

**SVEUČILIŠTE U SPLITU
MEDICINSKI FAKULTET**

IVANA ŠEGRT RIBIČIĆ, DR. MED.

**PRIMJENA KISIKA PRIJE ZARONA I TIJEKOM DEKOMPRESIJE
U TEHNIČKOM RONJENJU: POJAVNOST VENSKIH
PLINSKIH MJEHURIĆA I ENDOTELNA
FUNKCIJA BRAHIJALNE ARTERIJE**

DOKTORSKI RAD

Split, 2024.

**SVEUČILIŠTE U SPLITU
MEDICINSKI FAKULTET**

IVANA ŠEGRT RIBIČIĆ, DR. MED.

**PRIMJENA KISIKA PRIJE ZARONA I TIJEKOM DEKOMPRESIJE
U TEHNIČKOM RONJENJU: POJAVNOST VENSKIH
PLINSKIH MJEHURIĆA I ENDOTELNA
FUNKCIJA BRAHIJALNE ARTERIJE**

DOKTORSKI RAD

Akademski godina: 2023./2024.

Mentorica:

Prof. dr. sc. Maja Valić, dr. med.

U Splitu, srpanj 2024.

Doktorska disertacija temelji se na radovima:

1. Šegrt Ribičić I, Valić M, Božić J, Obad A, Glavaš D, Glavičić I, Valić Z. Influence of oxygen enriched gases during decompression on bubble formation and endothelial function in self-contained underwater breathing apparatus diving: a randomized controlled study. *Croat Med J.* 2019;60:265-72.
2. Šegrt Ribičić I, Valić M, Lušić Kalcina L, Božić J, Obad A, Glavaš D, Glavičić I, Valić Z. Effects of Oxygen Prebreathing on Bubble Formation, Flow-Mediated Dilatation, and Psychomotor Performance during Trimix Dives. *Sports (Basel).* 2024;12:35.

ZAHVALA

Zahvaljujem svojoj dragoj mentorici prof. Maji Valić koja me cijelim putem objavljivanja radova i izrade doktorske disertacije vodila strpljivo, uporno, znanstveno kao pravi primjer mentorstva.

Hvala prof. Zoranu Valiću na neiscrpnim znanstvenim idejama i sugestijama.

Hvala svim sudionicima oba istraživanja na pomoći prilikom same provedbe istraživanja, kako i tijekom obrade i pisanja znanstvenih radova.

Hvala mojoj obitelji što su uvijek uz mene i bez kojih ne bi bilo moguće sve ovo ostvariti.

Mom Davidu ...

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
1.1. Ronjenje.....	2
1.2. Ronjenje s plinskim smjesama.....	4
1.3. Endotelna funkcija.....	6
1.4. Hiperoksija kod ronjenja.....	7
1.5. Kognitivne i psihomotorne promjene kod ronjenja.....	8
2. CILJ RADA I HIPOTEZE.....	11
2.1. Ciljevi.....	12
2.2. Hipoteze.....	13
3. ISPITANICI I POSTUPCI.....	14
3.1. Ustroj istraživanja.....	15
3.2. Ispitanici	15
3.2.1. <i>Veličina uzorka.....</i>	<i>17</i>
3.2.2. <i>Etičko odobrenje i registracija istraživanja</i>	<i>17</i>
3.3. Postupci	18
3.3.1. <i>Ultrazvučni monitoring mjehurića plina u srčanim šupljinama.....</i>	<i>18</i>
3.3.2. <i>Procjena endotelne funkcije pomoću FMD-a</i>	<i>19</i>
3.3.3. <i>CRD testovi.....</i>	<i>19</i>
3.3.4. <i>STAI upitnik.....</i>	<i>20</i>
3.3.5. <i>Protokoli.....</i>	<i>21</i>
3.4. Statistička raščlamba.....	23
4. REZULTATI	24
4.1. Trajanje zarona.....	25
4.2. Ultrazvučno stupnjevanje mjehurića plina.....	27
4.3. FMD i brzina protoka krvi kroz brahijalnu arteriju.....	29

4.4. Kognitivno i psihomotorno mjerenje.....	34
5. RASPRAVA	36
5.1. Pojavnost mjehurića plina.....	37
5.2. FMD i hiperoksija.....	38
5.3. Kisik i psihomotorne promjene.....	41
5.4. Anksioznost u ronioca.....	43
5.5. Ograničenja istraživanja.....	44
6. ZAKLJUČAK	45
7. LITERATURA	47
8. SAŽETAK	56
9. SUMMARY	58
10. ŽIVOTOPIS	60

POPIS OZNAKA I KRATICA

SCUBA	ronjenje uz upotrebu komprimirane smjese plinova (prema engl. self-contained underwater breathing apparatus)
DCS	dekompresijska bolest (prema engl. decompression sickness)
EAN	nitroks smjesa (prema engl. Enriched Air Nitrox)
NO	dušični oksid
FMD	protokom posredovana vazodilatacija (prema engl. flow-mediated dilatation)
sGC	gvanilil-ciklaza
GTP	gvanozin trifosfat
cGMP	ciklički gvanozin monofosfat
ROS	molekula reaktivnog kisika (prema engl. reactive oxygen species)
CRD	sustav testova (prema engl. Computerized Complex Reactionmeter Drenovac)
TTST	ukupno vrijeme rješavanja testova
MinT	minimalno vrijeme rješavanja pojedinog zadatka
MedT	srednja vrijednost rješavanja pojedinog zadatka (MedT)
SB, EB, TB	početni, krajnji balast i ukupni balast
STAI	upitnik anksioznosti kao stanja i osobine ličnosti (prema engl. State-Trait Anxiety Inventory)
Ti	razlika između vremena svake pojedinačne stavke
O ₂ ⁻	superoksidni anion
ONOO ⁻	peroksinitritni anion
NOS	kofaktor sintaze dušikovog oksida
CAT	Katalaza
GPx	glutation peroksidaza
SOD	superoksid dismutaza
CO ₂	ugljični dioksid

CFFF bihevioralno računalno testiranje CFFF (prema engl. critical flicker fusion frequency)

GABA gama-aminomaslačna kiselina

1. UVOD

1.1. Ronjenje

Ronjenje uz upotrebu komprimirane smjese plinova (engl. self-contained underwater breathing apparatus, SCUBA ronjenje) postalo je diljem svijeta popularna aktivnost. Broj licenciranih ronioaca utrostručio se u posljednjih 20 godina, iako se ronjenje i dalje percipira kao sport ili slobodna aktivnost visokog rizika (1). SCUBA uređaji koji se rabe u sportskim i komercijalnim ronjenjima većinom rabe sustav otvorenog kruga gdje se izdahnuti plin izbacuje u okolinu. Uređaj se sastoji od jednog ili više spremnika sa smjesama plinova za udisanje, redukcijskog ventila za snižavanje tlaka iz spremnika, kombiniranog ventila koji omogućava udisanje i izdisanje plinova uz minimalne promjene tlakova s obzirom na okolinu te maske i cijevi s malim mrtvim prostorom. Kod ronjenja sa zatvorenim sustavom nema otpuštanja plina već se sustav temelji na konstantnom obogaćivanju izdahnutog plina novim količinama kisika potrebnog za disanje. Ronjenje u zatvorenom krugu zahtijeva znatno više obuke i smatra se opasnijim stoga se koristi kod vojnih ronioaca i povremeno u znanstvenim istraživanjima osobito ako uključuju fotografiranje jer nema stvaranja mjehurića u stupcu vode i na površini. Nadalje, poluzatvoreni krugovi koji se mogu rabiti u sportskom ronjenju tipično koriste smjese dušika i kisika koje dodaju plin kada računalno upravljani senzori kisika detektiraju niske parcijalne tlakove, a izdahnuti zrak se raznim filterima čisti od izdahnutog ugljičnog dioksida (2).

SCUBA ronjenje povezano je s brojnim fiziološkim promjenama kao posljedica pojave mjehurića plina (najčešće dušika) u venskoj cirkulaciji, te promjenama endotelne funkcije (3). Osim navedenih, zabilježene su i kardiovaskularne smetnje kao što je povećani tlak u plućnoj arteriji uz opterećenje desnog srca, koje se mogu vidjeti čak nakon samo jednog zarona (4-6). Promjene u kognitivnim funkcijama, motoričkoj izvedbi i raspoloženju također su zabilježeni u ronjenju (7-9).

Tijekom SCUBA ronjenja, zbog porasta tlaka u okolini ovisno o dubini i trajanju zarona, plin pojačano difundira iz alveola u krv te nadalje u periferna tkiva. Sav višak tako otopljenog plina mora se ukloniti tijekom izrona kada dolazi do smanjenja tlaka u okolini ronioaca (dekompresija). Kako bi se osiguralo odgovarajuće uklanjanje plina respiracijom, izron se mora odvijati prema utvrđenim protokolima, odgovarajućom brzinom i uz eventualne dekompresijske zastanke. Ukoliko je faza izrona prebrza, dolazi do velikog pada tlaka u okolini ronioaca, što onemogućuje zadržavanje viška plina u otopljenom stanju te dolazi do stvaranja mjehurića plina u tkivima i cirkulaciji. Pretpostavlja se da tako nastali mjehurići plina koji mogu opstruirati krvne žile u različitim tkivima igraju važnu ulogu u patofiziologiji razvoja dekompresijske bolesti (engl. decompression sickness, DCS) u SCUBA ronioaca koja se najčešće očituje od prolazne boli u mišićima do rijetkih

smrtonosnih oštećenja mozga i plućnih kapilara. Za napomenuti je da je bilo slučajeva dekompresijske bolesti u ronilaca bez ili sa vrlo malo mjehurića u cirkulaciji što upućuje da su oni samo jedan od čimbenika rizika (10).

Ronjenje se može podijeliti na rekreacijsko i tehničko s obzirom na zadana ograničenja. U rekreacijskom ronjenju maksimalna dubina zarona iznosi 40 m, a ronilac u svakom trenutku tijekom zarona može izroniti na površinu bez provođenja obaveznog dekompresijskog zastanka. Kako bi ronilac bio u stanju izvesti izravan vertikalni izron ne smije zaranjati u olupine i pećine bez da u svakom trenutku vidi izlaz iz istih bez korištenja umjetnog podvodnog svjetla. Nadalje, ukupna dubina zarona i eventualna duljina unutar olupine ili pećine ne smije prelaziti 40 m, a samo ronjenje temelji se na ronjenju u paru i prihvatljivim uvjetima okoline. U rekreacijskom ronjenju koristi se isključivo jedna smjesa komprimiranog plina tijekom cijelog zarona. Najčešće se radi o komprimiranom zraku, ali moguće je koristiti i druge kisikom obogaćene smjese s postotkom kisika između 21% i 40% s time što parcijalni tlak kisika nikada tijekom zarona ne smije prijeći 1,6 bara. Naposljetku, rekreacijsko ronjenje pretpostavlja uporabu sustava s otvorenim krugom tijekom ronjenja čime se omogućava da zrak koji ronilac izdahne se ispusti kroz izdisajnu komoru direktno u okolinu. Ukoliko ronjenje nadilazi bilo koji od gore navedenih parametara, govorimo o tehničkom ronjenju za čije provođenje je neophodno dodatno školovanje i oprema (11,12).

