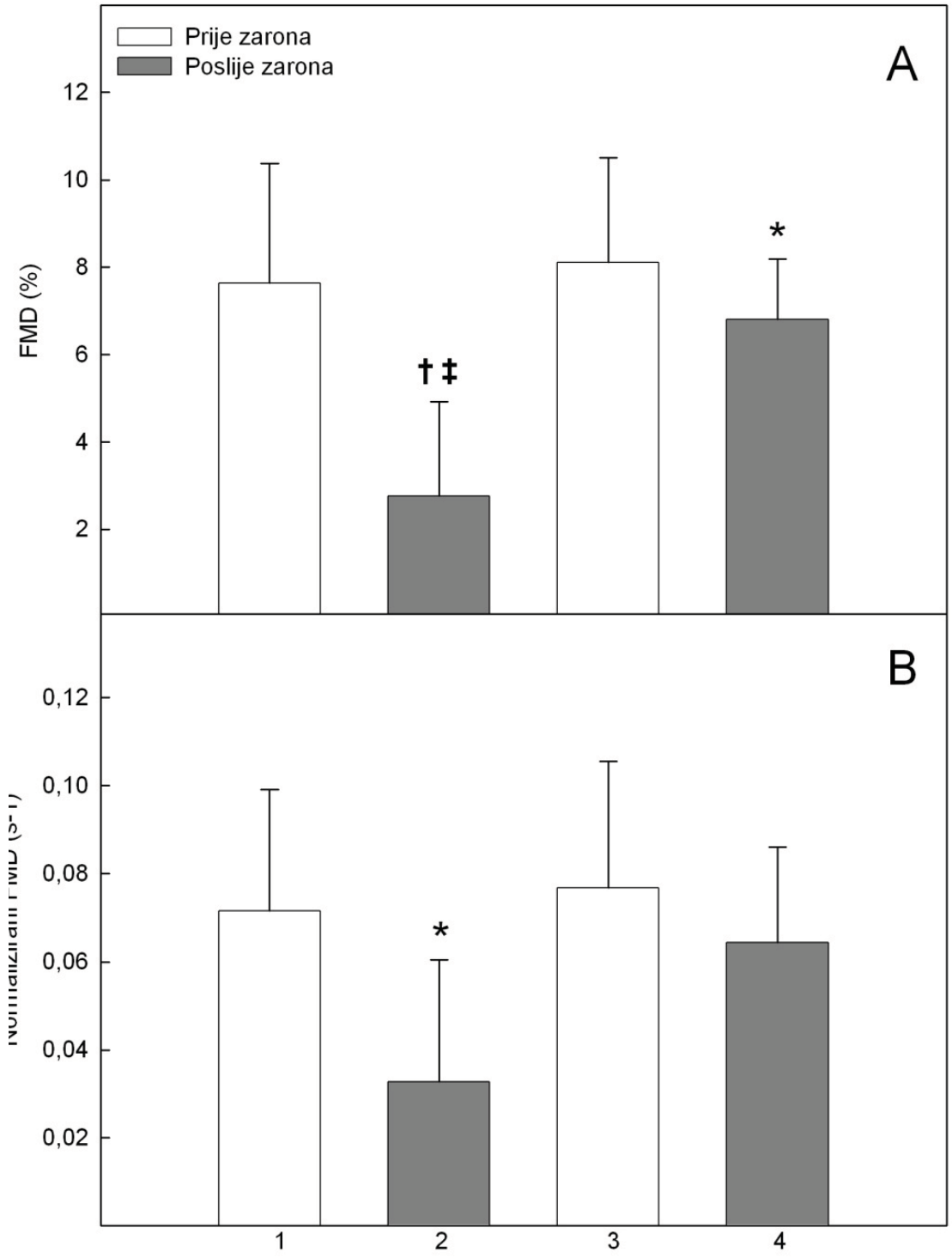
Vaskularna funkcija ovisna i neovisna o endotelu

FMD brahijalne arterije bio je značajno smanjen od 7,6±2,7 na 2,8±2,1% (P=0,0008) nakon prvog ronjenja (bez antioksidanata) (sl. 12.). Davanje antioksidanta tijekom 4 tjedna nije značajno promijenilo FMD prije ronjenja (P=0,8). Drugo ronjenje (s antioksidantima) značajno je smanjilo FMD od 8,11±2,4 na 6,8±1,4% (P=0,044); međutim, smanjenje FMD bilo je značajno manje s antioksidantima (P=0,0002) nego bez njih. Slični su odgovori zabilježeni za vrijednosti FMD pri prvom ronjenju, a smanjenje vrijednosti FMD nakon drugog ronjenja nije bilo značajno (P=0,088).

Čini se da postoji obrnuta povezanost između nastajanja mjehurića i smanjenja FMD. Praćenjem kontrolnog ronjenja, ronioci bez mjehurića ili s nekoliko mjehurića (stupnjevi 0 i 1) imali su smanjenje FMD od 84%, dok su oni s više mjehurića imali smanjenje od 7%. Ta je razlika značajna (P=0,03). Isti je trend opažen nakon antioksidanata, ali ta razlika nije bila značajna (P=0,1). Funkcija glatkih mišića žila, ocijenjena nitroglicerinom (dilatacija neovisna o endotelu) bila je normalna i nepromijenjena nakon obih ronjenja (12,7% odnosno 12,8%).

Vršna i 5-sekundna srednja reaktivna hiperemija i brzina smicanja

Vršni protok i 5-sekundni protok nakon okluzije i brzina smicanja bili su nepromijenjeni prije i nakon obih ronjenja (s antioksidantima i bez njih) (tablica 6) za sve ronioce (N=8). Ni u jednom ronjenju frekvencija srca nije se značajno promijenila.



Slika 12. Dilatacija posredovana protokom (FMD) i standardizirana FMD na brzinu smicanja prije ronjenja i poslije ronjenja za kontrolno ronjenje (1,2) i ronjenje nakon primjene antioksidanata (3,4) za sve ronioce (N=8). Vrijednosti su aritmetičke sredine±standardne devijacije. Panel A: †Značajna razlika 1 *vs* 2 (P=0,0008); ‡ značajna razlika za delta 1-2 *vs* 3-4 (P=0,0002);*značajna razlika 3 *vs* 4 (P=0,044). Panel B: *Značajna razlka 1 *vs* 2 (P=0,0003).

Tablica 6. Protok krvi kroz brahijalnu arteriju nakon okluzije i brzine smicanja prije i nakon dugotrajnog davanja antioksidanta. Vrijednosti su aritmetičke sredine±standardna devijacija

	Kontrolno ronjenje N=8		**Ronjenje nakon antioksidanata N=8**	
	prije	poslije	prije	poslije
Vršni brahijalni krvni protok(mL/min)	736,3±183,0	734,7±220,2	827,6±175,3	61,4±157,1
5-sekundni prosječni krvni protok (mL/min	680,1±178,6	705,6±213,4	771,6±190,1	822,9±148,8
Vršna brzina smicanja (s)	119,0±20,5	109,0±31,2	120,2±28,6	120,4±30,8
5-sekundna prosječna brzina smicanja (s)	108,4±20,0	101,3±30,6	113,0±28,4	112,8±31,1

5.4. Prikaz slučaja intrapulmonalnog skretanja (shunting) venskih plinskih mjehurića za vrijeme tjelovježbe nakon zarona na komprimirani zrak

Vojni ronilac, zdravi 41-godišnji muškarac bio je ispitanik u eksperimentalnom protokolu iz kojega je bio isključen nakon što uočila prisutnost venskih plinskih mjehurića u lijevom srcu. Indeks tjelesne mase mu je iznosio 25,1 kg/m^2, visina 1,86 m, a indeks tjelesne masti 15,3 (tjelesna mast/kg%, metoda mjerenja na tri mjesta prema Jacksonu i Pollocku). Imao je znatno ronilačko iskustvo koje se sastojalo od 2 000 sati ronjenja na zrak i kisik. Nikada u prošlosti nije bio liječen od DSC i smatra se da nije nikada imao bilo kakav simptom DSC. Njegov maksimalni primitak kisika (VO_{2max}) i maksimalna srčana frekvencija (HR_{max}) izmjereni prije eksperimenta na bicikl ergometru (Marquette Hellige Medical Systems 900 ERG, Milwaukee, SAD) bili su 42,3 mL/kg/min i 178 otkucaja/min. Ispitanika se ocijenilo prije i nakon tri ronjenja u moru (u razmaku od tri dana) u ronilačkom odijelu do dubine od 30 m tijekom razdoblja od 30 min.

Tablica 7. Stupanj nastajanja mjehurića (BG) za sva tri različita uronjavanja 20 i 40 minuta nakon dolaska na površinu

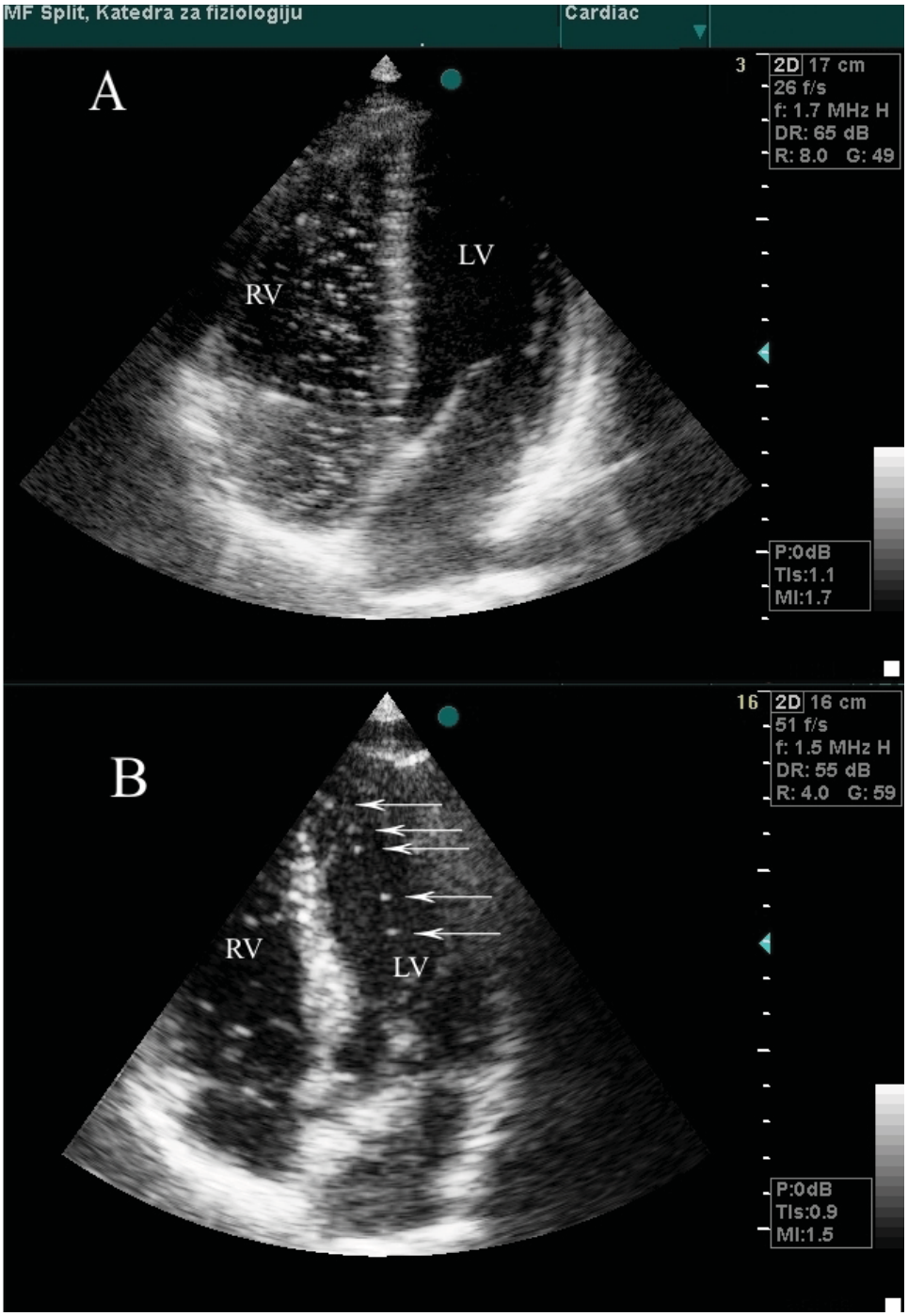
Zaron br.	BG 20 nakon izrona	BG 40 nakon izrona
1.	4	4
2.	4	4
3.	4/5	4/5

Nastajanje venskih mjehurića nakon sva tri zarona bilo je značajno, u rasponu

od 4 do 4/5 (tablica 7.). Međutim, stupanj nastajanja mjehurića dosegao je najvišu vrijednost (4/5) nakon zadnjeg uronjavanja (sl. 13., prikaz A). Prijelaz mjehurića u lijevo srce opazilo se samo tijekom zadnjih stadija opterećenja i u položaju na leđima odmah nakon prestanka vožnje bicikla, s najvišim stupnjem stvaranja mjehurića 4/5 (sl. 1, prikaz B). AccT/RVET smanjio se od 0,44 prije ronjenja na 0,30 (uronjavanje br. 2) i 0,27 (uronjavanje br. 3) upućujući na povišenje srednjega PAP.

Ovo je prvi slučaj pri kojem smo našli elemente I-P skretanja tijekom opterećenja nakon ronjenja i taj stupanj stvaranja mjehurića 4/5 bio je najveći ikada viđen u našem laboratoriju nakon motrenja više od 150 ronjenja u različitim uvjetima. Možemo zaključiti da je rizik od intrapulmonalnog prijelaza u mirovanju i tijekom blagog opterećenja nakon ronjenja prilično nizak i događa se samo pri vrlo visokom stupnju stvaranja mjehurića.

U cilju ocjene mogućeg prolaza mjehurića venskog plina kroz PFO (otvoreni foramen ovale), nakon nekoliko smo dana učinili detaljni pregled roniočeva srca transezofagealnom ehokardiografijom. Ispitanik je pregledan u lijevom bočnom položaju uz uporabu kontrasta i bez njega, da bi se bolje prikazalo integritet atrijskog septuma i odsutnost prijelaza kontrastnih mjehurića preko septuma. Tijekom kontrastne transezofagealne ehokardiografije ispitanik je učinio Valsalvin manevar. Ta pretraga nije ukazala na desno-lijevo srčano skretanje.



Slika 13. Ehokardiografski prikaz četiri srčane šupljine koji predstavlja venske plinske mjehuriće (4/5 stupnja) desne klijetke (RV) na A dijelu slike u razdoblju od 20 minuta nakon izranjanja. B dio slike pokazuje prelazak venskih plinskih mjehurića (strjelice) s desne na lijevu stranu srca (LV – lijeva klijetka) za vrijeme većih stupnjeva opterećenja na biciklergometru

6. RASPRAVA

6.1. Utjecaj ronjenja na komprimirani zrak na pojavu mjehurića inertnog plina u venskoj cirkulaciji, na vrijednosti arterijskog tlaka i krvožilnog otpora u plućnoj arteriji, te na funkciju desnog srca

Prilikom ronjenja na komprimirani zrak vrijednosti PAP i SPAP povećali su se s jednim zaronom na dubinu od 30 metara. Povećanje vrijednosti PAP i SPAP bilo je praćeno s povećanjem volumena na kraju dijastole i sistole desne klijetke te neznačajnim smanjenjem ejekcijske frakcije. Taj je nalaz u suprotnosti s rezultatima sličnog istraživanja provedenog u hiperbaričnoj komori (55;23) u simuliranim uvjetima. Zaroni na komprimirani zrak povezani su s hiperoksemijom, povećanom gustoćom plina udisanja, dekompresijskim stresom, mogućom formacijom venskih plinskih mjehurića, te mogućom posljedičnom mikroembolizacijom. Dodatni čimbenici koji se mogu uzeti u obzir prilikom zarona na komprimirani zrak su samo uranjanje, opterećenje dišnog sustava, veći stupanj tjelesne aktivnosti, te izlaganje hladnoći. Zaroni u hladnoj morskoj vodi mogu uzrokovati perifernu kožnu vazokonstrikciju, te zajedno s utjecajem uranjanja, utjecati na veću centralizaciju krvotoka nego u ronjenju u simuliranim uvjetima u barokomori. Unos i eliminacija inertnog plina ovisni su o protoku krvi tijekom ronjenja. Tjelesna aktivnost tijekom faze zarona na dubini povećava količinu plina otopljenog u tkivima, jer tjelesna aktivnost i uranjanje induciraju tijekom zarona povećanje udarnog volumena. U ovom istraživanju, ronioci su izveli laganu tjelesnu aktivnost (30% VO_{2max}) u početnoj fazi ronjenja kako bi simulirali radne uvjete koji bi mogli dovesti do povećanja unosa plina.

6.1.1. Mehanizmi povećanja sistoličke i srednje vrijednosti krvnog tlaka

U ovoj studiji PAP je procijenjen pomoću dviju neinvazivnih metoda koristeći kontinuiranu ili pulsnu dopler ehokardiografiju (47). Zaroni na komprimirani zrak doveli su do povećanja sistoličkog i srednjeg PAP-a za oko 30% nakon samo jednog ronjenja. Ti se rezultati razlikuju od onih uočenih u prethodnim istraživanjima u kojima

su se koristili zaroni u simuliranim uvjetima hiperbarične komore (23) ili hipobarični protokoli (56), gdje nije bilo zamijećeno povećanje tlaka. Nije se očekivalo da bi porast PAP i SPAP mogao uzrokovati ikakve kliničke simptome, imajući na umu velike funkcionalne rezerve u plućnoj cirkulaciji i dobro aerobno kardiovaskularno stanje ispitanika. Trenutno nije poznat mehanizam koji uzrokuje povećanje PAP i SPAP nakon samo jednog zarona na komprimirani zrak.

Iako zaroni na komprimirani zrak mogu uzrokovati povećanje PAP nakon ronjenja, naša su istraživanja pokazala da formiranje venskih plinskih mjehurića nakon zarona igra manju ulogu. Točan mehanizam povećavanja SPAP nakon ronjenja i dalje ostaje nejasan. Venski plinski mjehurići koji ulaze u plućnu cirkulaciju mogu prouzročiti mehaničke, humoralne i biokemijske promjene. Humoralni čimbenici, kao što su tromboksan A_2, histamin, endotelin i serotonin, uključeni su u mjehurićima u plućnu mikroembolizaciju (57;58). Naša skupina, kao i neki drugi autori (7,14); pokazali su da venski mjehurići mogu oštetiti endotel plućne arterije. Povećani PAP i SPAP u ovoj studiji upotpunjuju rezultate eksperimentalnih studija sa sličnim rezultatima (11,59,60) kod proučavanja anesteziranih životinja koja su provođena u simuliranim uvjetima hiperbarične komore. Rezultati ove studije podupiru prethodne studije o promjenama kardioloških parametara koje nastupaju nakon ronjenja na otvorenom moru kod zarona na 39 metara (55) i 30 metara (14). Prethodno smo pokazali da je smanjenje minutnog volumena nakon ronjenja rezultat smanjenja udarnog volumena, zajedno s povećanim perifernim krvožilnim otporom i nepromijenjenim arterijskim tlakom. U ovoj smo studiji uočili slično smanjenje srčanog minutnog volumena za otprilike 20% rabeći drukčiju metodu mjerenja (ehokardiografija naspram ponovnog udisanja (rebreathing) CO_2). U životinjskim modelima, smanjenje srčanog minutnog volumena nakon ronjenja bilo je povezano sa smanjenim venskim punjenjem i povećanim naknadnim opterećenjem desne i/ili lijeve klijetke (zbog povećanog PAP i sistemskog vaskularnog otpora) (60,61). Marabotti i sur. (14) objavili su značajne promjene srčane funkcije dva sata nakon ronjenja u rekreacijskih ronilaca u kojih su se tijekom zarona stvorili venski plinski mjehurići. Smanjenje funkcije lijeve klijetke primijećeno je i u ronilaca u kojih nisu pronađeni venski plinski mjehurići. Primijećeno je da je endotelna funkcija krvnih žila smanjena nakon simuliranog ronjenja u

hiperbaričnoj komori, te se pokazalo da je dijelom posljedica i hiperoksije. Uranjanje u termoneutralnu vodu dovodi do porasta volumena krvi u prsima od otprilike 700 mL (62), a 180 do 240 mL od navedenog volumena pripada volumenima srčanih šupljina (25,63). Udarni se volumen povećava do 50% nakon okomitog uranjanja do razine vrata zdravog pojedinca (63).

To dovodi do povećanja dimenzija desne klijetke, te povećanja vrijednosti PAP i PVR, te u nekim slučajevima može dovesti do nastanka plućnog edema (27). Prema našim saznanjima vrijednosti PAP nisu do sada promatrane prilikom dužeg ronjenja. Primijećeno smanjenje endotelne funkcije krvnih žila nakon ronjenja vjerojatno je prisutno i na endotelu kojim su obložene srčane šupljine nakon zarona. Smanjenje endotelne funkcije srca može biti važan faktor pri srčanom zatajenju (24). Iz navedenog možemo pretpostaviti da uranjanja zajedno s hiperoksijom uz stvaranje venskih plinskih mjehurića uzrokovanih dekompresijom mogu uzrokovati smanjenje endotelne funkcije plućne i sistemske cirkulacije, te smanjenje endotelne funkcije srca.

Istraživanja Eldridga i sur. (9) pokazala su da povećanje tjelesne aktivnosti uzrokuje plućno desno-lijevo skretanje kontrastnog sredstva kod zdravih ljudi, što pokazuje aktiviranje nemanifestnog I-P arterio-venskog šanta. I-P šant je potaknut povećanjem PAP za vrijeme napora i smatra se da ti šantovi mogu djelovati kao paralelna zaštita krvnih žila koja pomaže u održavanju velikog minutnog volumena tijekom tjelesne aktivnosti. Desno-lijevi šant najčešće se potvrđuje uporabom transtorakalne ili transezofagijske ehokardiografije ili transkranijskim doplerom nakon infuzije kontrasta uz Valsavin manevar (64). Valsavin manevar se u praksi često koristi kako bi se povećalo osjetljivost ehokardiografije.

Naime, nakon završetka Valsavinog manevra, povećani venski priliv uzrokuje značajan porast tlaka desne pretklijetke s pomakom intraatrijskog septuma prema lijevo (10). Rezultati ove studije ukazuju da zaron na komprimirani zrak može utjecati negativno na funkciju plućne arterije, povećavajući vrijednosti plućnog arterijskog tlaka i plućnog vaskularnog otpora, te na funkciju desnog srca, povećavajući sistolne i dijastolne volumene desne klijetke.

6.2. Učinci antioksidanata na funkciju srca i endotela krvnih žila u ljudi tijekom zarona na komprimirani zrak

Ova studija ukazuje na tri važne poruke. Prvo, pojedinačni zaron na komprimirani zrak na otvorenom moru povezan je sa smanjenom funkcijom lijevog srca i endotela brahijalne arterije zajedno s povećanjem tlaka plućne arterije u čovjeka. Drugo, nekoliko se kardiovaskularnih funkcionalnih parametara nije povratilo na temeljne vrijednosti 48-72 h nakon ronjenja, što ukazuje na duže trajanje štetnog učinka pojedinog ronjenja. Treće, akutno davanje antioksidanata vitamina C i E smanjuje disfunkciju brahijalnog endotela, dok ne djeluje na smanjenje funkcije srca i pulmonalne arterije nakon ronjenja.

6.2.1. Endotelna funkcija nadlaktične arterije

U ranije provedenim studijama sa zaronima u simuliranim uvjetima u barokomori koji dovode do niskog opterećenja venskim plinskim mjehurićima, ronjenje je uzrokovalo brahijalnu vazodilataciju nakon zarona i smanjenje endotelne arterijske funkcije, što se pripisalo hiperoksiji i nastajanju mjehurića (65). Osim toga, oni ronioci koji su udisali 60 kPa kisika tijekom 80 min imali su značajno povećanje promjera arterije s neznačajnim smanjenjem dilatacije posredovane protokom (66). Drugi su istraživači potvrdili naše nalaze nepromijenjenih vaskularnih odgovora s hiperoksijom u zdravih odraslih osoba. U ovoj je studiji opaženo veće smanjenje FMD nakon ronjenja (74%) nego u našim prethodnim simuliranim ronjenjima (42%). FMD je najvjerojatnije posredovana dušikovim oksidom (NO) što ga proizvode endotelne stanice, jer se taj odgovor može gotovo potpuno poništiti N^w-monometil-L-argininom (L-NMMA), inhibitorom NO oksidaze. Kako su ronioci izloženi tijekom ronjenja hiperoksiji (80 kPa kisika tijekom 30 min), uporaba antioksidanata u cilju poboljšanja disfunkcije endotela izazvane ronjenjem čini se opravdanom. U kasnijoj smo studiji pokazali da je 4-tjedno uzimanje vitamina C oralno (1 g/dan) i E (400 IU/dan), što je doza primjerenija svakodnevnoj preporučenoj dozi uzimanja tih vitamina, spriječilo povećanje promjera žile u mirovanju i značajno reduciralo smanjenje FMD nakon

ronjenja. Nalazi u ovoj studiji, uporabom jedne oralne antioksidantne kombinacije sastavljene od 2 g vitamina C i 400 IJ vitamina E, potvrđuju to opažanje, pokazujući kako jedna doza antioksidantnih vitamina popravlja promjene endotelne funkcije izazvane ronjenjem. Taj je nalaz bio kasnije potvrđen randomiziranom studijom kontroliranom placebom. Naši podatci podupiru hipotezu da oksidativni mehanizmi imaju veliku ulogu u promjenama opaženima nakon jednog zarona na komprimirani zrak.