1.2. Ronjenje s plinskim smjesama

Danas postoje različite mješavine plinova za ronjenje, koje nisu atmosferski zrak, a najčešće se koriste radi smanjenja negativnih utjecaja na zdravlje ronioca. Jedna od najraširenijih smjesa za ronjenje je nitroks smjesa, poznata još i pod nazivom EAN (engl. Enriched Air Nitrox), koja se sastoji od dušika i kisika. Primjena nitroksa u rekreacijskom ronjenju temelji se na ideji da će smanjenje udjela dušika ispod razine prisutne u zraku (oko 78%) umanjiti njegove negativne učinke (narkotični učinak i broj mjehurića) te da će stoga zaron na određenoj dubini moći trajati dulje bez potrebe za dekompresijskim zastankom (13). U tehničkom ronjenju nitroks se uvodi kao druga smjesa plina, najčešće na dekompresijskom zastanku. Obično se za dekompresiju koristi nitroks 50 koji sadrži 50% kisika i 50% dušika. Poštujući pravilo da parcijalni tlak kisika na dekompresiji može biti 1,6 bara, isti se počinje koristiti na 21. metru dubine i koristi se za sve dekompresijske zastanke do površine. U procesu zvanom denitrogenacija udisanjem smjese sa smanjenim udjelom dušika povećava se gradijent parcijalnog tlaka dušika između venske krvi i alveola, ubrzavajući njegovu eliminaciju iz tijela, te na taj način smanjuje mogućnost nastanka dušikovih mjehurića plina. Kao posljedica ubrzanog izdavanja dušika (engl. oxygen window, kisikov prozor), moguće je skratiti trajanje dekompresijskih zastanaka u odnosu na zaron u kojem se koristi samo komprimirani zrak. Na taj način ukupno trajanje zarona može biti značajno skraćeno. S druge strane, kako se u tehničkom ronjenju koristi nitroks smjesa s povećanim udjelom kisika od preko 40% postoji mogućnost prelaska sigurnosne granice od 1,6 bara parcijalnog tlaka kisika što može dovesti do toksičnih učinaka kisika, nenadanih konvulzija (Paul Bertov toksični učinak kisika) i smrtnih posljedica (14, 15).

Za tehničko ronjenje na većim dubinama često se koristi trimiks, smjesa plinova koja se sastoji od kisika, helija i dušika. Koristi se za ronjenje uglavnom između 50 i 100 metara dubine. Uvođenje helija smanjuje narkotično djelovanje dušika pri većim tlakovima, te olakšava disanje zbog smanjenja gustoće smjese za disanje. Prema današnjim spoznajama helij kao plin nema toksičnog ni narkotičnog djelovanja na ljudsko tijelo do 120 metara dubine. Nadalje, korištenje smjese sa smanjenim udjelom kisika (manje nego u zraku), ograničava štetne učinke povećanog parcijalnog tlaka kisika na velikim dubinama (16). Boce za ronjenje na trimiks smjesu označavaju udio kisika i helija u smjesi, npr. "trimiks 17/40", a ostatak do 100 podrazumijeva udio dušika.

Od samih početaka zadaća medicine ronjenja bila je učiniti ronjenje što sigurnijom aktivnošću te istražiti postupke koji smanjuju vjerojatnost nastanka mjehurića plina i dekompresijske bolesti. Jedan od takvih postupaka je i primjena mješavina obogaćenih kisikom

prije zarona, kao i tijekom dekompresije. Naime, prilikom boravka na razini mora (tlak od 1 bara), u ljudskom tijelu otopljena je gotovo jedna litra dušika, od čega je više od polovice otopljeno u masnom tkivu, a ostatak u tjelesnim tekućinama (17). Stoga je bilo razumno pretpostaviti da će disanje 100% kisika prije zarona smanjiti količinu dušika u tijelu ronioca, što bi posljedično moglo smanjiti količinu dušika tijekom zarona i reducirati nastajanje mjehurića.

Istraživanje od strane Castagna i sur. na ponavljanim zaronima, pokazalo je da disanje normobaričnog kisika 30 minuta prije zarona na 30 metara smanjuje stvaranje mjehurića plina nakon izrona uz kumulativni efekt (18). Ista skupina istraživača pokazala je da disanje kisika tijekom dekompresije može skratiti vrijeme dekompresije i smanjiti pojavu mjehurića plina u cirkulaciji. Istraživanja se temelje na tzv. metodi eliminacije već postojećih pre-mjehurića plina. Naime pre-mjehurići plina promjera oko 1 μm , uz prezasićenje plinom u tkivima i krvi koje se odvija tijekom ili nakon dekompresijske faze ronjenja, sposobni su prijeći u mjehuriće zraka (19). Udisanje kisika prije zarona ili korištenje smjesa obogaćenih kisikom tijekom dekompresije upravo eliminira postojeće pre-mjehuriće plina prije nego što su sposobni narasti u prave mjehuriće plina, mehanizmom koji se temelji na mogućnosti da kisik zamjeni dušik u jezgri procesom difuzije (20).

1.3. Endotelna funkcija

Endotelne stanice krvnih žila djeluju kao samostalni organ otpuštajući različite vazoaktivne tvari koje sudjeluju u homeostazi kardiovaskularnog sustava. Endotelne stanice su neprekidno izložene raznim humoralnim, mehaničkim i hemodinamskim utjecajima, te se na njih prilagođavaju akutnim i kroničnim promjenama (21). Smanjena dostupnost jedne od tih supstanci koja sudjeluje u homeostazi, dušičnog oksida (NO) kao glavnog medijatora vazodilatacije, postala je sinonim za nastanak tzv. endotelne disfunkcije. Upravo je endotelna disfunkcija predložena kao najraniji događaj u razvoju prvih potencijalno reverzibilnih manifestacija aterosklerotske kardiovaskularne bolesti. Endotelna disfunkcija očituje se aktivacijom krvne žile s izraženim proupalnim i vazokonstriktorskim obilježjima (22). Budući je u podlozi endotelne disfunkcije nedovoljna raspoloživost NO, postoji mogućnost da prilikom ronjenja dolazi do njegove pojačane potrošnje i smanjenog stvaranja.

Protjecanje krvi kroz krvnu žilu dovodi do stvaranja sila (engl. shear stress) na endotelne stanice koje posljedično oslobađaju dušični oksid koji dovodi do vazodilatacije (engl. flow-mediated dilatation, FMD). Nakon što se sintetizira, NO difundira kroz endotelnu stanicu u okolnu mišićnu stanicu te se veže za enzim gvanilil-ciklazu (sGC). Sada aktivirani enzim povećava pretvorbu gvanozin trifosfata (GTP) u ciklički gvanozin monofosfat (cGMP) koji potiče kaskadu biokemijskih reakcija čiji je krajnji rezultat smanjenje ulaska iona kalcija u stanicu, te smanjenje kontrakcije glatkog mišićja (23).

Mjerenje FMD-a u brahijalnoj arteriji standardna je, neinvazivna tehnika za procjenu endotelne funkcije na razini cijelog organizma. Postotak porasta promjera brahijalne arterije ukazuje na raspoloživost NO koji posreduje dilataciju krvne žile (22). Na samo mjerenje mogu utjecati prethodna tjelovježba, povišena temperatura, debljina, unos alkohola, pušenje kao i korištenje lijekova. Također, bitno je izvoditi mjerenje uvijek na istom mjestu označenog lumena krvne žile, u istom vremenskom intervalu i za vrijeme istog srčanog ciklusa(24).

Kako mjerenje FMD-a predstavlja zlatni standard za klinička istraživanja endotelne funkcije perifernih arterije, rađen je veći broj studija s komprimiranim plinskim smjesama u različitim protokolima ronjenja. U istraživanjima na ronionicima u hiperbaričnoj komori i u moru, mjerenje FMD-a je pokazalo prolazno oštećenje endotelne funkcije odmah nakon zarona (3, 25).

1.4. Hiperoksija kod ronjenja

Hiperoksija u tkivima ronionca nastaje zbog povećanih parcijalnih tlakova kisika tijekom zarona. U normalnim uvjetima svaka litra krvi donosi u tkiva oko 2,2 mmol kisika, uglavnom u spoju s hemoglobinom, a dio topljiv u plazmi je zanemariv. Međutim, ako ronilac diše čisti kisik na dubini od 30 metara, parcijalni tlak kisika u plućima biti će oko 4 bara (400 kPa), te će se velika dodatna količina kisika dopremiti do tkiva otopljena u plazmi. Kako toliko kisika nije potrebno tkivu, parcijalni tlak kisika na mjestu otpuštanja u tkivima biti će oko 30 puta veći od normalnog parcijalnog tlaka (160 kPa umjesto 5,3 kPa). Osim ranije spomenutog Paul Bertova toksičnog učinka kisika koji se očituje nalik epilepsiji i može dovesti do smrti, povećani tlak kisika ima štetan učinak i na pluća (Lorrain Smitov toksični učinak) u vidu edema, atelektaze i poremećaja izmjene plinova. Kako su oksidaciji podložne nezasićene masne kiseline posebice u živčanom sustavu, ronjenje na čisti zrak može uzrokovati konvulzije (26).

Pokazano je da udisanje kisika pod većim hidrostatskim tlakom (hiperbarični kisik) snižava FMD, a također smanjuje vijek i proliferaciju stanica endotela malih krvnih žila (27,28). Hiperoksija dovodi do vazokonstrukcije vjerojatno zbog smanjenja stvaranja dušičnog oksida, koji je ključan za endotelnu vazodilataciju, i posljedičnog smanjenja vrijednosti FMD-a kao što je pokazano u studijama na brahijalnoj i radijalnoj arteriji (3,27,29). Drugi mogući put je pad aktivnosti ciklooksigenaze izazvane hiperoksijom u endotelnim stanicama čime se smanjuje razina vazodilacijskih prostaglandina (30). Nadalje, hiperoksija može dovesti do povećanog stvaranja molekula reaktivnog kisika (engl. reactive oxygen species, ROS) koje u interakciji sa strukturama stanice uzrokuju oštećenje njezinih struktura te posredno dolazi do smanjenja bioraspoloživosti NO i endotelne disfunkcije. Nasuprot toga, po izronu se aktivira kaskada protiv oksidativnog stresa nastalog u hiperbaričnim uvjetima tijekom ronjenja. U istraživanjima je dodatno pokazano da mjehurići zraka i hiperoksija zajedno mogu dovesti do disfunkcije endotela (28,31,32).

Usporedba zarona bez dekompresije na 18 m korištenjem zraka ili nitroksa 36 (36% kisik i 64% dušik) pokazala je smanjeno nastajanje mjehurića plina ukoliko se koristio nitroks 36. Istodobno funkcija endotela izražena kao promjena u FMD-u bila je značajnije oštećena ukoliko se prilikom ronjenja koristila smjesa obogaćena kisikom (nitroks 36), vjerojatno zbog štetnog učinka povećanog udjela kisika (14).

1.5. Kognitivne i psihomotorne promjene kod ronjenja

Tijekom SCUBA ronjenja ljudsko tijelo izloženo je izuzetno povećanim parcijalnim tlakovima udahnutih plinova. U ronioca koji rone na komprimirani zrak prvi znaci narkoze u vidu manjka pozornosti javljaju se na dubini oko 35 metara. Kako dubina napreduje ronilac postaje pospan, a na dubini oko 75 metara (tlak oko 860 kPa) ako se na njoj dugo zadrži postaje omamljen. Živčani sustav je izložen štetnim učincima otopljenog dušika što se manifestira kao opijenost dubinom, a nalikuje promjenama vidljivim prilikom intoksikacije alkoholom. To se javlja zbog inertnosti i velike topivosti dušika u masnom tkivu prilikom dubljeg ronjenja. Smatra se da dušik svojim fizičkim učinkom djeluje na promjenu ionske vodljivosti membrane i smanjuje neuronsku podražljivost. Gubitak senzomotornih informacija uslijed narkoze dovodi do produljenja vremena potrebnog za reakciju što može biti fatalno (17,33). Kisikom obogaćene smjese uz manje dušika (nitroks), koje su popularne u rekreacijskom ronjenju naspram disanja komprimiranog zraka, smanjuju rizik od dekompresijske bolesti i stvaranja mjehurića u krvnim žilama te nastoje spriječiti narkotički učinak dušika koji se očituje u padu kognitivnih funkcija što može dovesti do fatalnog ishoda (34,35). Većina objavljenih studija o ronjenju proučavala je upravo navedene negativne kognitivne učinke, dok je manji broj studija predložio ronjenje kao aktivnost dobru za mentalno zdravlje (36).

Naime, brojna istraživanja su ukazala na kognitivna oštećenja među ronionicima koja predstavljaju potencijalnu prijetnju sigurnosti ronjenja (37,38). Među prvima bila je Geneva prospektivna studija koja je naglasila dugoročna kognitivna oštećenja i važnost odabira vrste SCUBA ronjenja kao potencijalno ekstremnog sporta. Rezultati su pokazali da kognitivne izvedbe i moždani protok krvi ovise o broju, dubini zarona i specifičnim okolišnim čimbenicima kao što je hladna voda (38).

Uz malobrojnija ispitivanja mogućih dugoročnih kognitivnih oštećenja, kratkoročno štetni učinci tijekom i odmah nakon zarona jasno se očituju kao produljeno vrijeme odgovora i smanjenje pridružene pozornosti. Također, nađene su i povišene vrijednosti hormona kortizola koje daju zaključiti da je ronjenje stresni događaj za ljudski organizam (9). Mjerenje kognitivne funkcije prije, tijekom i 30 minuta nakon ronjenja koristeći bihevioralno računalno testiranje pokazalo je poboljšanje kognitivnih sposobnosti nakon dolaska na 0,4 MPa, nakon čega je slijedio progresivni pad koji je trajao do 30 minuta nakon izrona. Smjesa obogaćena kisikom (nitroks) je bila povezana s većom moždanom aktivnošću korteksa, a kisik se pokazao kao vjerojatno bitan modulator u smanjenju dušične toksičnosti (7). Nadalje, čini se da je veća frakcija udahnutog kisika ($pO_2 = 162$

kPa na nitroksu naspram $pO_2 = 81\text{kPa}$ na zraku) pozitivno utjecala na kognitivne sposobnosti (7,8). Navedeno odgovara ranijim istraživanjima u zdravih mladih ljudi koji su prije izvedbe kognitivnih testova udisali čisti kisik i ovisno o vremenu udisanja pokazali poboljšanje pažnje i dugotrajne memorije (39). Osim toga, istraživanja su pokazala da endotelna disfunkcija utječe na sposobnost brzine obrade informacija, psihomotorne vještine uz mentalnom fleksibilnost i združenu pažnju (40,41).

Za ispitivanje kognitivne i psihomotorne funkcije u istraživanjima prilikom plućih zarona u barokomori koristio se sustav testova (engl. Computerized Complex Reactionmeter Drenovac, CRD) koji omogućuje mjerenje jednostavnih i složenih kognitivne te psihomotornih izvedbi koje pružaju podatke o brzini mentalne obrade i stabilnosti psihomotornog funkcioniranja tijekom samog procesa testiranja (42). CRD testovi su mogu koristi za procjenu psihomotornih vještina u različito dizajniranim istraživanjima bez obzira na dob, jezična ili druga specifična ograničenja. Osim toga, instrument se može upotrebljavati više puta na istim ispitanicima bez mogućnosti učenja (43-46). Na psihomotornu izvedbu SCUBA ronioca mogu utjecati različiti vanjski utjecaji kao tlak i temperatura vode, ali i osobni emocionalni doživljaji kao što je anksioznost. Također, samo panično ponašanje može se pogoršati različitim vanjskim utjecajima kao što su loši okolišni uvjeti, specifična oprema i loša fizička kondicija (47-49). Panično ponašanje je čest uzrok nesreća u ronioca, a može se pojaviti u iskusnih, kao i u ronioca početnika. Spielbergerov model procjene anksioznosti predviđa osobe koje su sklonije paničnim ponašanjima (visoki stupanj anksioznosti kao osobine ličnosti) ako su izloženi nekom stresnom događaju (anksioznost kao trenutno stanje npr. kod ronjenja) (50). Također, pokazalo se da su ronjenje i bodovanje anksioznosti u linearnoj korelaciji; najbolje izvedbe povezane su s niskim stupnjem anksioznost i obrnuto (51).

Iako su široko istraživani pozitivni učinci disanja kisika na smanjeno stvaranje mjehurića plina u zaronima bez dekompresije, dostupni su samo ograničeni podaci na njegove učinke kako na stvaranje mjehurića tako i na endotelnu funkcija nakon dekompresijskog zarona na veće dubine. (14,18,19,28).

Nadalje, u doktorskoj disertaciji procijenjeni su kratkoročni učinci ronjenja na kognitivne i psihomotorne performanse kao i razina anksioznosti svakog ronioca, a sve u svrhu poboljšanja uvjeta i protokola tijekom tehničkih ronjenja.

2. CILJ RADA I HIPOTEZE

2.1. Ciljevi

Glavni cilj prvog dijela istraživanja:

1. Ispitati može li primjena smjesa obogaćenih kisikom (nitroks 50 i nitroks 99) tijekom dekompresijskog postupka skratiti trajanje dekompresije, te smanjiti broj mjehurića detektiranih ultrazvukom u desnom atriju u usporedbi sa zaronom u kojem se koristio samo zrak. Nadalje, istražili smo kakav će učinak imati kisikom obogaćene smjese na endotelnu funkciju brahijalne arterije.

Glavni cilj drugog dijela istraživanja:

1. Ispitati može li se udisanjem 100% kisika u trajanju od 30 minuta neposredno prije zarona smanjiti nastanak mjehurića plina i očuvati endotelnu funkciju te na taj način povećati sigurnost ronjenja.

Sporedni ciljevi:

1. Ispitati učinak ronjenja na promjene kognitivne i psihomotorne sposobnosti.
2. Ispitati učinaka ronjenja na moguću pojavu anksioznosti.

2.2. Hipoteze

Hipoteze prvog dijela istraživanja:

1. Upotreba plinskih mješavina obogaćenih kisikom (nitroks 50 i nitroks 99) tijekom dekompresijskog postupka nakon zarona na 45 metara dubine skratit će trajanje dekompresije i smanjiti broj mjehurića u usporedbi s korištenjem komprimiranog zraka tijekom dekompresije.
2. Upotreba plinskih mješavina obogaćenih kisikom (nitroks 50 i nitroks 99) tijekom dekompresijskog postupka nakon zarona na 45 metara dubine dovest će do smanjenja protokom posredovane vazodilatacije brahijalne arterije nakon 5 minutne okluzije.

Hipoteze drugog dijela istraživanja:

1. Udisanje 100% kisika 30 minuta prije zarona na 60 metara dubine dovest će do smanjenja broja mjehurića plina u desnom srcu u usporedbi s identičnim zaronom kojem nije prethodilo udisanje 100% kisika.
2. Protokom posredovana vazodilatacija bit će smanjena nakon zarona na 60 metara dubine s prethodnim udisanjem 100% kisika.
3. Testovi kognitivne, psihomotorne sposobnosti i anksioznosti bit će lošiji nakon ronjenja u usporedbi s razdobljem prije zarona.

3. ISPITANICI I POSTUPCI

3.1. Ustroj istraživanja

Znanstvena istraživanja u doktorskoj disertaciji su prema svom ustroju prospektivna eksperimentalna istraživanja. U obje studije svi ronionci su sudjelovali u svim protokolima te su na taj način služili kao vlastita kontrola. Redoslijed pojedinih protokola bio je randomiziran za pojedini par ronilaca. Ovo istraživanje bilo je intervencijsko, a prikupljeni podatci su primarno dobiveni kao rezultat izravnog mjerenja.

3.2. Ispitanici

Istraživanje je provedeno u ronilačkom centru „Big Blue Diving“ Bol, otok Brač, Hrvatska. U prvom dijelu istraživanja bilo je uključeno deset SCUBA ronionca, pet muškaraca i pet žena. U tablici 1. prikazana su osnovna antropometrijska obilježja ronionca i ronilačko iskustvo. U drugom dijelu istraživanja bilo je uključeno dvanaest SCUBA ronionca, od njih je bila jedna žena. U tablici 2. prikazana su osnovna antropometrijska obilježja ronionca.

Tablica 1. Antropometrijska obilježja i ronilačko iskustvo.

Parametri		Muškarci	Žene
Broj	10	5	5
Starost (godine)	39.3±9.7	44.6±12.5	34.0±8.4
Težina (kg)	69.6±13.4	81.2±21.8	58.0±6.7
Visina (cm)	173.3±8.0	179.8±49.6	166.8±2.9
Ronilačko iskustvo (godine)	17.0±12.8	23.0±12.2	8.2±9.6
Ronilačko iskustvo (broj sati u godini)	151.0±141.5	264.0±136.5	38.2±21.5

Parametri su prikazane kao srednja vrijednost ± SD

Tablica 2. Antropometrijska obilježja ronioca.

Parametari	
Broj	12
Spol (muškarci/žene)	11/1
Starost (godine)	37 ± 8
Težina (kg)	85 ± 16
Visina (cm)	179 ± 7
BMI (kg/m ²)	26.2 ± 3.4
Arterijski tlak (mmHg)	
sistolički	131 ± 14
dijastolički	84 ± 8

Parametri su prikazane kao srednja vrijednost ± SD

Svim ronionicima bio je zabranjen alkohol i pušenje najmanje 6 sati prije ronjenja. U prvom dijelu istraživanja četiri ronioca su bili pušači, od toga tri žene. U prvom dijelu istraživanja nekolicina ronioca je uzimala antihipertenzive.

Kriteriji uključenja:

- roniaci s licencom za SCUBA ronjenje;
- više od 20 sati ronjenja godišnje;
- bez anamnestičkih podataka o dekompresijskoj bolesti.