Dok se čini da hiperoksija ima važnu ulogu u smanjivanju FMD nakon ronjenja, to vjerojatno nije jedini učinak, jer su antioksidanti mogli samo djelomično ukloniti taj učinak. Stvaranje venskih mjehurića možda može imati učinak na arterijsku endotelnu funkciju. Ranije je pokazano istraživanjima na kuniću da će nisko opterećenje mjehurićima dovesti do disfunkcije endotela u plućnoj arteriji između 1 i 6 h nakon ekspozicije mjehurićima plina. Aktivacija endotela u venskoj cirkulaciji proizvodi endotelne mikročestice koje mogu uzrokovati endotelnu disfunkciju na udaljenim mjestima.

Te su mikročestice veličine nekoliko mikrometara i vjerojatno mogu proći kroz plućni filtar i ući u arterijski sistem. Stoga se promjene funkcije arterijskog endotela mogu pojaviti bez direktnog kontakta s mjehurićima. Za napomenuti je da smo u našoj prethodnoj studiji opazili pozitivnu, ali neznačajnu povezanost između smanjenja FMD i nastajanja mjehurića. Kako su te povezanosti temeljene na malo podataka, opažanje treba uzeti s priličnom dozom opreza.

FMD se u našoj sadašnjoj studiji nije vratila na temeljne vrijednosti 24h nakon prvog ronjenja. Prije drugog ronjenja FMD je bila 5,1%, što je još uvijek bilo 37% ispod odgovora prije prvog ronjenja. U sljedećim eksperimentima, FMD nakon ronjenja istraživalo se do 3 dana nakon prvog ronjenja. FMD se oporavila 3 dana nakon ronjenja bez antioksidanata, dok se u ronjenju s antioksidansima to dogodilo mnogo brže, u razdoblju od 1 dana. Kako se većina rekreacijskih ronjenja provodi u višednevnim serijama ronjenja (npr. 4-5 ronjenja u jednom tjednu), bilo bi u budućim studijama zanimljivo istražiti kumulativne negativne učinke ronjenja na funkciju arterijskog endotela. Povećanom oksidativnim stresu odupiru se učinkoviti

antioksidantni obrambeni mehanizmi. Akutni negativni učinci pojedinačnih ronjenja na funkciju endotela mogu biti neutralizirani regulacijom endogenih antioksidantnih mehanizama tako da akutno povećanje oksidativnog stresa i upale i ne mora perzistirati. Za sada je to nepoznanica.

6.2.2. Tlak plućne arterije

Ova studija potvrđuje prethodne nalaze povećanog PAP iskusnih ronilaca nakon samo jednog zarona u moru do 30 m dubine (55). Ta se opažanja razlikuju od onoga što se vidjelo u prethodnim studijama uz uporabu simuliranog hiperbaričnog ili hipobaričnog protokola, u kojem se nije moglo opaziti povećanje PAP. Povećanje PAP su pratili povećani volumen desnog ventrikla pri kraju dijastole i pri kraju sistole i smanjena ejekcijska frakcija te minutni volumen srca. Za sada nije poznat mehanizam koji uzrokuje povećanje PAP i plućnog vaskularnog otpora (PVR) nakon samo jednog zarona na komprimirani zrak. Hladna morska voda i uranjanje više pojačavaju povećano centralno nakupljanje krvi u torakalnom području. To dovodi do povećanja dimenzija desnog ventrikla i do povećanja PAP i PVR takvog stupnja da u nekim slučajevima mogu čak proizvesti plućni edem. Nastajanje venskih plinskih mjehurića čini se da ima minornu ulogu, jer je nastajanje mjehurića u ovoj studiji bilo umjereno, a u ronilaca su opažena značajna povećanja tlaka. Međutim, mora se imati na umu da je granica otkrivanja venskih plinskih mjehurića vjerojatno na razini 20-30 μm, tako da ipak mogu postojati manji mjehurići, a koji su s našim metodama vizualizacije neuočljivi. Venski plinski mjehurići smješteni u plućnoj cirkulaciji mogu uzrokovati mehaničke, humoralne i biokemijske učinke. Humoralne faktore, kao što su tromboksan A_2, histamin, endotelin i serotonin, dovodi se u vezu s plućnom mikroembolizacijom mjehurićima. Osim toga, nakon ronjenja s dekompresijom zraka nađena je značajna redukcija arterijskog P_{O2}, prosječno oko 20 mm Hg, uz smanjenje difuzijskog kapaciteta pluća za CO. Alveolarna hipoksija je povezana s plućnom vazokonstrikcijom zbog povećanog ulaza kalcija preko receptorskih i skladišnih kalcijevih kanala smještenih u endotelnim šupljinicama.

Endotelne stanice plućnih krvnih žila jedan su od primarnih ciljeva hiperoksičkog inzulta, što dovodi do opsežne vaskularne propusnosti što još više povećava oksidativno oštećenje plućnog tkiva. Kao što je prethodno spomenuto, ronioci su tijekom ronjenja izloženi hiperoksiji. Našli smo da je povećanje PAP bilo isto u ronjenju s oksidantima i bez njih, što ukazuje da oksidativni stres u plućnoj cirkulaciji nije važan čimbenik promjena izazvanih ronjenjem. Međutim, mi smo našli da se PAP nije vratio na vrijednosti prije ronjenja sve do 2 dana nakon ronjenja, što i opet upućuje na učinke dužeg trajanja. Štoviše, taj učinak ne ovisi o venskim plinskim mjehurićima, jer je sličan stupanj mjehurića opažen nakon oba ronjenja. Stoga su vjerojatno uključeni drugi uzroci plućne vazokonstrikcije (humoralni faktori, hipoksija i imerzija).

6.2.3. Srčana funkcija kod zarona na komprimirani zrak

Pokazali smo da je već jedan zaron na komprimirani zrak povezan s akutnim smanjenjima plućne respiracijske funkcije i minutnog volumena srca nakon ronjenja. Smanjenje minutnog volumena srca bilo je uzrokovano smanjenjem udarnog volumena i srčane frekvencije u prisutnosti povećanog sistemskog vaskularnog otpora i nepromijenjenog arterijskog krvnog tlaka. Smanjenje odnosa AccT/RVET nakon kontrolnih ronjenja u ovoj studiji (koja ukazuje na povećanje srednjeg PAP) u negativnoj je korelaciji s ejekcijskom frakcijom desnog ventrikla, što upućuje na povećano akutno naknadno opterećenje desnog ventrikla.

Marabotti i sur. (14) su također našli da je rekreacijsko ronjenje s kisikom povezano s preopterećenjem desnog ventrikla i oštećenjem funkcije LV i RV dva sata nakon ronjenja u ispitanika koji su stvarali venske plinske mjehuriće.

Osim toga, u ronilaca u kojih se nije moglo otkriti mjehuriće, također se moglo vidjeti smanjenje funkcije LV. Četiri sata nakon 1-satnog ronjenja s kisikom na 10 m dubine bio je povišen natriuretički peptid *pro-brain*, što upućuje da ronjenje uključuje mehanički napor za srce, jer se taj peptid koristi kao pokazatelj funkcije ventrikla (67). U životinjskim modelima je smanjenje minutnog volumena srca nakon ronjenja

bilo povezano sa smanjenim venskim vraćanjem i povećanim opterećenjem desnog i/ili lijevog ventrikla (i zbog povećanog PAP i zbog sistemskog vaskularnog otpora). U ovoj smo studiji našli dodatno postojanje sistoličke miokardne disfunkcije LV (smanjenje ejekcijske frakcije i povećanje volumena pri kraju sistole) i smanjenja pokazatelja globalne i regionalne kontraktilnosti. To može biti posljedica smanjenog kontraktiliteta i povećanog naknadnog opterećenja. Opažanje da se smanjenje funkcije srca nakon ronjenja nije vratilo na temeljne vrijednosti nakon 24 h ukazuje na dugotrajnije negativne učinke. To je bilo kasnije prošireno studijom praćenja *(follow-up)* u kojoj smo istraživali kardiovaskularnu funkciju do 3 dana nakon ronjenja s prethodno davanim antioksidantima i bez njih. Većina se kardiovaskularnih parametara vratila na temeljnu vrijednosti unutar 24 h, ali je nekima (npr. FMD, AccT/RVET, LV-EF, endoFS i RV-EF) za to trebalo još 24 h. To bi upućivalo da čak i jedno ronjenje može imati negativne učinke na kardiovaskularnu funkciju koji traju više od jednog dana.

Disfunkcija endotela opažena nakon ronjenja u našim prethodnim studijama i u ovom radu vjerojatno je prisutna i u srcu, jer je smanjenje funkcije endotela važan faktor pri zatajenju srca.

U ovoj je studiji smanjenje FMD nakon kontrolnog ronjenja bilo u značajnoj korelaciji s volumenom desnog ventrikla pri kraju sistole, što upućuje na slične mehanizme. Međutim, akutni negativni učinci ronjenja na srčanu funkciju bili su prisutni i s akutnim antioksidansima, dok to nije bio slučaj s funkcijom arterijskog endotela, što upućuje na druge uzročne mehanizme prolaznog negativnog učinka ronjenja na srčanu funkciju. To bi trebalo istražiti u budućim studijama.

U sažetku, akutni antioksidanti imaju povoljan učinak na funkciju endotela brahijalne arterije nakon ronjenja. Međutim, taj postupak ne smanjuje negativne promjene srčane i plućne arterijske funkcije.

Funkcionalne se promjene kardiovaskularnog sistema nakon ronjenja ne popravljaju unutar 24-72 h nakon jednog ronjenja, što ukazuje na dulje trajanje negativnih učinaka.

6.3. Utjecaj primjene vitamina C i E u razdoblju od četiri tjedna na endotelnu funkciju krvnih žila tijekom ronjenja s komprimiranim zrakom

Glavni nalaz ove studije je da neprekidno uzimanje nižih doza vitamina C i E koje završava 3-4 h prije ronjenja smanjuje poremećaj funkcije endotela nakon zarona na komprimirani zrak. Ta studija, kao i prethodna studija s uporabom znatno više doze, pokazuje da antioksidanti mogu imati profilaktički učinak na poremećaj funkcije endotela nakon ronjenja.

U ovoj je studiji zadnja doza askorbinske kiseline dana 3-4 sata prije zaronjavanja. Učinak koji smo opazili može, stoga, biti dijelom i akutni učinak antioksidanata. Eskurza i sur. (68) su pokazali da je akutna injekcija askorbinske kiseline povećala FMD, dok peroralno davanje 500 mg 72 h prije nije imalo učinka. Gokce i sur. (69) su davali 2 g askorbinske kiseline 2 sata prije ispitivanja i nisu našli razlike između tog načina davanja i 500 mg danog ujutro prije nego je ispitana FMD.

Jackson i sur. (70) su pokazali da su za postizanje značajnog antioksidantnog učinkapotrebne vrlo visoke doze C vitamina, više od onih koje se može postići peroralno. Unatoč tome, Levine i sur. (71) su pokazali da je doza od 2 g preokrenula poremećaj funkcije endotela u razdoblju nakon 2 sata. To ukazuje da osim jednostavnog antioksidantnog učinka ulogu mogu imati i drugi mehanizmi. Ova, kao i prethodna studija, pokazuje da manje doze vitamina C (bliže dnevno preporučenim dozama uzimanja) mogu spriječiti akutni poremećaj funkcije endotela nakon ronjenja.

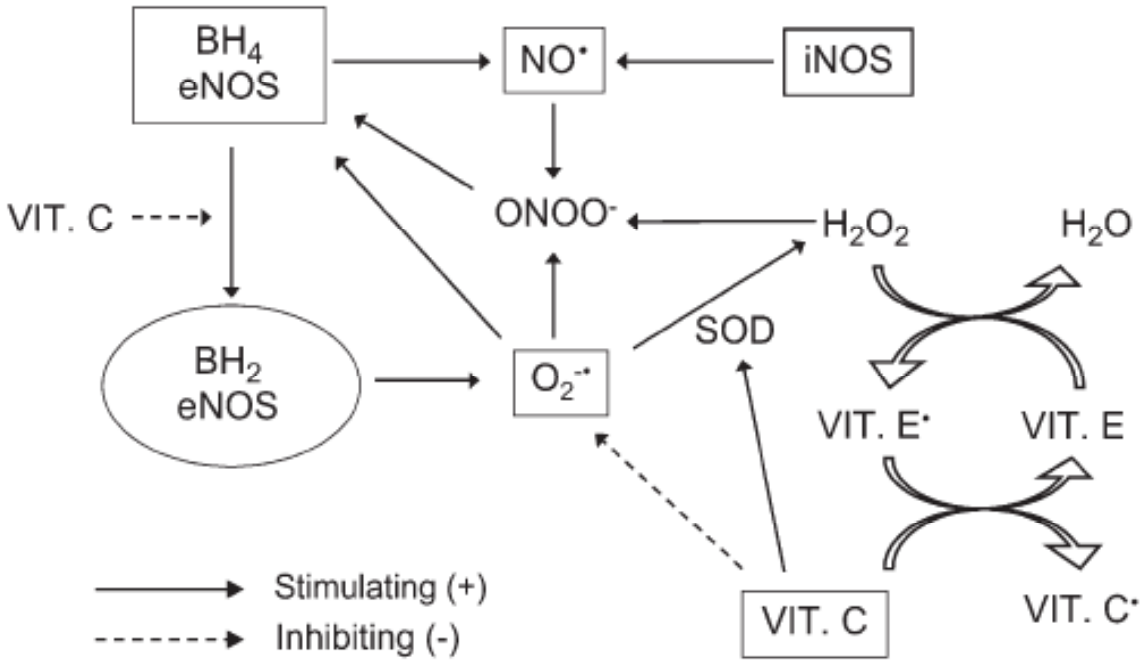
Nalazi ove studije podupiru hipotezu da oksidacijski mehanizmi imaju veliku ulogu u promjenama koje se vide nakon pojedinačnog ronjenja na komprimirani zrak. U ovoj se studiji promjer brahijalne arterije povećao za 5% u usporedbi sa 7% u prethodnoj studiji. Slično povećanje se opazilo nakon udisanja 60% kisika tijekom 80 min, što odgovara izloženosti kisiku ronjenja na 260 kPa tijekom 80 min (65). U ovoj su studiji ronioci bili izloženi kisiku 80-kPa tijekom 30 min *vs* kisika 60-kPa tijekom 80 min u prethodnom ronjenju. To daje «dozu» kisika koja je oko 50% niža u sadašnjem ronjenju nego u prethodnom (72). To je manje od 25% do 50% od doze koja se smatra prihvatljivom za 1-dnevnu ekspoziciju.

Hiperoksija dovodi do vazokonstrikcije i to može djelovati kao otponac za povećano otpuštanje (nastajanje) NO. Mak i sur. (73) su pokazali da je hiperoksička vazokonstrikcija posredovana oksidativnim stresom i da hiperoksija slabi vazodilataciju izazvanu acetilkolinom. Takvi su učinci kisika bili spriječeni vitaminom C, što ukazuje da hiperoksijom dobiveni slobodni radikali oštećuju aktivnost vazoaktivnih čimbenika proizvedenih endotelom (74). Povećano nastajanje NO opaženo je nakon primjene hiperbaričkog kisika, ali povećanje je bilo malo kada se rabio kisik od 100-kPa (75). Nadalje, primjena kisika stimulira stvaranje NO u plućnim endotelnim stanicama (76,77), ali čini se da ima mali učinak na endotelne stanice iz sistemske cirkulacije (77). Ranu vazokonstrikciju u cerebralnoj cirkulaciji prilagođuju eNOS, dok kasna vazodilatacija izazvana hiperoksijom ovisi i o eNOS i o nNOS (78). Naši sadašnji i prethodni podaci (55) upućuju da vazokonstrikcija izazvana hiperoksijom nakon ekspozicije dovodi do vazodilatacije i da se taj učinak može spriječiti uporabom antioksidanata.

Ronjenje na komprimirani zrak kombinira fizičku aktivnost s povišenim tlakom i visokom raspoloživošću kisika, što dovodi do oksidativnog stresa (79). Povećano nastajanje ROS, kao što su anion superoksida (O_2^-) vodikov peroksid (H_2O_2), smanjuje funkciju endotela i stvaranje NO (sl. 14.). Oksidacijski stres smanjuje bioraspoloživost NO, jer O_2^- i H_2O_2 oksidiraju NO u peroksinitrit ($ONOO^-$). Nadalje, O_2^- i $ONOO^-$ mogu oksidirati BH_4, kofaktor eNOS, koji dovodi do odvajanja eNOS. Odvojeni eNOS stvara O_2^- umjesto NO, dodatno povećavajući oksidacijski stres i otežavajući poremećaj funkcije endotela te zatvarajući *circulus vitiosus* (80). Endogene antioksidantne obrane kao što je dismutaza enzima superoksida (SOD), djeluju protiv tog oksidacijskog stresa. Nadalje, pri fiziološkim koncentracijama NO ublažava oksidacijski stres, mehanizam koji se uključivalo u patogenezu hipoksičke plućne hipertenzije (112).

U situaciji oksidacijskog stresa, kao što zaroni na komprimirani zrak, primjena antioksidanata, kao što su vitamini C i E, mogla bi smanjiti oksidacijski stres i posljedično sačuvati endotelnu proizvodnju NO (sl. 3). Vitamin C (askorbinska kiselina) je jaki antioksidant vodene faze, a vitamin E (alfa tokoferol) je jaki antioksidant vezan na stanične membrane u tijelu. Smatralo se da vitamini C i E funkcioniraju

zajedno u reakciji cikličkog tipa, u kojoj vitamin C regenerira (ponovno reducira) vitamin E. Vitamin C dobro djeluje i s antioksidantnim enzimima, kao što je SOD, protiv oksidacijskog stresa u organizmu (82). Sprječavanje oksidacije BH_4 u endotelu moglo bi se postići uzimanjem antioksidantnih vitamina i tako održati proizvodnju NO.



Slika 14. Poremećaj funkcije endotela uzrokovan oksidacijskim stresom. Tijekom oksidacijskog stresa, vrste reaktivnog kisika, poput superoksidnog aniona (O_2^-) i vodikova peroksida (H_2O_2) smanjuju bioraspoloživost dušičnog oksida, jer djeluju s NO stvarajući peroksinitrit prije no što NO može aktivirati topljivu guanil ciklazu i dovesti do vazodilatacije proizvedene endotelom. Nadalje, i $ONOO^-$ i O_2^- oksidiraju tetrahidrobiopterin i odvezuju endotelnu NO sintazu. Otkvačene eNOS proizvodi O_2^- umjesto NO, zatvarajući krug. Intracelularni enzimi kao što je superoksidna dizmnutaza, smanjuju razinu O_2^-. Egzogeni antioksidanti, kao što su vitamini C i E, mogu pomoći protiv oksidacijskog stresa, smanjivanjem O_2^- i H_2O_2, pomažući superoksidnu bismutazu ili sprječavajući oksidaciju tetrahidrobiopterina i otkvačujući eNOS. Nadalje, vitamin C regenerira vitamin E smanjujući njegov oksidirani oblik. BH_4-eNOS-vezana endotelna sintaza dušikova oksida; BH_2-eNOS (nevezana endotelna sintaza dušikova oksida); iNOS – inducirajuća sintaza dušikova oksida; Vit.C-reducirani vitamin C; Vit.C*-oksidirani vitamin C; Vit.E-reducirani vitamin E;Vit. E*-oksidirani vitamin E;NO*-dušikov oksid; ONOO-peroksinitrit;O_2^-*- superoksidni anion; $H_2O_2^-$ vodikov peroksid; SOD-superoksidna dismutaza

U radu McNultyja i sur. primjena vitamina C spriječila je smanjenje brzine koronarnog protoka i povećala koronarni otpor u pacijenata s ishemičkom bolesti srca nakon hiperoksičkog stimulusa (74). Nadalje, primjena egzogenog BH_4 spriječila je poremećaj funkcije endotela u drugom modelu oksidacijskog stresa, ozljede reperfuzijskom ishemijom, u zdravih ljudi (83).

Antioksidanti su značajno ublažili smanjivanje FMD, koje se opaža nakon pojedinačnog ronjenja. U jednoj je studiji dodavanje vitamina C i E u hranu ispitanika tijekom 25 dana u sličnim dozama rabljenima u ovoj studiji, normaliziralo funkciju endotela (84). Međutim, kako u tom radu nije spomenuto kada je dana zadnja doza, to je isto tako mogao biti akutni učinak. FMD najvjerojatnije posreduje NO proizveden endotelnim stanicama, jer se odgovor može gotovo potpuno ukloniti L-NMMA-om (85), a radikali kisika će smanjiti vazodilatantni učinak NO. Danas ima mnogo raspoloživih metoda za ispitivanje funkcije endotela, kao što su intrakoronarna, intraarterijska, pletizmografska istraživanja impedancije i venozna istraživanja te mjerenje FMD brahijalne arterije ultrazvukom (86,87). Pokazalo se da FMD brahijalne arterije korelira s mjerama funkcije koronarnog endotela. Glavna prednost mjerenja FMD brahijalne arterije je neinvazivnost pretrage i mogućnost ponavljanja mnogostrukih ispitivanja u istog pacijenta (86,87). Mak i sur. (73) su pokazali da hiperoksija oštećuje vazodilataciju ovisnu o endotelu mehanizmom slobodnih radikala u zdravih ljudi, a očito da hiperglicemija ima isti učinak (88). Dok hiperoksija ima veliku ulogu u smanjivanju FMD nakon ronjenja, to očito nije jedini učinak, jer antioksidanti mogu taj učinak ukloniti samo djelomično.

Osim smanjivanja bioraspoloživosti NO, oksidacijski stres za vrijeme ronjenja može također potencijalno smanjiti druge vazodilatatore ovisne o endotelu, kao što su prostaciklin i hiperpolarizirajući faktor iz endotela te inhibirati miocitno-endotelno signaliziranje (89). Štoviše, stvaranje venskih mjehurića može možda imati učinak na funkciju arterijskog endotela. U istraživanjima provedenima na animalnom modelu kunića pokazalo se da će niže opterećenje venskim plinskim mjehurićima dovesti do poremećaja funkcije endotela u plućnoj arteriji između 1 i 6 sati nakon izloženosti (7). Osim toga, pokazali smo da venski mjehurići mogu oštetiti plućni endotel u animalnim modelima svinja (6). Aktivacija endotela u venskoj cirkulaciji

proizvest će endotelne mikročestice koje mogu započeti poremećaj funkcije endotela na udaljenim mjestima (90). Endotelne mikročestice (tj. male vezikule koje otpuštaju endotelne stanice, a sastoje se od plazmatske membrane i citosolnog materijala) veličine su samo nekoliko mikrona i vjerojatno mogu proći kroz plućni filtar i ući u arterijski sistem. Stoga se promjene funkcije arterijskog endotela mogu pojaviti bez direktnog kontakta s mjehurićima. Međutim, činjenica da je smanjenje FMD bilo u obrnutom odnosu s nastajanjem mjehurića ukazivalo bi da taj mehanizam nije imao značajnu ulogu u ovom istraživanju. Vrijedno je uzeti u obzir da smo pozitivnu ali neznačajnu povezanost između smanjenja FMD i nastajanja mjehurića opazili u našem prethodnom istraživanju (55). Kako su ti odnosi temeljeni na malo podataka, opažanja treba razmatrati s dužnim oprezom.

Promjer brahijalne arterije u mirovanju utjecat će na FMD kada se koristi relativna promjena promjera. Na taj smo način nastojali standardizirati promjenu rabeći metodu koju su opisali de Groot i sur. (54). Nema suglasja o tome kojoj metodi treba dati prednost u ocjenjivanju funkcije endotela (50); u našem je slučaju ta standardizacija imala neznačajni učinak na smanjenje FMD nakon ronjenja s antioksidantima. U normalnih pojedinaca se obično nalazi maksimalni promjer 1 min nakon otpuštanja manšete (20;85).