Kriteriji isključenja:

- roniaci bez iskustva;
- roniaci mlađi od 18 godina;
- roniaci s težim kardiovaskularnim, neurološkim i malignim oboljenjima.

3.2.1. Veličina uzorka

Statistički program MedCalc (verzija 19.1.2, MedCalc Software, Ostend, Belgija), korišten je za izračun veličine uzorka, koristeći t-test za povezane uzorke. Za izračun su se koristili podatci dobiveni pilot istraživanjem na 3 ispitanika odabranih slučajnim odabirom iz populacije SCUBA ronioca. Za izračun je korištena vrijednost FMD-a, jednog od glavnih ishoda istraživanja. U ispitivanih SCUBA ronioca, srednja vrijednost FMD-a prije zarona u kombinaciji s nitroks 50 protokolom bila je $13.8 \pm 6.1\%$, a nakon zarona $5.1 \pm 5.2\%$. Uz α pogrešku od 0.05 te snagu istraživanja od 90% izračunata potrebna veličina uzorka iznosi 7 ispitanika u skupini.

3.2.2. Etičko odobrenje i registracija istraživanja

Svi postupci koji doprinose ovom radu u skladu su s etičkim standardima relevantnih nacionalnih i institucionalnih smjernica o eksperimentiranju na ljudima i s Helsinškom deklaracijom iz 1975. godine kako je revidirano 2008. godine.

Istraživanje je odobreno od strane Etičkog povjerenstva Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu dana 19. svibnja 2014. godine (ubroj: 2181-198-03-04-14-0023). Ispitanici su potpisali pismeni pristanak za sudjelovanje u studiji i publikaciju podataka, nakon što su detaljno upoznati s potencijalnim rizicima i protokolom studije.

Istraživački rad u sklopu doktorske disertacije dio je znanstveno istraživačkog projekta „Ronjenje na dah i kardiovaskularni sustav“, voditelja prof. dr. sc. Zorana Valića (Medicinski fakultet u Splitu). Projekt je financiran sredstvima Ministarstva znanosti i obrazovanja iz programa financiranja istraživačkih projekata pod brojem 216-2160133-0330. Istraživanja su se provodilo u ronilačkom centru „Big Blue Diving“ Bol, na otoku Braču te Medicinskom fakultetu u Splitu. U istraživanju su sudjelovali djelatnici Medicinskog fakulteta, Kliničkog bolničkog centra u Splitu i Sveučilišnog odjela za studije mora, a istraživanjem je koordinirala profesorica Maja Valić.

3.3. Postupci

U prvom dijelu istraživanja deset ronioaca je ronilo ujutro oko 9 ili popodne oko 15 sati u temperaturi mora oko 17°C, a zraka od 29-34°C. Za ronjenje su se koristili komprimirani zrak, nitroks 50 (50% kisik i 50% dušik) i nitroks 99 plinska mješavina (99% kisik i 1% dušik). Svaki od ronioaca ronio je na sve tri smjese plinova sa danom odmora između tih zarona. Ronioci su zaranjali do 45 metara morske dubine s 20 minuta od početka zarona (engl. bottom time). Prilikom zarona do dna koristili su komprimirani zrak, a tijekom vraćanja na morsku površinu koristili su zrak, nitroks 50 ili nitroks 99 ovisno o nasumičnom izboru (izvlačenje papirića s natpisom protokola: 1. zrak, 2. nitroks 50 ili 3. nitroks 99). Nitroks 50 i nitroks 99 uvodili su se na 21 odnosno 6 metara dubine prema izračunu V-planera (HHS Software Corp, Kingston, Kanada).

U drugom dijelu istraživanja dvanaest ronioaca je ronilo popodne oko 15 sati u temperaturi mora oko 17°C, a zraka od 29-34°C. Za ronjenje su koristili trimiks smjesu (50% dušik, 30% helij i 20% kisik). Svaki ronioac je imao dva zarona u razmaku od 48 sati. Redosljed ronilačkih protokola bio je randomiziran ovisno o nasumičnom izboru (izvlačenje papiriće s natpisom plinova prije urona). U 1. protokolu roniodci su udisali zrak iz okoliš 30 minuta prije ronjenja na trimiks smjesu. U 2. protokolu roniodci su udisali 100% kisik iz komprimiranog spremnika 30 minuta prije ronjenja na trimiks smjesu. Roniodci su koristili trimiks smjesu za zaranjanje do 60 metara morske dubine, a prilikom vraćanja na morsku površinu na 21 metru morske dubine uveden je bio nitroks 50 (50% kisik i 50% dušik) prema izračunu V-planera (HHS Software Corp, Kingston, Kanada). Roniodci su za ronjenje koristili sustav otvorenog kruga uz osobnu ronilačku opremu, a ronilačke boce od 7 litara osigurao je ronilački centar.

3.3.1. *Ultrazvučni monitoring mjehurića plina u srčanim šupljinama*

Ultrazvučno monitoriranje mjehurića plina u srčanim šupljinama provodilo se sondom (1.5-3.3 MHz) na aparatu Vivid Q (GE Healthcare, Milwaukee, WI, SAD) uz prisutnost dvoje iskusnih kardiologa (D.G. i A.O) koji su bili slijepi za protokol ronjenja. Roniodci su bili u ležećem položaju za vrijeme mjerenja. Mjehurići se monitoriraju 30 minuta nakon zarona, za vrijeme dok roniodci mirno leže i nakon što se dva puta zakašlju, kao jaki ultrazvučni odjeci u srčanim šupljinama. Stupnjevanje mjehurića provodilo se prema prilagođenoj ljestvici koju su predložili autori Eftedal i Brubakk: 0= nema mjehurića, 1= po neki mjehurić, 2= barem 1 mjehurić svako četvrti srčani ciklus, 3= barem 1 mjehurić po srčanom ciklusu, 4= kontinuirano naviranje mjehurića u šupljine, 5= pojedini mjehurić se ne može raspoznati od ostalih (52).

3.3.2. Procjena endotelne funkcije pomoću FMD-a

Endotelna funkcija procjenjuje se mjereći promjenu FMD-a kroz brahijalnu arteriju nakon reaktivne hiperemije (53). Mjerenje se provodilo u mirnoj prostoriji temperature oko 20°C. Ronioci su mirno ležali 10-tak minuta prije svakog mjerenja. Za mjerenje se koristila ultrazvučna sonda 5.7-13.3 MHz na Vivid Q Expert ultrazvučnom skeneru. Mjerenje se provodilo prije i 40 - 60 minuta nakon zarona. Mjerenja su provodila dva iskusna kardiologa (D.G. i A.O.) koji su bili slijepi za protokol ronjenja. Promjer brahijalne arterije određen je ultrazvučnom uzdužnom slikom s pozicioniranim sučeljem lumen-intima na prednjem i stražnjem zidu. Slike se dobivaju pomoću elektrokardiograma koristeći R zubac za prepoznavanje kraja dijastole. Nakon slika odabranih za analizu, margine za mjerenje promjera žile mjere se ručno elektronskim kaliperom. Brzine protoka krvi mjere su pomoću pulsog Dopplera s volumenom uzorka smještenog u srednji dio arterije. Da bi se osigurala točnost, mjerenje se izvodi na istom dijelu arterije prije i nakon zarona, tako da se mjesto ultrazvučne sonde označi vodootpornim markerom. Za većinu mjerenja to bi odgovaralo od 3 do 5 cm proksimalno od lakatne udubine. Nakon što se učini bazalno mjerenje napuše se manšeta na podlaktici do 240 mm Hg u trajanju od 5 minuta. Opuštanjem manšete proizvede se stanje brzog protoka krvi kroz brahijalnu arteriju što dovede do dilatacije arterije posredovane protokom (FMD). Promjer arterije i brzina protoka krvi mjere se odmah nakon opuštanja manšete na 0, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 240 i 300 sekundi. FMD se izračuna kao postotak povećanja promjera brahijalne arterije od bazalnog stanja do maksimalne dilatacije. Dobiveni podaci pohranili su se na ultrazvučnom aparatu za daljnju analizu (3). Kako korištenje nitroglicerina može smanjiti pojavnost venskih mjehurića plina nakon dekompresije, nismo određivali dilataciju neovisnu o endotelu (53, 54).

3.3.3. CRD testovi

Za ispitivanje kognitivne i psihomotorne funkcije u istraživanjima koristio se sustav testova (engl. Computerized Complex Reactionmeter Drenovac, CRD) koji pruža podatke o brzini mentalne obrade i stabilnosti psihomotornog funkcioniranja tijekom samog procesa testiranja. Test serija se sastoji od softvera, 4 elektronička uređaja i ukupno 38 testova. Testovi se koriste za različite dobne skupine i ne ovisi o jeziku i specifičnim znanjima. Također, CRD se može više puta koristiti za iste ispitanike bez straha od pamćenja istog. U naših ispitanika koristili smo tri serije od najjednostavnijih do sve kompleksnijih: test konvergentnog mišljenja (CRD11) mjeri brzinu rješavanja jednostavnih aritmetičkih operacija, test diskriminacije svjetlosne pozicije (CRD311) mjeri brzinu percepcije, a test izvršnog mišljenja (CRD411) mjeri psihomotornu kordinaciju.

Ovisno o testu, kognitivna i psihomotorna procjena sastojala se od 60 (CRD311) ili 35 (CRD11 i CRD411) pojedinačnih zadataka. Kada su ronioci dali ispravan odgovor na jedan zadatak, prezentiran je sljedeći zadatak. Na taj način testovi nisu vremenski ograničeni, a vrijeme završetka ovisilo je o samom ispitaniku. Prosječno vrijeme do završetka sva tri testiranja u ovoj skupini ispitanika bilo od 7 do 10 minuta, uključujući vrijeme potrebno ispitivačima da pruže potpune upute ispitanicima između testova.

CRD testiranje provodilo se u tihoj sobi, prije i 60 - 80 minuta nakon svakog zarona pod nadzorom istraživača koji je bio zaslijepljen protokolom ronjenja. Prije samog testiranja, ronioci su individualno testirani serijom CRD testova do uspostavljanja stabilnog bazalnog rezultata, s ciljem da se izbjegne efekt učenja bez efekta poboljšanja.

Po rješavanju svih testova analiziralo se šest parametara: ukupno vrijeme rješavanja testova (TTST), minimalno vrijeme rješavanja pojedinog zadatka (MinT), srednja vrijednost rješavanja pojedinog zadatka (MedT), početni balast (SB), krajnji balast (EB) i ukupni balast (TB). TTST, MinT, i MedT opisuju brzinu, izvedbu i mentalnu izdržljivost. SB, EB i TB su indikatori stabilnosti izračunate kao zbroj razlika između vremena svake pojedinačne stavke (T_i) i minimalnog vremena rješavanja pojedinog zadatka ($TB = \sum T_i - MinT$) kod prve (SB) i zadnje polovice (EB) testa i cijelog testa (TB) (55).