U nekih je ronilaca, čak prije prvog ronjenja, povećanje bilo sporije s maksimalnom dilatacijom vidljivom pri kraju 2. minute. Vrijeme nastupa najvećeg stupnja hiperemije bilo je vremenski odgođeno nakon ronjenja u odnosu na fiziološki odgovor. Na primjer, u dva ronioca maksimalni je promjer opažen pri kraju 4. min. Nakon 4 tjedna primanja antioksidanata odgovor prije drugog ronjenja bio je isti kao u prvog. Međutim, odgovor nakon drugog ronjenja bio je mnogo brži, tj. u 7 od 8 ronilaca maksimalna se vazodilatacija pojavila unutar 90 s nakon okluzije. To ukazuje da bi vrijeme nakon odgovora moglo biti pokazatelj funkcije endotela.

U cilju razlikovanja između vazodilatacije posredovane endotelom i direktne reakcije glatkih mišića daje se obično nitroglicerin, koji će dovesti do vazodilatacije, čak i u odsutnosti endotela (50). Kako je opisano u probnoj studiji našeg prethodnog istraživanja (55), svi su ronioci u toj studiji pokazali normalni odgovor na primjenu

nitroglicerina nakon oba ronjenja, što ukazuje da je funkcija glatkih mišića ostala nepromijenjena nakon ronjenja i da je opaženi smanjeni FMD uglavnom ovisio o endotelu.

U sažetku, ova studija ukazuje da dugotrajno davanje vitamina C i E značajno smanjuje negativni učinak ronjenja na funkciju endotela. Temeljeno na našoj prethodnoj studiji s višim dozama i na temelju podataka iz literature vjerujemo da je taj učinak postignut davanjem oralnih antioksidanata neposredno prije ronjenja. Kako su dugotrajni štetni učinci ronjenja na funkciju endotela danas nepoznati, potrebne su buduće studije za ocjenu važnosti tih nalaza.

6.4. Prikaz slučaja intrapulmonalnog skretanja (shunting) venskih plinskih mjehurića za vrijeme tjelovježbe nakon zarona na komprimirani zrak

Danas se procjenjuje da je incidencija dekompresijske bolesti među rekreacijskim roniocima 1:5.000 do 1:10.000 uronjavanja. U većini uronjavanja mjehurići se opažaju samo u venskoj cirkulaciji, bez ijednoga simptoma (tzv. «tihi» mjehurići). Neurološki simptomi nakon ronilačkih nezgoda uključuju češće kralježničnu moždinu nego mozak, iako bi jača temeljna perfuzija mozga mogla olakšati nastanak cerebralnih embolija. Ta veća vulnerabilnost kralježnične moždine s obzirom na embolije možda je posljedica prisutnosti usko smještenih traktusa i neurona, što dovodi do većeg opterećenja plinom, dok cerebralna embolija može češće ostati asimptomatskom. Ta je tvrdnja bila potvrđena neuroradiološkim (iako ne randomiziranim) istraživanjima asimptomatskog cerebralnog embolizma ronilaca koji su pokazivali veći broj ishemičkih moždanih lezija u asimptomatskih ronilaca u usporedbi s neroniocima kao kontrolom.

Kod nastanka transpulmonalnog prolaza plinskih embolusa Brubakk i sur. (91) pretpostavili su istjecanje plina u ljudi nakon ekskurzija tijekom ronjenja s dubokom saturacijom. Ti su autori otkrili arterijske plinske mjehuriće u 6 ispitanika tijekom 10 od 12 ekskurzija od 300 do 250 metara morske vode, pa iako nije utvrđena prisutnost PFO, ti su mjehurići vjerojatno došli transpulmonalnim putem, jer je incidencija PFO

mnogo niža. Desno-lijevi prolaz mjehurića se ubrzava s povećanjem PAP. U našim ranijim istraživanjima uočili smo da je PAP u rekreacijskih ronilaca nepromijenjen nakon simuliranih ronjenja u hiperbaričnoj komori, čak i uz protokol ronjenja koji dovodi do znatnog opterećenja mjehurićima. Međutim, nedavno smo našli da se nakon zarona na komprimirani zrak u mokrom ronilačkom odijelu srednji i sistolički PAP povećao za oko 30%. Opaženu razliku u odgovoru PAP mogu uzrokovati dodatni stresori koji se javljaju tijekom zarona u moru, kao što je povećanje centralnog venskog volumena uzrokovano imerzijom, hladnoća, povećani dišni otpor i psihološki stres. Prikazani slučaj potvrđuje ovaj nalaz, jer smo tijekom dvaju ronjenja našli slično povećanje srednjega PAP.

U ovom smo radu prikazali slučaj profesionalnog vojnog ronioca koji je razvio asimptomatsko desno-lijevo skretanje samo pri visokim razinama opterećenja nakon zarona na komprimirani zrak, što nije bilo prethodno opaženo praćenjem zarona sa sličnim protokolom. Vjerujemo da se u ovom slučaju skretanje pojavilo zbog vrlo visokog stupnja venskih mjehurića u vrijeme maksimalnog povećanja PAP (40 min nakon uronjavanja), što bi upućivalo da je rizik od arterijalizacije venskih mjehurića nakon ronjenja relativno malen. Međutim, nedavno smo objavili smanjenje minutnog volumena i plinske izmjene nakon ronjenja, kao i smanjenje funkcije arterijskog endotela nakon zarona u moru, dok su u sličnim ronilačkim uvjetima Marabotti i sur. (78) našli sistoličku disfunkciju desne i lijeve strane srca. Stoga su prije no što se objave preporuke slobodnog opterećenja neposredno nakon ronjenja potrebna daljnja proučavanja mehanizama promjena srčane funkcije, te periferne i centralne cirkulacije.

7. ZAKLJUČCI

U provedenim studijama analiziralo se više neovisnih fizioloških varijabli koje ukazuju na promjene u funkciji srca i krvnih žila tijekom zarona s komprimiranim zrakom na umjerenim dubinama. Osobita je pozornost obraćena nastanku endotelne disfunkcije, odnosno što bi bilo primjerenije nazvati endotelne aktivacije, koja može doprinijeti nastanku akutnih kardiovaskularnih događaja, a u okolnostima kada su ispunjeni i neki drugi uvjeti (kao na primjer zaroni u fizički neadekvatno pripremljenih osoba, osoba s ostalim faktorima rizika za kardiovaskularne bolesti i slično.

Tijekom prve serije pokusa uočilo se da zaroni na komprimirani zrak na umjerenim dubinama dovode do umjerenog povećanja vrijednosti plućnog tlaka i plućne vaskularnog otpora, te povećanja endijastoličkog i endsistoličkog volumena desne klijetke uz blagi pad sistoličke funkcije desne klijetke.

U drugoj seriji pokusa u dva odvojena protokola (nerandomizirani i randomizirani) uočio se dugotrajniji negativni učinak zarona na komprimirani zrak na endotelnu funkciju brahijalne arterije (u razdoblju dužem od 24 h), dok su RVEF, LVEF i endo FS bilo mnogo manje smanjeni (~2-3%). Akutni antioksidanti značajno su oslabili samo smanjenje FMD nakon ronjenja ($P<0,001$), dok ingestija antioksidanata nije djelovala na promjene funkcije plućne arterije i srca. Ti su nalazi bili potvrđeni ponavljanjem eksperimenata u randomiziranoj studiji. FMD se vratila na temeljne vrijednosti 72 h nakon ronjenja s placebom primijenjenim prije ronjenja, dok se to za većinu kardiovaskularnih parametara pojavilo ranije (24-48 h). Disfunkcija desnog ventrikla i povišeni PAP trajali su dulje. Akutni antioksidanti oslabili su arterijsku endotelnu disfunkciju nakon ronjenja, dok je smanjenje funkcije srca i plućne arterije bilo nepromijenjeno. Kardiovaskularne promjene nakon ronjenja nisu se u potpunosti popravile ni 3 dana nakon ronjenja upućujući na dulje trajanje negativnih učinaka.

Tijekom treće serije pokusa prethodno davanje antioksidanata u manjim dozama bližim preporučenom dnevnom unosu (engl. Recommended Daily Allowance, RDA), tijekom dužeg razdoblja od 4 tjedna, a koje završava 3-4 sata prije ronjenja smanjuje poremećaj funkcije endotela u ronilaca. Kako je ronjenje s aparatom za kisik bilo na dubinama i trajanja kao u brojnih ronilaca rekreativaca, ovo istraživanje potiče

mogućnost rutinskog dodatnog davanja antioksidanata prije ronjenja kao prevencije nastupa potpune aktivacije mehanizama endotelne funkcije.

Prikazom slučaja I-P skretanja postoji mogućnost nastanka asimptomatskog desno-lijevo skretanja pri visokim razinama tjelesnog opterećenja nakon ronjenja, što dosada nije bilo uočeno u ranijim zaronima u sličnim uvjetima. Vjerujemo da se u ovom slučaju skretanje pojavilo zbog vrlo visokog stupnja venskih mjehurića u vrijeme maksimalnog povećanja PAP (40 min nakon uronjavanja), što bi upućivalo da je rizik odnosno arterijalizacija venskih mjehurića nakon ronjenja relativno malena. Uz ostale promjene koje se uočavaju tijekom zarona s komprimiranim zrakom, kao što je smanjenje minutnog volumena i plinske izmjene nakon ronjenja, kao i smanjenje funkcije arterijskog endotela, sistoličke disfunkcije desne i lijeve strane srca ukazuju na potrebu daljnjeg proučavanja mehanizama promjena srčane funkcije, periferne i centralne cirkulacije nakon ronjenja. Takva istraživanja neophodna su prije nastanka preporuka o slobodnom tjelesnom opterećenju neposredno nakon ronjenja na komprimirani zrak.

8. SAŽETAK

8.1. Utjecaj ronjenja na komprimirani zrak na pojavu mjehurića inertnog plina u venskoj cirkulaciji, te na arterijski tlak i krvožilni otpor u plućnoj arteriji

U razdoblju dekompresije nakon zarona s komprimiranim zrakom u području desnog srca uočavaju se venski plinski mjehurići, koji mogu dovesti do oštećenja vaskulature, povećanja tlaka plućne arterije, te preopterećenja desne klijetke. Ne postoje podaci o utjecaju zarona s komprimiranim zrakom na otvorenom moru na tlak plućne arterije (PAP). Osam profesionalnih ronilaca izvelo je ronjenje na dah na otvorenom moru na 30 metara dubine. Svim roniocima napravljena su ehokardiografska mjerenja odabranih parametara funkcije desnog srca i plućne arterije. Sistolički tlak plućne arterije (sPAP) procjenjuje se mjerenjem vršne brzine protoka regurgitacijskog mlaza preko trikuspidalnog zaliska; omjer između akceleracijskog vremena (AccT) plućne arterije i ejekcijskog vremena desne klijetke (RVET) koristilo se kao indeks procjene srednje vrijednosti tlaka plućne arterije (mPAP). Nakon provođenja Valsalvinog manevra na ispitanicima nakon ronjenja nije nađeno elemenata postojanja otvorenog foramen ovale, te postojanja unutarplućnih šantova. sPAP se povećao sa 25± 3 na 33±2 mm Hg, a omjer AccT/RVET se smanjio sa 0,44±0,04 na 0,3± 0,02, 20 minuta nakon ronjenja u svakog pojedinca. Otpor kroz krvne žile pluća povećao se sa 1,2±0,1 na 1,4±0,1 Woodovih jedinica. Nakon ronjenja, volumen na kraju dijastole i sistole desne klijetke se povećao za oko 19% (P=0,001) i 33% (P=0,001), a ejekcijska se frakcija desne klijetke smanjila za oko 6% (P=0,001). Minutni volumen srca smanjio se sa 4,8±0,9 (L/min) na 4,0±0,6, četrdeset minuta nakon ronjenja zbog smanjenja rada srca i udarnog volumena. Ovo proučavanje pokazuje da jedan zaron s komprimiranim zrakom na otvorenom moru može dovesti do preopterećenja desnog dijela srca zbog povećanja tlaka i otpora u plućnoj arteriji.