3.3.4. STAI upitnik

Mjerenje anksioznosti u ronioca provodilo se hrvatskom inačicom upitnika anksioznosti kao stanja i osobine ličnosti (engl. State-Trait Anxiety Inventory, STAI) autora Spielberger i sur. (50). STAI upitnik se može koristiti za starije od 16 godina i već ranije se koristio za testiranje anksioznosti u ronioca gdje se pokazao pouzdanim testom (56,57).

STAI upitnik se sastoji od dvije ljestvice za samoprocjenu:

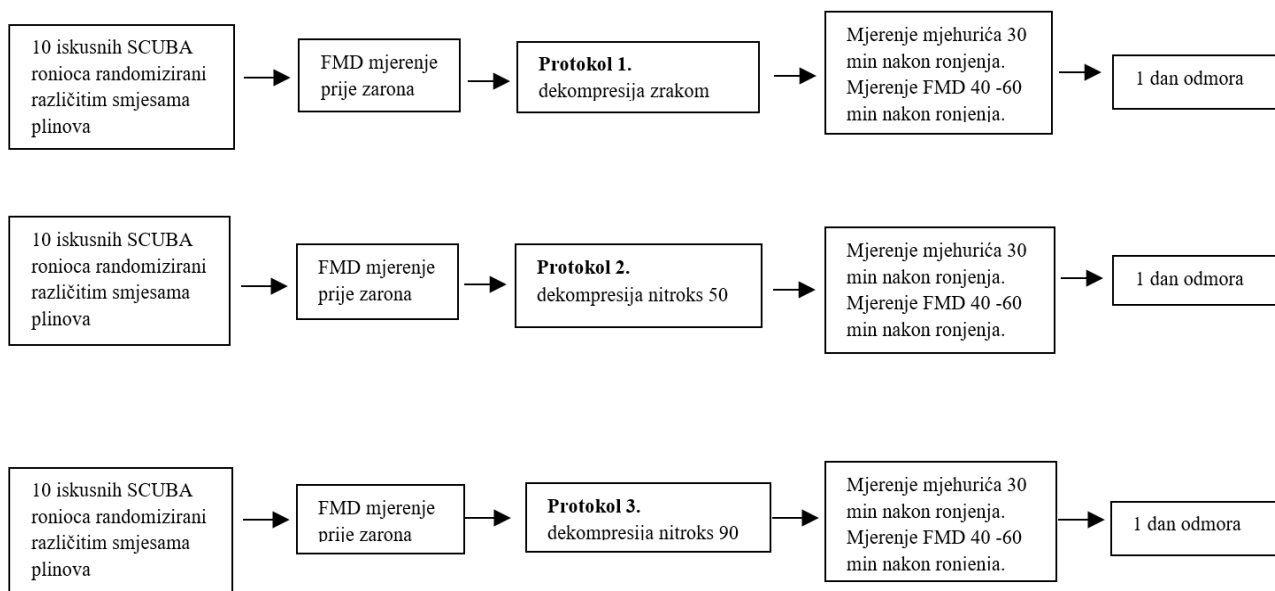
1. S-ljestvica je mjera anksioznosti kao stanja koja se odnosi na prolazna emocionalna stanja različitog intenziteta, obilježena subjektivnim doživljajem napetosti, nervoze, zabrinutosti, strepnje i aktivacijom autonomnog živčanog sustava.
2. O-ljestvica mjeri anksioznost kao osobinu ličnosti, tj. relativno stabilne individualne razlike u sklonosti anksioznosti.

Objekti ljestvice sastoje se od po 20 pitanja, a ispitanici svoje odgovore daju na skali od 4 stupnja (od 1 uopće ne do 4 apsolutno da) kojima se opisuje intenzitet osjećaja kod S-ljestvice odnosno učestalost pojave anksioznosti kod O-ljestvice. Na kraju testiranja svaka od ljestvica može donijeti od 20 do 80 bodova; od 10 do 40 bodova za dvije podskupine S-ljestvice, od 7 do 28 bodova za O –ljestvicu kao mjeru odsustva anksioznosti te od 13-52 bodova za O-ljestvicu kao mjeru prisustva anksioznosti kao osobinu ličnosti tog ispitanika (50).

Dan prije svakog zarona ronjaci su popunili STAI upitnik. Nakon ronjenja, otprilike 60 - 80 min nakon zarona ponovili su upitnik. Istraživač koji je provodio mjerenje bio je zaslijepljen za protokol ronjenja.

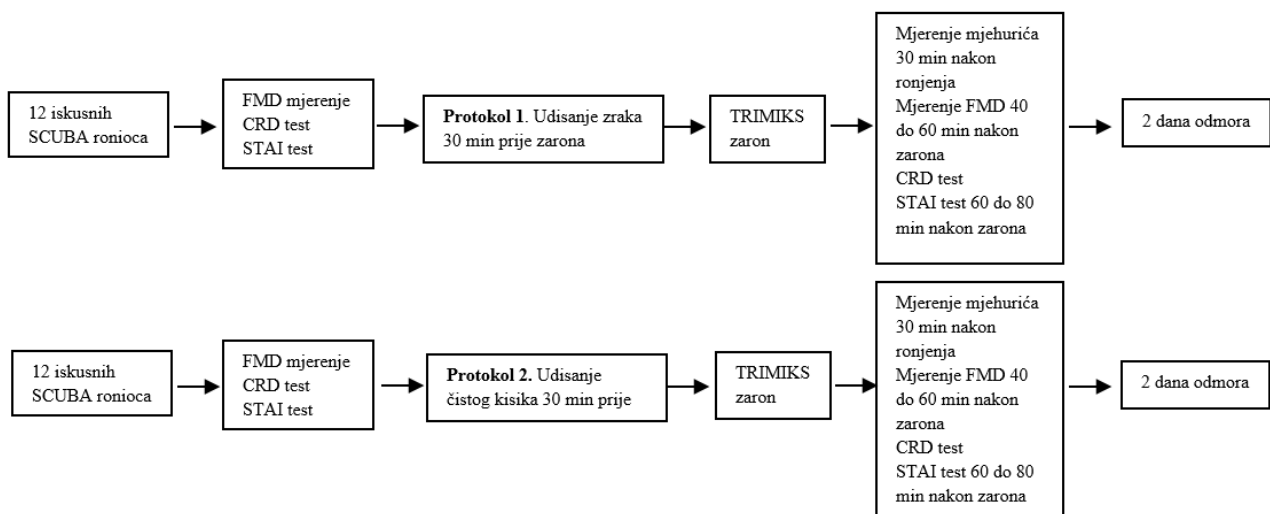
3.3.5. Protokoli

U prvom dijelu istraživanja ultrazvučni monitoring mjehurića plina u srčanim šupljinama se izvodio oko 30 minuta nakon svakog zarona, u stanju mirovanja dok ronjaci leže i nakon što dva puta zakašlju. FMD mjerenje se izvodilo prije, te 40 - 60 minuta nakon svakog zarona. Detaljni protokol prvog dijela istraživanja prikazan je na Slici 1.



Slika 1. Detaljni protokol prvog dijela istraživanja

U drugom dijelu istraživanja ultrazvučni monitoring mjehurića plina u srčanim šupljinama se izvodio oko 30 minuta nakon svakog zarona, u stanju mirovanja dok ronioce leže i nakon što dva puta zakašlju. FMD mjerenje se izvodilo prije te 40 - 60 minuta nakon svakog zarona. Uz gore navedene postupke u drugom dijelu istraživanja roniodci su proveli kognitivno i psihomotorno testiranje. Dan pred zaron roniodci su proveli CRD testiranje (jedna serija vježbe potom testiranje koje se snima) i riješili STAI upitnik. Nakon svakog zarona, a nakon što se detektiraju mjehurići i izmjeri FMD, roniodci su proveli CRD testiranje i riješili STAI upitnik (60 - 80 minuta nakon zarona). Detaljni protokol drugog dijela istraživanja prikazan je na Slici 2.



Slika 2. Detaljni protokol drugog dijela istraživanja

3.4. Statistička raščlamba

U prvom dijelu istraživanja za statističku analizu podataka korišten je računalni program SigmaPlot 12.5 (Systat Software, San Jose, CA, SAD). Normalnost raspodjele kontinuiranih varijabli testirana je Shapiro -Wilk test. Rezultati za pojavu mjehurića prikazani su kao medijan i raspon (25%-75% kvartalnog raspona i 10%-90% raspona). Podaci o stupnjevanju mjehurića uspoređivani su koristeći neparametrijski Friedmanov test za ponovljena mjerenja varijance s Tukey testom za sve parne višestruke usporedbe. Rezultati za FMD prikazani su kao srednja vrijednosti \pm standardna devijacija. Za usporedbu FMD rezultata ronjenja na jednu smjesu plinova (zrak, nitroks 50, nitroks 99) koristio se t-test za uparene uzorke (prije vs. poslije zarona). Za usporedbu ronjenja s tri različite smjese plinova (zrak, nitroks 50 ili nitroks 99), prije vs. poslije zarona, koristio se ANOVA test za ponavljana dvosmjerna mjerenja (eng. two way repeated measures ANOVA) praćen Tukey testom za sve parne višestruke usporedbe.

U drugom dijelu istraživanja za statističku analizu podataka korišten je računalni program MedCalc Statistical Software verzije 17.1 (MedCalc Software, Ostend, Belgija) i IBM SPSS Statistics za Windows Student verziju 14.0 (IBM Corp., Armonk, NY, SAD). Podaci su prikazani kao srednja vrijednost \pm standardna devijacija ili kao medijani i interkvartilni rasponi. Ovisno o rezultatima Shapiro-Wilk testa za normalnost varijabli, navode se različite mjere središnje tendencije i varijabilnosti. Kada rezultati ukazuju na asimetričnu distribuciju nakon Shapiro-Wilk testa, kao i vizualni pregled distribucije rezultata na Q-Q pločicama, prikazuju se medijani i interkvartilni rasponi, umjesto srednjih vrijednosti \pm standardnih devijacija. Usporedba stupnja mjehurića u mirovanju i nakon kašlja u skupini koja je disala zrak u odnosu na skupinu koja je pred zaron udisala kisik provedena je pomoću neparametrijskog Wilcoxon testa za uparene uzorke (engl. Wilcoxon signed - ranks test). Razlike između FMD-a prije i poslije ronjenja u obje skupine uspoređivane su korištenjem parametrijskog t-testa za uparene uzorke i izražene su kao srednja vrijednost i standardna devijacija. Značaj Wilcoxon testa za uparene uzorke izračunan je za usporedbu protoka krvi iz brahijalnih arterija (ml/min) kao i za procjenu razlika u psihomotornoj izvedbi serije CRD-testova i anksioznosti pomoću STAI upitnika. Stupnjevi mjehurića i vrijeme reakcije prikazani su kao medijani (25-75% raspona kvartila), a uspoređeni su neparametrijskim Friedmanovim testom za analizu varijanci. Wilcoxon testa za uparene uzorke odredio je značaj svih sparenih višestrukih usporedbi s Bonferroni korekcijom.

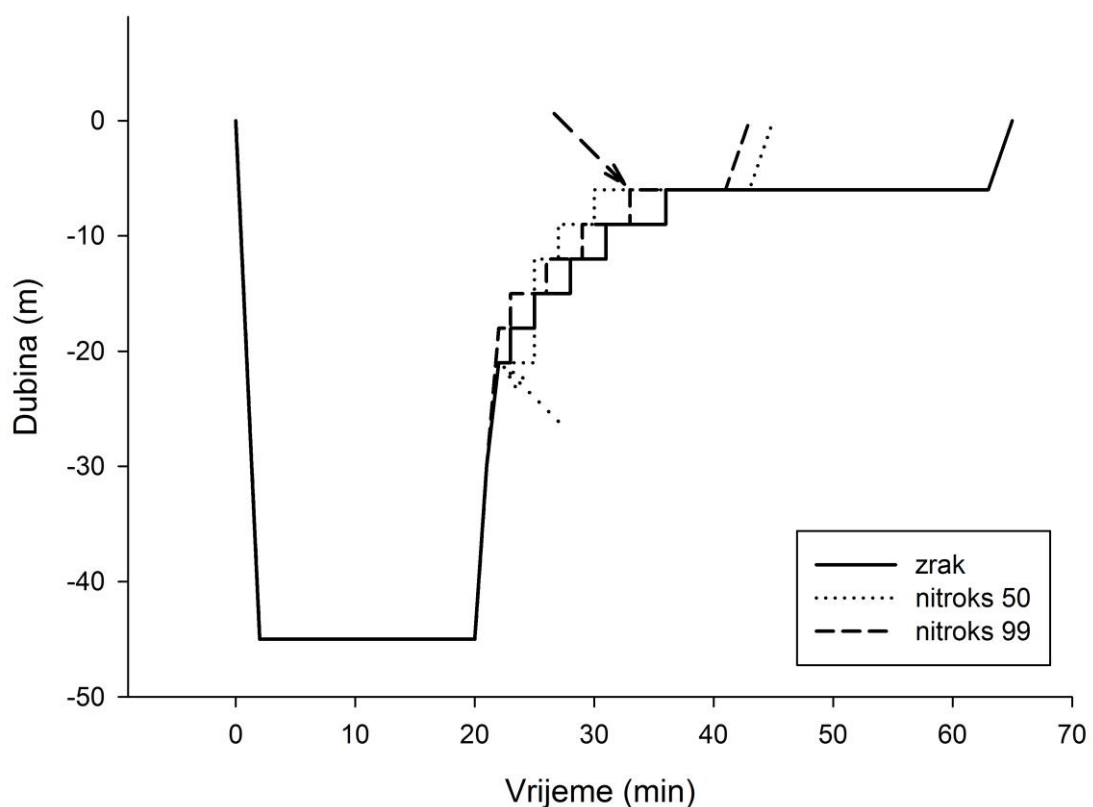
U oba istraživanja p vrijednost manja od 0,05 smatrana je statistički značajnom.

4. REZULTATI

4.1. Trajanje zarona

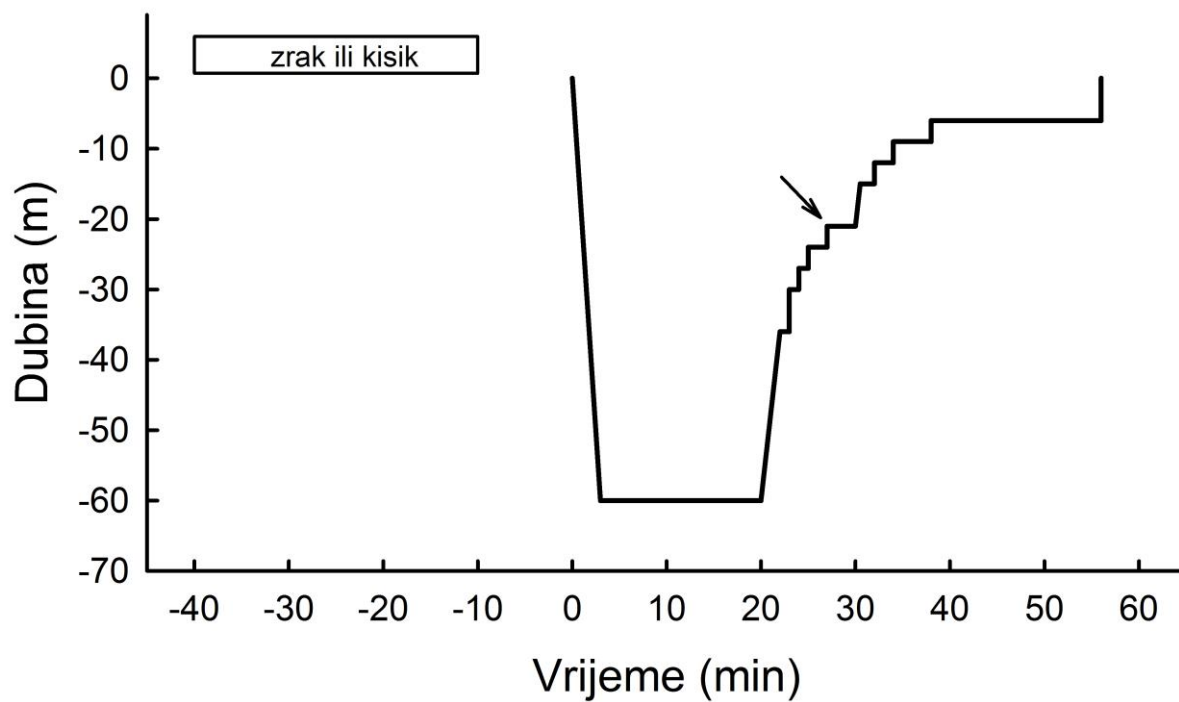
U oba istraživanja svi ronionci su uspješno izvršili sve protokole bez simptoma dekompresijske bolesti. Dekompresijski protokoli su provedeni sukladno izračunu V-planera (HHS Software Corp, Kingston, Kanada).

Ukupno vrijeme ronjenja u prvom dijelu istraživanja iznosilo je 65 minuta za zrak, odnosno 45 i 43 minute za nitroks 50 i nitroks 99. Svi ronionci su zaranjali do 45 metara morske dubine s 20 minuta od početka zarona (engl. bottom time). Izloženost plinskim mješavinama obogaćenih kisikom iznosila je 0, 20 odnosno 8 minuta (Slika 3).



Slika 3. Protokol ronjenja koristeći zrak, nitroks 50 ili nitroks 99 tijekom dekompresije. Prema V-planeru označeno je vrijeme uvođenja nitroksa 50 (točkasta strelica) ili nitroks 99 smjese (isprekidana strelica).

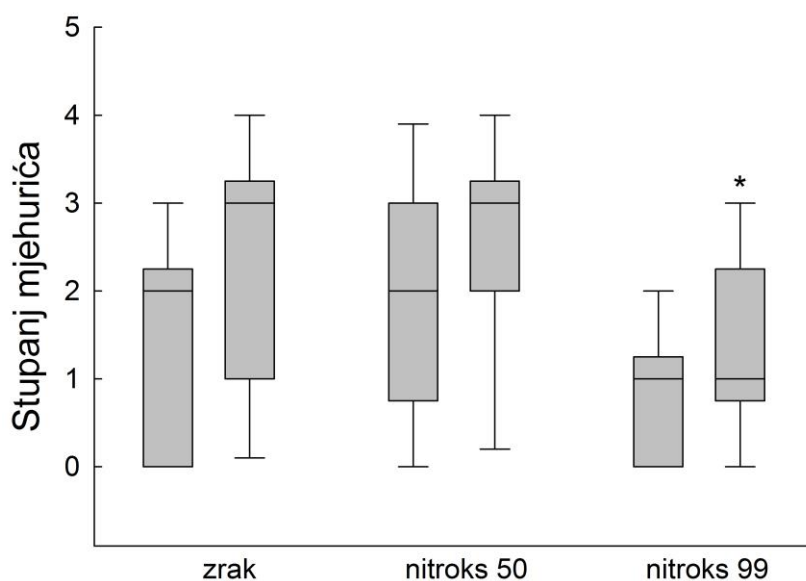
Ukupno vrijeme ronjenja u drugom dijelu istraživanja iznosilo je 58 minuta. Svi ronionci su zaranjali do 60 metara morske dubine s 20 minuta od početka zarona (Slika 4).



Slika 4. Protokol ronjenja na trimiks smjesu prema V-planeru. Pravokutnik predstavlja 30 minuta disanje čistog zraka ili kisika prije zarona. Strelicom je označeno vrijeme uvođenja nitroks 50 tijekom dekompresije.

4.2. Ultrazvučno stupnjevanje mjehurića plina

Ultrazvučno stupnjevanje pojave mjehurića plina 30 minuta nakon zarona na zrak, nitroks 50 i nitroks 99 iznosilo je stupanj 2,2 odnosno 1 u mirovanju prije kašlja (Friedman test, $p = 0,114$; Slika 5). Dekompresijski protokoli na zrak i nitroks 50 značajno su povećali stvaranje mjehurića nakon kašlja u usporedbi s protokolom zarona na nitroks 99 (stupanj 3,3 odnosno 1, Friedman test, $p = 0,026$; Slika 5).

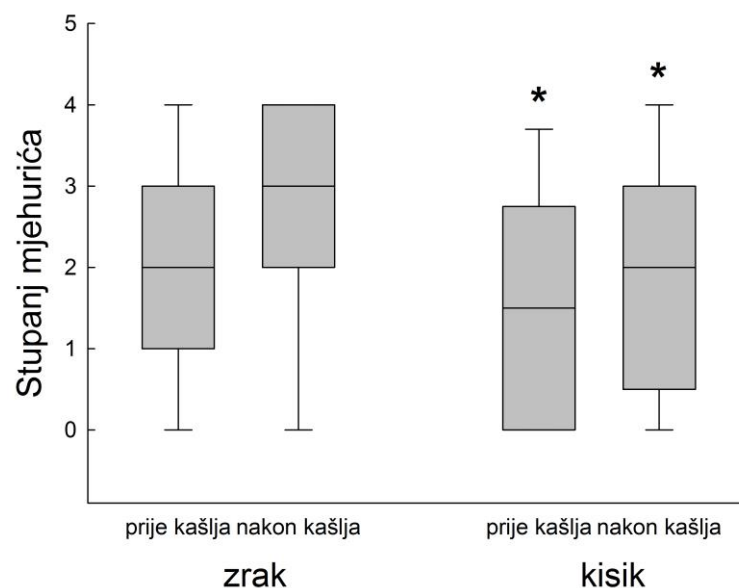


Slika 5. Stupnjevanje mjehurića plina nakon dekompresije na zrak, nitroks 50 i nitroks 99 (prije i nakon kašlja). Rezultati za pojavu mjehurića prikazani su kao medijani (vodoravne linije), 25. i 75. kvartila (osjenčana kvadratna područja) te 10. i 90. percentilni rasponi (stupci pogreške) stupnjeva mjehurića nakon zarona.