8.2. Učinci antioksidanata na funkciju srca i endotela krvnih žila u ljudi tijekom zarona s komprimiranim zrakom

Nedavno je objavljeno o akutnim promjenama kardiovaskularne funkcije izazvanima ronjenjem, kao što su disfunkcija arterijskog endotela, povećani plućni arterijski tlak (PAP) i smanjena funkcija srca. Mi smo ispitivali učinke akutnih antioksidanata na arterijsku endotelnu funkciju, PAP i funkciju srca prije i nakon ronjenja na terenu. Vitamin C (2 g) i vitamin E (400 IJ) davani su ispitanicima 2 h prije drugoga ronjenja (protokol 1) i u placebom kontroliranoj poprečnoj studiji (protokol 2). Sedam iskusnih ronilaca ronilo je u otvorenom moru do 30 m dubine sa standardnom dekompresijom u nerandomiziranom protokolu, a 6 od njih je sudjelovalo u randomiziranom pokusu. Prije i nakon ronjenja ultrazvukom su određivani volumeni ventrikla i funkcija plućne i brahijalne arterije. Kontrolno ronjenje dovelo je do značajnog smanjenja dilatacije posredovane protokom (FMD) i srčane funkcije s povećanim srednjim PAP; 24 sata nakon kontrolnog ronjenja FMD je još uvijek bila smanjena za 37% ispod temeljne vrijednosti (8,1% naprama 5,1%, P=0,005), dok je ejekcijska frakcija desnog ventrikla (RVEF), EF lijevog ventrikla i endokardijalno frakcijsko skraćenje bilo mnogo manje smanjeno (~2-3%).

U isto vrijeme volumen pri kraju sistole RV bio je povećan za 9%, a srednji PAP za 5%. Akutni antioksidanti značajno su oslabili samo smanjenje FMD nakon ronjenja (P<0,001), dok ingestija antioksidanata nije djelovala na promjene funkcije plućne arterije i srca. Ti su nalazi bili potvrđeni ponavljanjem eksperimenata u randomiziranoj studiji. FMD se vratila na temeljne vrijednosti 72 h nakon ronjenja s placebom primijenjenim prije ronjenja, dok se to za većinu kardiovaskularnih parametara pojavilo ranije (24-48 h). Disfunkcija desnog ventrikla i povišeni PAP trajali su dulje. Akutni antioksidanti oslabili su arterijsku endotelnu disfunkciju nakon ronjenja, dok je smanjenje funkcije srca i plućne arterije bilo nepromijenjeno. Kardiovaskularne promjene nakon ronjenja nisu se u potpunosti popravile ni 3 dana nakon ronjenja upućujući na dulje trajanje negativnih učinaka.

8.3. Utjecaj primjene vitamina C i E uz razdoblju od četiri tjedna na endotelnu funkciju krvnih žila tijekom ronjenja s komprimiranim zrakom

Nedavno smo pokazali da pojedinačno ronjenje na dah u ljudi dovodi do akutne arterijske vazodilatacije i promjene vazodilatacije ovisne o endotelu. Dodatno smo našli da je davanje antioksidanta prije ronjenja na gornjoj preporučenoj dnevnoj granici djelomično spriječilo neke negativne učinke ronjenja. U ovoj smo studiji prospektivno ocjenjivali učinak dugotrajno davanih antioksidanata u dozi na donjoj preporučenoj dnevnoj granici na arterijsku endotelnu funkciju. Osam profesionalnih ronilaca izvelo je ronjenje na dah na otvorenom moru do 30 m. Prije i nakon ronjenja ocjenjivalo se dilataciju brahijalne arterije posredovanu protokom (FMD). Prvo ronjenje, bez antioksidanta, uzrokovalo je značajno povećanje promjera brahijalne arterije od 3,85±0,55 do 4,04±0,5 mm i značajno smanjenje FMD od 7,6±2,7 na 2,8±2,1%. Drugo ronjenje, s antioksidantima, pokazalo je nepromijenjeni promjer arterije i značajno smanjenje FMD od 8,11±2,4 na 6,8±1,4%. Smanjenje FMD bilo je značajno manje s antioksidantima. Na funkciju vaskularnih glatkih mišića, ocjenjivanu nitroglicerinom (dilatacija neovisna o endotelu), ronjenje nije imalo utjecaja. Ovo istraživanje pokazuje da dugotrajno davanje antioksidanta u nižoj dozi RDA koje završava 3-4 sata prije ronjenja smanjuje poremećaj funkcije endotela u ronilaca. Kako je ronjenje s aparatom za kisik bilo na sličnoj dubini i trajanja kao ono brojnih ronilaca rekreativaca, ovo istraživanje potiče mogućnost rutinskog dodatnog davanja antioksidanata prije ronjenja.

8.4. Prikaz slučaja intrapulmonalnog skretanja (shunting) venskih plinskih mjehurića za vrijeme tjelovježbe nakon zarona na komprimirani zrak

Prikazujemo slučaj intrapulmonalnog skretanja (IP) mjehurića venskog plina iz desnog u lijevo srce pri većem fizičkom opterećenju nakon ronjenja. Dijagnoza je postavljena ultrazvučnim prikazom srca tijekom i nakon ergometrijskog testiranja. To je prvi slučaj u kojem smo mogli dokazati nastanak I-P skretanja tijekom ergometrije nakon ronjenja, a stupanj nastajanja mjehurića bio je najveći ikada opažen u našim dotadašnjim zaronima. Prijelaz venskih mjehurića kroz I-P šantove tijekom ergometrijskog testiranja nakon ronjenja je vrlo rijedak događaj.

9. SUMMARY

9.1. A single open sea air dive increases pulmonary artery pressure and reduces right ventricular function in professional divers

After decompression from dives, bubbles are frequently observed in the right ventricular outflow tract and may lead to vascular damage, pulmonary arterial hypertension and right ventricular overload. No data exist on the effect of open sea diving on the pulmonary artery pressure (PAP). Eight professional divers performed an open sea air dive to 30 msw. Before and postdive a Doppler echocardiographic study was undertaken. Systolic pulmonary artery pressure (SPAP) was estimated from measurement of peak flow velocity of the tricuspid regurgitant jet; the ratio between pulmonary artery acceleration times (AccT) and right ventricular ejection time (RVET) was used as an estimate of the mean PAP. No evidence of either patent foramen ovale or intra-pulmonary shunt was found in any subject postdive after performing a Valsalva maneuver. SPAP increased from 2 ±3 to 33±2 mm Hg and AccT/ RVET ratio decreased from 0.44±0.04 to 0.3±0.02 20 min after the dive, respectively. Pulmonary vascular resistance increased from 1.2 ±0.1 to 1.4±0.1 Wood Units. Postdive right ventricle end-diastolic and endsystolic volumes were increased for about 19% (P = 0.001) and 33% (P = 0.001) and right ejection fraction decreased about for 6% (P = 0.001). Cardiac output decreased from 4.8±0.9 (l min1) to 4.0 ± 0.6 at 40 min postdive due to decreases in heart rate and stroke volume. This study shows that a single open sea dive may be associated with right heart overload due to increased pressure in the pulmonary artery.

9.2. The effects of acute oral antioxidants on diving-induced alterations in human cardiovascular function

Diving-induced acute alterations in cardiovascular function such as arterial endothelial dysfunction, increased pulmonary artery pressure (PAP) and reduced heart function have been recently reported. We tested the effects of acute antioxidants

on arterial endothelial function, PAP and heart function before and after field dive. Vitamin C (2 grams) and E (400 IU) were given to subjects 2 hours before second dive (protocol 1) and in placebo-controlled crossover study design (protocol 2). Seven experienced divers performed open sea dives to 30 msw with standard decompression in non randomized protocol, and six of them participated in randomized trial. Before and after the dives ventricular volumes and function and pulmonary and brachial artery function were assessed by ultrasound. The control dive resulted in a significant reduction in flow mediated dilation (FMD) and heart function with increased mean PAP. 24 hours (h) after the control dive FMD was still reduced 37% (8.1 *vs*. 5.1%, p=0.005 below baseline, while right ventricle ejection fraction (RV-EF), left ventricle EF and endocardial fractional shortening were reduced much less (~2-3%). At the same time RV endsystolic volume was increased by 9% and mean PAP by 5%. Acute antioxidants significantly attenuated only the reduction in FMD postdive ($p<0.001$), while changes in pulmonary artery and heart function were unaffected by antioxidant ingestion. These findings were confirmed by repeating the experiments in a randomized study design. FMD returned to baseline values 72h after the dive with pre-dive placebo, whereas for most cardiovascular parameters this occurred earlier (24-48h). Right ventricular dysfunction and increased PAP lasted longer. Acute antioxidants attenuated arterial endothelial dysfunction after diving, while reduction in heart and pulmonary artery function were unchanged. Cardiovascular changes after diving are not fully reversed up to 3 days after a dive, suggesting longer lasting negative effects.

9.3. Antioxidant pretreatment and reduced arterial endothelial dysfunction after diving

We have recently shown that a single air dive leads to acute arterial vasodilatation and impairment of endothelium-dependent vasodilatation in humans. Additionally we have found that predive antioxidants at the upper recommended daily allowance partially prevented some of the negative effects of the dive. in this study we prospectively evaluated the effect of long-term antioxidants at a lower

RDA dose on arterial endothelial function. Methods: Eight professional male divers performed an open sea air dive to 30 msw. Brachial artery flow-mediated dilation (FMD) was assessed before and after diving. Results: The fi rst dive, without antioxidants, caused significant brachial arterial diameter increase from 3.85±0.55 to 4.04±0.5 mm and a significant reduction of FMD from 7.6±2.7 to 2.8±2.1%. The second dive, with antioxidants, showed unchanged arterial diameter and significant reduction of FMD from 8.11±2.4 to 6.8±1.4%. The FMD reduction was significantly less with antioxidants. Vascular smooth muscle function, assessed by nitroglycerine (endothelium-independent dilation), was unaffected by diving. Discussion: This study shows that long-term antioxidant treatment at a lower RDA dose ending 3–4 h before a dive reduces the endothelial dysfunction in divers. Since the scuba dive was of a similar depth and duration to those practiced by numerous recreational divers, this study raises the possibility of routine predive supplementation with antioxidants.

9.4. Detection of intra-pulmonary shunting of venous gas bubbles by sonography during exercise after diving in a professional diver

We report a case of a diver that developed in tra-pulmonary (I-P) shunting of venous gas bubbles at high level of exercise after diving. The diagnosis was made with a four chamber view of the heart by echocardiography during exercise. This case is the first time that we have observed an evidence for I-P shunts recruitment during exercise after diving and this bubble grade was the highest ever seen in our laboratory. Thus, the risk for venous bubbles crossing over through I-P shunts during exercise after diving is rather low.

10. POPIS LITERATURE

(1) Doubt TJ. Cardiovascular and thermal responses to SCUBA diving. Med Sci Sports Exerc 1996;28:581-6.

(2) Edmonds C. Diving medicine for scuba divers. 2. izd. McKenzie B, Thomas RL, ur. Melbourne, Australia: JL Publ., 1997.

(3) Edmonds C, Thomas RL. Medical aspects of diving. I. Med J Aust 1972;2:1199-201.

(4) Behnke AR. Decompression sickness. Mil Med 1955;117:257-9.

(5) Nishi RY. Doppler evaluation of decompression tables. U: Lin YC, Shida KK, ur. Man in the sea. Honolulu: University of Hawaii Press, 1990:297-316.

(6) Nossum V, Koteng S, Brubakk AO. Endothelial damage by bubbles in the pulmonary artery of the pig. Undersea Hyperb Med 1999;26:1-8.

(7) Nossum V, Hjelde A, Brubakk AO. Small amounts of venous gas embolism cause delayed impairment of endothelial function and increase polymorphonuclear neutrophil infiltration. Eur J Appl Physiol 2002;86:209-14.

(8) Wilmshurst PT, Byrne JC, Webb-Peploe MM. Relation between interatrial shunts and decompression sickness in divers. Lancet 1989;2:1302-6.

(9) Eldridge MW, Dempsey JA, Haverkamp HC, Lovering AT, Hokanson JS. Exercise-induced intrapulmonary arteriovenous shunting in healthy humans. J Appl Physiol 2004;97:797-805.

(10) Balestra C, Germonpre P, Marroni A. Intrathoracic pressure changes after Valsalva strain and other maneuvers: implications for divers with patent foramen

ovale. Undersea Hyperb Med 1998;25:171-4.

(11) Vik A, Jenssen BM, Eftedal O, Brubakk AO. Relationship between venous bubbles and hemodynamic responses after decompression in pigs. Undersea Hyperb Med 1993;20:233-48.