Ultrazvučno stupnjevanje pojave mjehurića plina nakon zarona na trimiks smjesu u protokolu u kojem su 30 minuta prije udisali zrak iznosilo je stupanj 2 (raspon od 1 do 3) prije kašlja. Ultrazvučno stupnjevanje pojave mjehurića plina nakon zarona na trimiks smjesu u protokolu u kojem su 30 minuta prije udisali 100% kisik iznosilo je stupanj 1.5 (raspon 0 do 2.25) prije kašlja (Friedman test, $p < 0.005$; Slika 6).

Ultrazvučno stupnjevanje pojave mjehurića plina nakon zarona na trimiks smjesu u protokolu u kojem su 30 minuta prije udisali zrak iznosilo je stupanj 3 (raspon od 2 do 4) nakon kašlja. Ultrazvučno stupnjevanje pojave mjehurića plina nakon zarona na trimiks smjesu u protokolu u kojem su 30 minuta prije udisali 100% kisik iznosilo je stupanj 2 (raspona od 1,5 do 3) nakon kašlja (Friedman test, $p = 0,035$; Slika 6).

Udisanje 100% kisika 30 minuta prije zarona signifikantno je smanjilo stupanj mjehurića plina u mirovanju i nakon kašlja u usporedbi s protokolom koji je prethodno disao čisti zrak (Wilcoxon test, 1.5 u odnosu na 2, $p < 0,001$; Slika 6).

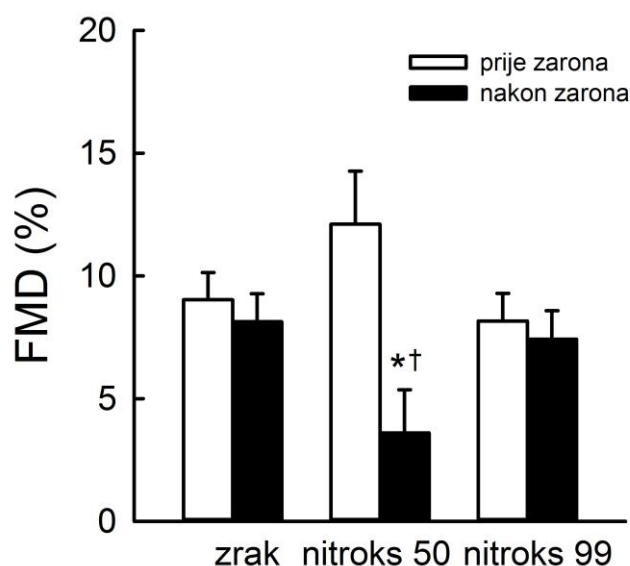


Slika 6. Stupnjevanje mjehurića plina nakon trimiks ronjenja, prethodno udišući zrak ili kisik prije zarona (prije i nakon kašlja). Rezultati za pojavu mjehurića prikazani su kao medijani (vodoravne linije), 25. i 75. kvartila (osjenčana kvadratna područja) te 10. i 90. percentilni rasponi (stupci pogreške) stupnjeva mjehurića nakon zarona. * signifikantna razlika u stupnju mjehurića u protokolu udisanja kisika prije zarona ($p < 0,05$).

4.3. FMD i brzina protoka krvi kroz brahijalnu arteriju

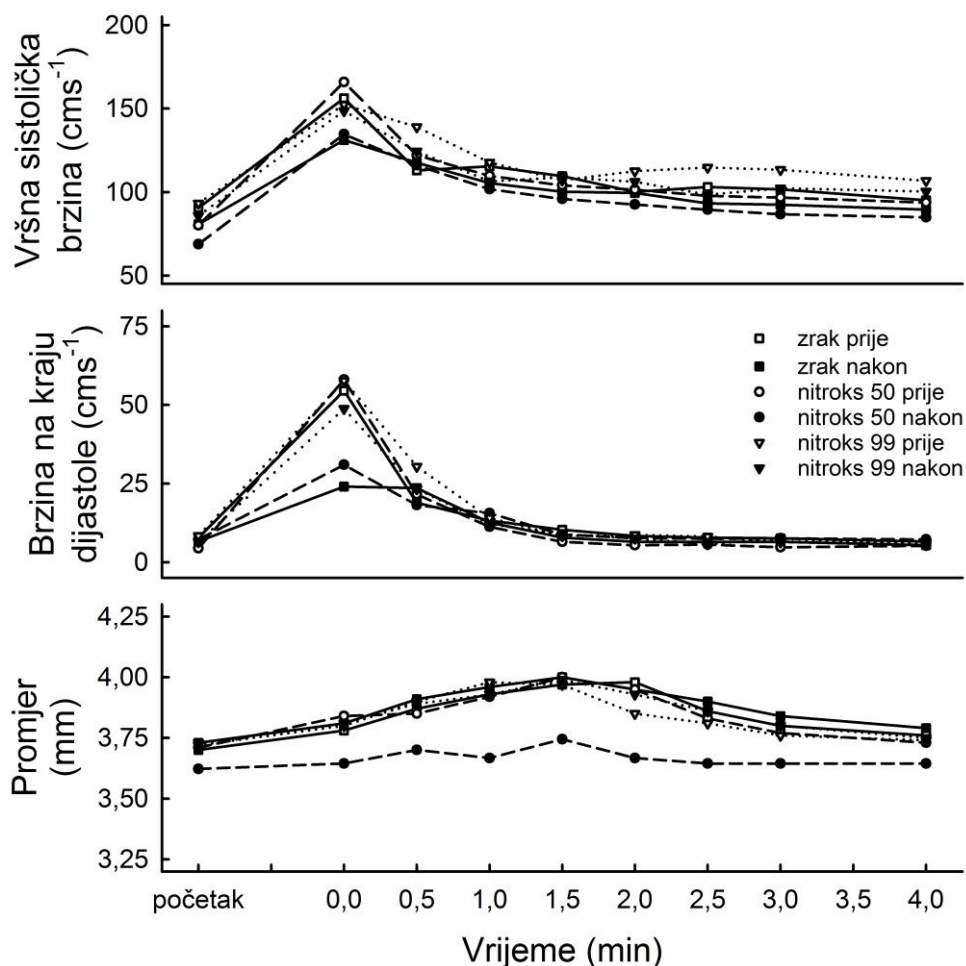
U ronjenju na zrak i nitroks 99 nije bilo signifikantne razlike između FMD-a prije i poslije zarona (na zraku: $9,03 \pm 3,52\%$ u odnosu na $8,14 \pm 3,61\%$, t test za uparene uzorke, $p = 0,204$ i na nitroks 99: $8,17 \pm 3,54\%$ u odnosu na $7,43 \pm 3,68\%$ t test na uparene uzorke, $p = 0,373$; Slika 7). Međutim, FMD je bio signifikantno smanjen nakon zarona u ronjenju na nitroks 50 ($12,11 \pm 6,82\%$ u odnosu na $3,62 \pm 5,57\%$, t test za uparene uzorke, $p=0.010$; Slika 7).

U ronjenju na nitroks 50 signifikantno je smanjen FMD nakon zarona u usporedbi sa zaronom na zrak ($3,62 \pm 5,57\%$ u odnosu na $8,14 \pm 3,61\%$, ANOVA s Tukey testom, $p=0.031$; Slika 7).



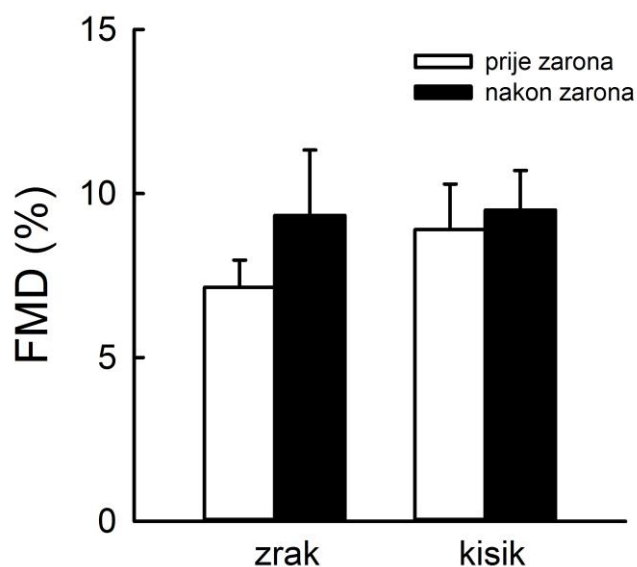
Slika 7. FMD prije i nakon dekompresijskog zarona na zrak, nitroks 50 ili nitroks 99. * signifikantna smanjen nitroks 50 poslije zarona, † signifikantno smanjen nitroks 50 poslije zarona u usporedbi s protokolom na zrak ($p < 0,05$). Otvoren pravokutnik - prije zarona, zatvoren pravokutnik - poslije zarona.

U prvom dijelu istraživanja nije bilo signifikantne razlike u vršnoj sistoličkoj i završnoj dijastoličkoj brzini protoka krvi te samom promjeru brahijalne arterije prije i tijekom 4 minute nakon otpuštanja manšete na podlaktici u sva tri protokola zarona (Slika 8).



Slika 8. Brzina protoka i promjer brahijalne arterije prije i tijekom 4 minute nakon otpuštanja manšete u dekompresijskim zaronima na zrak, nitroks 50 ili nitroks 99. Otvoreni kvadrat – prije zarona na zrak; zatvoreni kvadrat – poslije zarona na zrak; otvoreni krug – prije zarona na nitroks 50; zatvoreni krug – poslije zarona na nitroks 50; otvoreni trokut – prije zarona na nitroks 99; zatvoreni trokut – poslije zarona na nitroks 99.

Nije bilo signifikantne razlike između FMD-a prije i poslije zarona u protokolu gdje su ronionci udisali čisti zrak ili 100% kisik 30 minuta prije zarona (t-test za uparene uzorke, $p = 0,274$; Slika 9). U skupini koja je prethodno disala zrak, FMD je bio $7 \pm 1\%$ prije zarona u odnosu na $9 \pm 2\%$ nakon zarona, dok je u skupini koja je prethodno udisala 100% kisik FMD bio $9 \pm 1\%$ prije zarona u odnosu na $9 \pm 1\%$ nakon zarona (Slika 9).



Slika 9. FMD prije i nakon ronjenja na trimiks smjesu u protokolu s disanjem zraka ili kisika pred zaron. Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost \pm SD ($p < 0,05$).

U drugom dijelu istraživanja apsolutne vrijednosti protoka krvi i smicajna brzina kroz brahijalnu arteriju prije napuhavanja manšete te tijekom 240 s nakon otpuštanja manšete u protokolima s udisanjem zraka i kisika prije zarona prikazane su u Tablici 3 i Tablici 4.

Tablica 3. Usporedba mjerenja brzine protoka krvi kroz brahijalnu arteriju prije i nakon zarona, u zrak i O₂ protokolu disanja pred zaron.