(12) Butler BD, Luehr S, Katz J. Venous gas embolism: time course of residual pulmonary intravascular bubbles. Undersea Biomed Res 1989; 6:21-9.

(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; 39:24.

(14) Marabotti C, Chiesa F, Scalzini A i sur. Cardiac and humoral changes induced by recreational scuba diving. Undersea Hyperb Med 1999;26:151-8.

(15) Rubanyi GM, Romero JC, Vanhoutte PM. Flow-induced release of endothelium-derived relaxing factor. Am J Physiol 1986;250:1145-9.

(16) Rubanyi GM, Vanhoutte PM. Nature of endothelium-derived relaxing factor: are there two relaxing mediators? Circ Res 1987;61:61-7.

(17) Palmer RM, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. Nature 1987; 327:524-6.

(18) Palmer RM, Ashton DS, Moncada S. Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. Nature 1988;333:664-6.

(19) Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM i sur. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. Lancet 1992;340:1111-5.

(20) Celermajer DS, Sorensen KE, Bull C, Robinson J, Deanfield JE. Endothelium-dependent dilation in the systemic arteries of asymptomatic subjects relates to coronary risk factors and their interaction. J Am Coll Cardiol 1994;24:1468-74.

(21) Celermajer DS. Testing endothelial function using ultrasound. J Cardiovasc Pharmacol 1998;32(Suppl 3):29-32.

(22) Celermajer DS. Reliable endothelial function testing: at our fingertips? Circulation 2008;117:2428-30.

(23) Valic Z, Duplancic D, Bakovic D i sur. Diving-induced venous gas emboli do not increase pulmonary artery pressure. Int J Sports Med 2005;26:626-31.

(24) Landmesser U, Drexler H. The clinical significance of endothelial dysfunction. Curr Opin Cardiol 2005;20:547-51.

(25) Risch WD, Koubenec HJ, Beckmann U, Lange S, Gauer OH. The effect of graded immersion on heart volume, central venous pressure, pulmonary blood distribution, and heart rate in man. Pflugers Arch 1978;374:115-8.

(26) Meyer K, Bucking J. Exercise in heart failure: should aqua therapy and swimming be allowed? Med Sci Sports Exerc 200436:2017-23.

(27) Pons M, Blickenstorfer D, Oechslin E i sur. Pulmonary oedema in healthy persons during scuba-diving and swimming. Eur Respir J 1995;8:762-7.

(28) Furchgott RF, Vanhoutte PM. Endothelium-derived relaxing and contracting factors. FASEB J 1989;3:2007-18.

(29) Furchgott RF, Jothianandan D. Endothelium-dependent and -independent vasodilation involving cyclic GMP: relaxation induced by nitric oxide, carbon monoxide and light. Blood Vessels 1991;28:52-61.

(30) Furchgott RF. Endothelium-derived relaxing factor: discovery, early studies, and identification as nitric oxide. Biosci Rep 1999;19:235-51.

(31) Wolin MS, Ahmad M, Gupte SA. The sources of oxidative stress in the vessel wall. Kidney Int 2005;67:1659-61.

(32) Rubanyi GM, Vanhoutte PM. Superoxide anions and hyperoxia inactivate endothelium-derived relaxing factor. Am J Physiol 1986;250:822-7.

(33) Milone SD, Newton GE, Parker JD. Hemodynamic and biochemical effects of 100% oxygen breathing in humans. Can J Physiol Pharmacol 1999;77:124-30.

(34) Zhilyaev SY, Moskvin AN, Platonova TF i sur. Hyperoxic vasoconstriction in the brain is mediated by inactivation of nitric oxide by superoxide anions. Neurosci Behav Physiol 2003;33:783-7.

(35) Schulz E, Anter E, Keaney JFJr. Oxidative stress, antioxidants, and endothelial function. Curr Med Chem 2004;11:1093-104.

(36) de CJ, Wu R, Girouard H, Karas M i sur. Oxidative stress in hypertension. Clin Exp Hypertens 2004;26:593-601.

(37) Gonzalez-Vilchez F, Ayuela J, Ares M, Pi J, Castillo L, Martin-Duran R. Oxidative stress and fibrosis in incipient myocardial dysfunction in type 2 diabetic patients. Int J Cardiol 2005;101:53-8.

(38) Dudley SC, Jr., Hoch NE, McCann LA i sur. Atrial fibrillation increases production of superoxide by the left atrium and left atrial appendage: role of the NADPH and xanthine oxidases. Circulation 2005;112:1266-73.

(39) Seccombe JF, Schaff HV. Coronary artery endothelial function after myocardial ischemia and reperfusion. Ann Thorac Surg 1995;60:778-88.

(40) Angdin M, Settergren G, Starkopf J i sur. Protective effect of antioxidants on pulmonary endothelial function after cardiopulmonary bypass. J Cardiothorac Vasc Anesth 2003;17:314-20.

(41) Pratico D. Antioxidants and endothelium protection. Atherosclerosis 2005;181:215-24.

(42) Douglas PS, Berman GO, O'Toole ML, Hiller WD, Reichek N. Prevalence of multivalvular regurgitation in athletes. Am J Cardiol 1989;64:209-12.

(43) Singh JP, Evans JC, Levy D i sur. Prevalence and clinical determinants of mitral, tricuspid, and aortic regurgitation (the Framingham Heart Study). Am J Cardiol 1999;83:897-902.

(44) Schiller NB, Shah PM, Crawford M i sur. Recommendations for quantitation of the left ventricle by two-dimensional echocardiography. American Society of Echocardiography Committee on Standards, Subcommittee on Quantitation of Two-Dimensional Echocardiograms. J Am Soc Echocardiogr 1989;2:358-67.

(45) Eftedal O, Brubakk AO. Agreement between trained and untrained observers in grading intravascular bubble signals in ultrasonic images. Undersea Hyperb Med 1997;24:293-9.

(46) Nishi RY. Bubble detection. U: Brubakk AO, Eftedal O, ur. The physiology and medicine of diving. London: Saunders, 2003: 501-529.

(47) Kitabatake A, Inoue M, Asao M i sur. Noninvasive evaluation of pulmonary hypertension by a pulsed Doppler technique. Circulation 1983;68:302-9.

(48) Yock PG, Popp RL. Noninvasive estimation of right ventricular systolic pressure by Doppler ultrasound in patients with tricuspid regurgitation. Circulation 1984;70:657-62.

(49) Abbas AE, Fortuin FD, Schiller NB i sur. A simple method for noninvasive estimation of pulmonary vascular resistance. J Am Coll Cardiol 2003;41:1021-7.

(50) Corretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ i sur. Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: a report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force. J Am Coll Cardiol 2002;39:257-65.

(51) Eftedal O, Brubakk AO. Detecting intravascular gas bubbles in ultrasonic images. Med Biol Eng Comput 1993;31:627-33.

(52) Pyke KE, Dwyer EM, Tschakovsky ME. Impact of controlling shear rate on flow-mediated dilation responses in the brachial artery of humans. J Appl Physiol 2004;97:499-508.

(53) Pyke KE, Tschakovsky ME. The relationship between shear stress and flow-mediated dilatation: implications for the assessment of endothelial function. J Physiol 2005;568:357-69.

(54) De Groot PC, Poelkens F, Kooijman M, Hopman MT. Preserved flow-mediated dilation in the inactive legs of spinal cord-injured individuals. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2004;287:374-80.

(55) 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;97:478-85.

(56) Diesel DA, Ryles MT, Pilmanis AA, Balldin UI. Non-invasive measurement of pulmonary artery pressure in humans with simulated altitude-induced venous gas emboli. Aviat Space Environ Med 2002;73:128-33.

(57) Malik AB, Johnson A, Tahamont MV, van der ZH, Blumenstock FA. Role of

blood components in mediating lung vascular injury after pulmonary vascular thrombosis. Chest 1983;83(5 Suppl):21-4.

(58) Malik AB. Pulmonary microembolism. Physiol Rev 1983;63:1114-207.

(59) Vik A, Jenssen BM, Brubakk AO. Arterial gas bubbles after decompression in pigs with patent foramen ovale. Undersea Hyperb Med 1993;20:121-31.

(60) Butler BD, Conkin J, Luehr S. Pulmonary hemodynamics, extravascular lung water and residual gas bubbles following low dose venous gas embolism in dogs. Aviat Space Environ Med 1989;60:1178-82.

(61) Bove AA, Hallenbeck JM, Elliott DH. Circulatory responses to venous air embolism and decompression sickness in dogs. Undersea Biomed Res 1974;1:207-20.

(62) Arborelius M, Jr., Balldin UI, Lila B, Lundgren CE. Regional lung function in man during immersion with the head above water. Aerosp Med 1972;43:701-7.

(63) Risch WD, Koubenec HJ, Gauer OH, Lange S. Time course of cardiac distension with rapid immersion in a thermo-neutral bath. Pflugers Arch 1978; 374:119-20.

(64) Kerut EK, Norfleet WT, Plotnick GD, Giles TD. Patent foramen ovale: a review of associated conditions and the impact of physiological size. J Am Coll Cardiol 2001;38:613-23.

(65) Brubakk AO, Duplancic D, Valic Z i sur. A single air dive reduces arterial endothelial function in man. J Physiol 2005;566:901-6.

(66) Palada I, Obad A, Bakovic D, Valic Z, Ivancev V, Dujic Z. Cerebral and peripheral hemodynamics and oxygenation during maximal dry breath-holds. Respir Physiol Neurobiol 2007;157:374-81.

(67) Gempp E, Blatteau JE, Louge P, Drouillard I, Galland FM. N-terminal pro brain natriuretic peptide increases after 1-h scuba dives at 10 m depth. Aviat Space Environ Med 2005;76:114-6.

(68) Eskurza I, Monahan KD, Robinson JA, Seals DR. Ascorbic acid does not affect large elastic artery compliance or central blood pressure in young and older men. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2004;286:1528-34.

(69) Gokce N. Endotheliopathies: clinical manifestations of endothelial dysfunction. U: Keaney JF VJ, ur. Thrombosis and Hemorrhage. 2. izd. Baltimore: Williams & Wilkins, 1998: 901-24.

(70) Jackson TS, Xu A, Vita JA, Keaney JF, Jr. Ascorbate prevents the interaction of superoxide and nitric oxide only at very high physiological concentrations. Circ Res 1998;83:916-22.

(71) Levine M, Conry-Cantilena C, Wang Y i sur. Vitamin C pharmacokinetics in healthy volunteers: evidence for a recommended dietary allowance. Proc Natl Acad Sci U S A 1996;93:3704-9.

(72) Hamilton RW, Thalmann ED. Decompression practice. U: Brubakk AO NT, ur. Bennett and Elliott's Physiology and Medicine of Diving. London: W.B. Saunders, 2004: 455-500.

(73) Mak S, Egri Z, Tanna G, Colman R, Newton GE. Vitamin C prevents hyperoxia-mediated vasoconstriction and impairment of endothelium-dependent vasodilation. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2002;282:2414-21.

(74) McNulty PH, Robertson BJ, Tulli MA i sur. Effect of hyperoxia and vitamin C on coronary blood flow in patients with ischemic heart disease. J Appl Physiol 2007;102:2040-5.

(75) Vasquez-Vivar J, Kalyanaraman B, Martasek P i sur. Superoxide generation by

endothelial nitric oxide synthase: the influence of cofactors. Proc Natl Acad Sci U S A 1998;95:9220-5.

(76) Cucchiaro G, Tatum AH, Brown MC i sur. Inducible nitric oxide synthase in the lung and exhaled nitric oxide after hyperoxia. Am J Physiol 1999;277:636-44.

(77) Whorton AR, Simonds DB, Piantadosi CA. Regulation of nitric oxide synthesis by oxygen in vascular endothelial cells. Am J Physiol 1997;272:1161-6.

(78) Atochin DN, Demchenko IT, Astern J i sur. Contributions of endothelial and neuronal nitric oxide synthases to cerebrovascular responses to hyperoxia. J Cereb Blood Flow Metab 2003;23:1219-26.

(79) Ferrer MD, Sureda A, Batle JM i sur. Scuba diving enhances endogenous antioxidant defenses in lymphocytes and neutrophils. Free Radic Res 2007;41:274-81.

(80) Brandes RP, Fleming I, Busse R. Endothelial aging. Cardiovasc Res 2005;66:286-94.

(81) Hoshikawa Y, Ono S, Suzuki S i sur. Generation of oxidative stress contributes to the development of pulmonary hypertension induced by hypoxia. J Appl Physiol 2001;90:1299-306.

(82) Valko M, Izakovic M, Mazur M, Rhodes CJ, Telser J. Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. Mol Cell Biochem 2004;266:37-56.

(83) Mayahi L, Heales S, Owen D i sur. (6R)-5,6,7,8-tetrahydro-L-biopterin and its stereoisomer prevent ischemia reperfusion injury in human forearm. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2007;27:1334-9.

(84) Takase B, Etsuda H, Matsushima Y i sur. Effect of chronic oral supplementation with vitamins on the endothelial function in chronic smokers. Angiology

2004;55:653-60.

(85) Mullen MJ, Kharbanda RK, Cross J i sur. Heterogenous nature of flow-mediated dilatation in human conduit arteries in vivo: relevance to endothelial dysfunction in hypercholesterolemia. Circ Res 2001;88:145-51.

(86) Anderson TJ. Assessment and treatment of endothelial dysfunction in humans. J Am Coll Cardiol 1999;34:631-8.

(87) Verma S, Anderson TJ. Fundamentals of endothelial function for the clinical cardiologist. Circulation 2002;105:546-9.

(88) Title LM, Cummings PM, Giddens K, Nassar BA. Oral glucose loading acutely attenuates endothelium-dependent vasodilation in healthy adults without diabetes: an effect prevented by vitamins C and E. J Am Coll Cardiol 2000;36:2185-91.

(89) Feletou M, Vanhoutte PM. Endothelial dysfunction: a multifaceted disorder (The Wiggers Award Lecture). Am J Physiol Heart Circ Physiol 2006;291:985-1002.

(90) Brodsky SV, Zhang F, Nasjletti A, Goligorsky MS. Endothelium-derived microparticles impair endothelial function in vitro. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2004;286:1910-15.

(91) Brubakk AO, Peterson R, Grip A i sur. Gas bubbles in the circulation of divers after ascending excursions from 300 to 250 msw. J Appl Physiol 1986;60:45-51.

11. ŽIVOTOPIS

Ante Obad, dr. med., internist-kardiolog, oženjen, otac jednog djeteta

Datum i mjesto rođenja: Široki Brijeg, 07. 10. 1972. g.

Zaposlenje: Zavod za integrativnu fiziologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu, Split

OBRAZOVANJE

- COUO u Kemijskoj i zanatskoj djelatnosti, Split

  Kemijski tehničar, lipanj 1991.god.
- Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb,

  Doktor medicine, srpanj 1997.god.
- Položen stručni ispit za doktora medicine, prosinac 1998.god.
- Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Stručni poslijediplomski studij „Ultrazvuk u kliničkoj medicini“ – smjer gastroenterologija 1998-1999 god.
- Specijalističko usavršavanje 1999-2003.god., položen specijalistički ispit iz interne medicine, prosinac 2003.god.
- Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu; Doktorski studij “BIOMEDICINA I ZDRAVSTVO”, 2002-2008 god.
- Subspecijalističko usavršavanje iz područja kardiologije 2005 – 2007 god.
- Subspecijalistički ispit iz kardiologije 10.mj.2007.god., stekao stručni status interniste – kardiologa

Stručna usavršavanja

- Poslijediplomski tečaj trajnog usavršavanja liječnika I kategorije:

  - „Ultrazvuk abdominalnih organa“ - 1998.god.

  - „Ultrazvuk štitnjače i površinskih organa“ – 1998.god.

  - „Ultrazvuk – doppler krvnih žila“ -1999.god.

- „Course in echocardiography“ – Imperial college of medicine, Hammersmith London – 2001.god.
- Herz und Diabeteszentrum NRW, Bad-Oyenhausen - edukacija iz ehokardiografije – 2002.god.

RADNO ISKUSTVO

- Pripravnički staž – „Ustanova za hitnu medicinsku pomoć“- Split 1997-1998 god.
- Specijalistički staž iz interne mdicine KB „Split“ i KB „Dubrava“ 1999-2003 god.
- Znanstveni novak na Katedri za fiziologiju 2004 - danas.
- Subspecijalistički staž iz područja kardiologije KB „Split“ i KB „Dubrava“ 2005 – 2007.god.

OSTALE AKTIVNOSTI

- 01.05.-05.04.2006. aktivni sudionik (poster prezentacije) Experimental Biology 2006., San Francisco, SAD
- 28.04.-02.05.2007. aktivni sudionik (poster prezentacije) Experimental Biology 2007., Washington DC, SAD
- Sudjelovanje u više znanstvenih studija i sudjelovanje u nastavi Katedre za fiziologiju, medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu
- Sudjelovanje u više međunarodnih kongresa iz područja interne medicine, kardiologije i endokrinologije

OBJAVLJENE PUBLIKACIJE

(1) Bakovic D, Valic Z, Eterovic D, Vukovic I, **Obad A**, Marinovic-Terzic I, *et al*. Spleen volume and blood flow response to repeated breath-hold apneas. J Appl Physiol 2003;95:1460-6.

(2) Bakovic D, Eterovic D, Valic Z, Saratlija-Novakovic Z, Palada I, **Obad A**, *et al*. Increased pulmonary vascular resistance and reduced stroke volume in association with CO2 retention and inferior vena cava dilatation. J Appl Physiol 2006;101:866-72.

(3) Bakovic D, Glavas D, Palada I, Breskovic T, Fabijanic D, **Obad A**, *et al.* High-grade bubbles in left and right heart in an asymptomatic diver at rest after surfacing. Aviat Space Environ Med 2008;79:626-8.

(4) Boban M, Modun D, Music I, Vukovic J, Brizic I, Salamunic I, **Obad A** *et al*. Red wine induced modulation of vascular function: separating the role of polyphenols, ethanol, and urates. J Cardiovasc Pharmacol 2006;47:695-701.

(5) Breskovic T, Denoble P, Palada I, **Obad A**, Valic Z, Glavas D, *et al*. Venous gas bubble formation and decompression risk after scuba diving in persons with chronic spinal cord injury and able-bodied controls. Spinal Cord 2008;46:743-7.

(6) Brubakk AO, Duplancic D, Valic Z, Palada I, **Obad A**, Bakovic D, *et al*. A single air dive reduces arterial endothelial function in man. J Physiol 2005;566:901-6.

(7) Dujic Z, Palada I, **Obad A**, Duplancic D, Bakovic D, Valic Z. Exercise during a 3-min decompression stop reduces postdive venous gas bubbles. Med Sci Sports Exerc 2005;37:1319-23.

(8) Dujic Z, Palada I, **Obad A**, Duplancic D, Brubakk AO, Valic Z. Exercise-induced intrapulmonary shunting of venous gas emboli does not occur after open-sea diving. J Appl Physiol 2005;99:944-9.

(9) Dujic Z, Palada I, Valic Z, Duplancic D, **Obad A**, Wisloff U, *et al*. Exogenous nitric oxide and bubble formation in divers. Med Sci Sports Exerc 2006;38:1432-5.

(10) Dujic Z, **Obad A**, Palada I, Ivancev V, Valic Z. Venous bubble count declines during strenuous exercise after an open sea dive to 30 m. Aviat Space Environ Med 2006;77:592-6.

(11) *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;97:478-85.

(12) Dujic Z, Ivancev V, Heusser K, Dzamonja G, Palada I, Valic Z, **Obad A** *et al*. Central chemoreflex sensitivity and sympathetic neural outflow in elite breath-hold divers. J Appl Physiol 2008;104:205-11.

(13) Ivancev V, Palada I, Valic Z, **Obad A**, Bakovic D, Dietz NM, *et al*. Cerebrovascular reactivity to hypercapnia is unimpaired in breath-hold divers. J Physiol 2007;582:723-30.

(14) Modun D, Music I, Vukovic J, Brizic I, Katalinic V, **Obad A**, *et al*. The increase in human plasma antioxidant capacity after red wine consumption is due to both plasma urate and wine polyphenols. Atherosclerosis 2008;197:250-6.

(15) ***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;78:1114-20.

(16) ***Obad A**, Palada I, Ivancev V, Valic Z, Fabijanic D, Brubakk AO, *et al*. Sonographic detection of intrapulmonary shunting of venous gas bubbles during exercise after diving in a professional diver. J Clin Ultrasound 2007;35:473-6.

(17) ***Obad A**, Palada I, Valic Z, Ivancev V, Bakovic D, Wisloff U, *et al*. The effects of acute oral antioxidants on diving-induced alterations in human cardiovascular function. J Physiol 2007;578:859-70.

(18) Palada I, Eterovic D, **Obad A**, Bakovic D, Valic Z, Ivancev V, *et al*. Spleen and cardiovascular function during short apneas in divers. J Appl Physiol 2007;103:1958-63.

(19) Palada I, **Obad A**, Bakovic D, Valic Z, Ivancev V, Dujic Z. Cerebral and peripheral hemodynamics and oxygenation during maximal dry breath-holds. Respir Physiol Neurobiol 2007;157:374-81.

(20) Palada I, Bakovic D, Valic Z, **Obad A**, Ivancev V, Eterovic D, *et al*. Restoration of hemodynamics in apnea struggle phase in association with involuntary breathing movements. Respir Physiol Neurobiol 2008;161:174-81.

(21) Heusser K, Dzamonja G, Tank J, Palada I, Valic Z, Bakovic D, Obad A, Ivancev V, Breskovic T, Diedrich A, Joyner MJ, Luft FC, Jordan J, Dujic Z. Cardiovascular regulation during apnea in elite divers. Hypertension. 2009 Apr;53(4):719-24. Epub 2009 Mar 2.

(22) Glavas D, Bakovic D, Obad A, Palada I, Breskovic T, Valic Z, Brubakk AO, Dujic Z. Effects of tetrahydrobiopterin on venous bubble grade and acute diving-induced changes in cardiovascular function. Clin Physiol Funct Imaging. 2009 Apr;29(2):100-7. Epub 2008 Dec 4.

*do sada objavljeni radovi na kojima se zasniva doktorska disertacija

Kongresna priopćenja

(1) Valic Z, Palada I, Duplancic D, **Obad A**, Wisløff U, Brubakk AO, Dujic Z. Exogenous nitric oxide reduces bubble formation in man. FASEB J. 20(6): A1249, 2006. (CC)

(2) Dujic Z, **Obad A**, Palada I, Brubakk AO, Valic Z. A single open sea air dive increases pulmonary artery pressure. FASEB J. 20(6): A1249, 2006. (CC)

(3) **Obad A**, Palada I, Valic Z, Dujic Z. Long term vitamin C and E treatment and endothelial function in scuba-diving. FASEB J. 20(6): A1249, 2006. (CC)

(4) Palada I, Dujic Z, Bakovic D, **Obad A**, Ivancev V, Shoemaker JK, Valic Z. Effects of involuntary breathing movements on venous return and cardiac output during maximal apnea. FASEB J. 2007. (CC)

(4) Bakovic D, Dujic Z, Palada I, **Obad A**, Ivancev V, Shoemaker JK, and Valic Z. Rapid splenic contraction and heart rate increase at the onset of apnea in human. FASEB J. 2007. (CC)

(5) **Obad A**, Valic Z, Palada I, Bakovic D, Ivancev V, Dujic Z. Cerebral and peripheral hemodynamics and oxygenation during maximal apneas. FASEB J. 2007. (CC)

(6) Ivancev V, Valic Z, Palada I, **Obad A**, Bakovic D, Dietz NM, Joyner MJ, Dujic Z. Cerebral vascular reactivity to hypercapnia is unchanged in apnea divers. FASEB J. 2007. (CC)

(8) Palada, I., Z. Dujic, D. Bakovic, A. Obad, V. Ivancev, J.K. Shoemaker and Z. Valic. Effects of involuntary breathing movements on venous return and cardiac output during maximal apnea. FASEB J. 21(6): A1359, 2007.

(9) Bakovic, D., Z. Dujic, I. Palada, **A. Obad**, V. Ivancev, J.K. Shoemaker and Z. Valic. Rapid splenic contraction and heart rate increase at the onset of apnea in human. FASEB J. 21(6): A1359, 2007.

(10) **Obad, A**., Z. Valic, I. Palada, D. Bakovic, V. Ivancev and Z. Dujic. Cerebral and peripheral hemodynamics and oxygenation during maximal apneas. FASEB J. 21(6): A1360, 2007.

(11) Ivancev, V., Z. Valic, I. Palada, **A. Obad**, D. Bakovic, N.M. Dietz, M.J. Joyner and Z. Dujic. Cerebral vascular reactivity to hypercapnia is unchanged in apnea divers. FASEB J. 21(6): A1360, 2007.