BRZINA PROTOKA KRVI KROZ BRAHIJALNU ARTERIJU (ml/min)							
	Disanje zraka pred zaron			<i>p</i>	Disanje O₂ pred zaron		
	Prije zarona*	Poslije zarona[†]			Prije zarona[‡]	Poslije zarona^l	<i>p</i>
Prije manšete	356(312-414)	436(345-516)	0.424	373(297-463)	411(304-499)	0.657	
0"	1013(888-1197)	1072(825-1333)	0.530	1050(835-1334)	1244(784-1462)	0.814	
30"	714(571-902)	822(720-894)	0.050	918(590-1068)	851(737-1053)	0.937	
60"	560(467-780)	680(523-830)	0.158	656(526-832)	706(602-873)	0.239	
90"	495(420-585)	569(507-691)	0.015	610(437-738)	671(488-736)	0.272	
120"	402(382-598)	607(426-686)	0.060	521(424-585)	606(504-706)	0.136	
150"	444(378-602)	544(470-677)	0.347	557(434-638)	641(503-697)	0.155	
180"	437(363-603)	512(427-701)	0.480	554(366-653)	589(511-662)	0.347	
240"	438(335-572)	453(406-590)	0.480	469(355-687)	554(464-613)	0.937	

Wilcoxon test značajnosti za uparene uzorke korišten za usporedbu rezultata prije - poslije.

* Friedmanov test za ponovljena mjerenja varijance: $\chi^2=64,93$; $p<0,001$. Vrijednosti u 0", 30", 60" signifikantno različite od vrijednosti prije puhanja manšete nakon Bonferroni korekcije ($p<0,05$).

[†]Friedmanov test za ponovljena mjerenja varijance: $\chi^2=76,33$; $p<0,001$. Vrijednosti u 0", 30", 60", 90" signifikantno različite od vrijednosti prije puhanja manšete nakon Bonferroni korekcije ($p<0,05$).

[‡]Friedmanov test za ponovljena mjerenja varijance: $\chi^2=64,47$; $p<0,001$. Vrijednosti u 0", 30", 60", 90" signifikantno različite od vrijednosti prije puhanja manšete nakon Bonferroni korekcije ($p<0,05$).

^lFriedmanov test za ponovljena mjerenja varijance: $\chi^2=72,73$; $p<0,001$. Vrijednosti u 0", 30", 60", 90" signifikantno različite od vrijednosti prije puhanja manšete nakon Bonferroni korekcije ($p<0,05$).

Tablica 4. Usporedba mjerenja smicajne brzine protoka krvi kroz brahijalnu arteriju prije i nakon zarona, u zrak i O₂ protokolu disanja pred zaron.

SMICAJNA BRZINA BRAHIJALNE ARTERIJE (ml/min)							
	Disanje zraka pred zaron			Disanje O ₂ pred zaron			
	Prije zarona*	Poslije zarona [†]	<i>p</i>	Prije zarona [‡]	Poslije zarona ^l	<i>p</i>	
Prije manšete	90(78-114)	107(86-121)	0.286	91(74-112)	86(75-105)	0.722	
0"	227(214-271)	227(180-285)	0.695	223(197-258)	229(197-269)	0.480	
30"	150(132-181)	170(137-207)	0.213	174(153-201)	165(137-201)	0.937	
60"	111(104-143)	142(97-163)	0.239	128(106-147)	132(96-146)	0.209	
90"	102(83-119)	121(93-133)	0.071	106(98-130)	114(96-130)	0.308	
120"	96(84-108)	118(90-136)	0.099	92(86-111)	108(89-121)	0.272	
150"	96(85-115)	105(94-138)	0.388	101(89-117)	109(92-121)	0.424	
180"	98(85-114)	104(87-138)	0.638	97(89-111)	105(92-128)	0.530	
240"	93(75-121)	94(81-132)	0.875	96(84-125)	101(85-111)	0.754	

VRIJEME
NAKON
OTPUŠTANJA
MANŠETE

Wilcoxon test značajnosti za uparene uzorke korišten za usporedbu rezultata prije - poslije.

* Friedmanov test za ponovljena mjerenja varijance: $\chi^2=56,15$; $p<0,001$. Vrijednosti u 0", 30" signifikantno različite od vrijednosti prije puhanja manšete nakon Bonferroni korekcije ($p<0,05$).

[†] Friedmanov test za ponovljena mjerenja varijance: $\chi^2=64,47$; $p<0,001$. Vrijednosti u 0", 30", 60" signifikantno različite od vrijednosti prije puhanja manšete nakon Bonferroni korekcije ($p<0,05$).

[‡] Friedmanov test za ponovljena mjerenja varijance: $\chi^2=56,67$; $p<0,001$. Vrijednosti u 0", 30", 60" signifikantno različite od vrijednosti prije puhanja manšete nakon Bonferroni korekcije ($p<0,05$).

^l Friedmanov test za ponovljena mjerenja varijance: $\chi^2=68,47$; $p<0,001$. Vrijednosti u 0", 30", 60" signifikantno različite od vrijednosti prije puhanja manšete nakon Bonferroni korekcije ($p<0,05$).

4.4. Kognitivno i psihomotorno mjerenje

U CRD311 testu nije bilo signifikantne promjene u vremenu reakcije bez obzira na protokol prije zarona (Friedman test, TTST nakon prethodnog udisanja zraka $p = 0,273$ u odnosu na TTST nakon prethodnog udisanja 100% kisika prije zarona $p = 0,249$; Tablica 5).

U CRD411 testu nije nađena razlika u izvedbi prije i nakon zarona ako se udisao zrak (Friedman test, TTST $p = 0.715$, MinT $p = 0.465$ i MedT $p = 0.715$), dok je kod ronioca koji su udisali 100% kisik 30 minuta prije zarona nađena signifikantno brža kompleksna psihomotorna izvedba (Friedman test, TTST $p = 0,028$, MinT $p = 0,046$ i MedT $p = 0,046$; Tablica 5).

U CRD11 testu ukupno vrijeme reakcije bilo je brže nakon zarona, neovisno jesu li roniaci prethodno udisali zrak ili 100% kisik 30 minuta prije zarona (Friedman test, TTST $p = 0.028$ i MedT $p = 0.028$; Tablica 5).

Tablica 5. Promjene u psihomotornoj izvedbi CRD testova prije i nakon ronjenja na trimiks smjesu, u protokolima sa disanjem zraka ili kisika 30 minuta pred zaron.

		Disanje zraka pred zaron			Disanje O ₂ pred zaron		
		Prije zarona	Poslije zarona	<i>p</i>	Prije zarona	Poslije zarona	<i>p</i>
Test diskriminacije svjetlosne pozicije (CRD311)	TTST	32.9 (29.7-35)	30.7 (28.9-32.8)	0.273	28 (24.7-30.3)	25.4 (23.7-29.4)	0.249
	MinT	0.3 (0.3-0.4)	0.4 (0.3-0.4)	0.465	0.3 (0.2-0.3)	0.3 (0.2-0.3)	0.249
	MedT	0.5 (0.5-0.6)	0.5 (0.4-0.5)	0.273	0.5 (0.4-0.5)	0.4 (0.4-0.5)	0.345
Test izvršnog mišljenja (CRD411)	TTST	28.4 (28-30)	30.6 (26.2-34.9)	0.715	30.6 (23.9-34.4)	25.2 (20.5-28.1)	0.028*
	MinT	0.4 (0.4-0.5)	0.4 (0.4-0.5)	0.465	0.4 (0.4-0.5)	0.3 (0.3-0.4)	0.046*
	MedT	0.6 (0.6-0.7)	0.7 (0.6-0.7)	0.715	0.7 (0.6-0.7)	0.6 (0.5-0.6)	0.046*
Test konvergentnog mišljenja (CRD11)	TTST	118.1 (107.1-127.1)	105.6 (89.8-122.1)	0.028*	101.7 (92.3-115.3)	86.5 (81.8-108.3)	0.028*
	MinT	2 (1.7-2.2)	1.9 (1.6-2.3)	0.753	1.8 (1.5-2)	1.5 (1.4-1.7)	0.075
	MedT	3.1 (2.9-3.4)	2.8 (2.5-3.3)	0.028*	2.7 (2.3-3.1)	2.3 (2.1-2.8)	0.028*

*Signifikatna razlika vremena reakcije kada se uspoređi vrijeme prije i nakon zarona. TTST – ukupno vrijeme rješavanja testova, MinT – minimalno vrijeme rješavanja pojedinog zadatka, MedT – srednja vrijednost rješavanja pojedinog zadatka.

Mjerenje anksioznosti kao stanje i osobina ličnosti pomoću STAI upitnik nije pokazalo signifikantnu razliku prije i nakon zarona na trimiks smjesu udišući zrak (Wilcoxon test, stanje $p = 0,753$ i osobina $p = 0,112$; Tablica 6) ili 100% kisik 30 min prije zarona (Wilcoxon test, stanje $p = 0,207$ i osobina $p = 0,339$; Tablica 6).

Tablica 6. Promjene u anksioznosti kao stanju i osobini ličnosti kod ronionca na trimiks smjesu, u protokolima sa zrakom ili kisikom 30 minuta pred zaron.

	Disanje zraka pred zaron			Disanje O ₂ pred zaron		
	Prije zarona	Poslije zarona	<i>p</i>	Prije zarona	Poslije zarona	<i>p</i>
Anksioznost kao stanje (STAI-S)	26(23-27)	25(21-30)	0.753	30(25-33)	25(22-31)	0.207
Anksioznost kao osobina (STAI-O)	31(27-33)	27(25-29)	0.112	29(27-38)	31(26-36)	0.339

5. RASPRAVA

Istraživanja prikazana u ovoj disertaciji pokazala su da smjesa obogaćena kisikom, nitroks 99, značajno smanjuje pojavnost mjehurića plina nakon kašlja u usporedbi sa zaronom na zrak ili nitroks 50 smjesu plinova. U protokolu udisanja 100% kisika prije trimiks zarona značajno je smanjena pojavnost mjehurića plina u usporedbi s protokolom udisanja zraka prije trimiks zarona.

Nadalje, FMD nakon zarona na nitroks 50 bio je značajno smanjen u usporedbi s FMD-om prije nitroks 50 zarona. U protokolima s udisanjem zraka ili kisika prije trimiks zarona nije pronađena značajna razlika u promjeni FMD-a kao pokazatelja oštećenja endotelne funkcije.

Na kraju, kognitivna i psihomotorna mjerenja pomoću CRD serije testova pokazala su bržu psihomotornu izvedbu (TTST, MinT, MedT) na CRD411 testu u protokolima u kojima je udisan kisik prije trimiks zarona. Na CRD11 testu ukupno vrijeme reakcije (TTST i MedT) bilo je brže nakon ronjenja, neovisno o tome je li u protokolu prije zarona udisan kisik ili zrak. Također, nije dokazana povećana anksioznost pomoću STAI upitnika u ronionca u oba protokola (disanje zraka ili kisika pred zaron).

5.1. Pojavnost mjehurića plina

U prijašnjim studijama na ne-dekompresijskim i kraćim zaronima pokazano je smanjenje pojavnosti mjehurića plina, nastalog otapanjem plinova u tkivima zbog suviška, ako se roni na smjesu obogaćenu kisikom (nitroks) umjesto na zrak (14). Rezultati naše prve studije u skladu su s tim istraživanjima i pokazali su smanjenje njihove pojavnosti u zaronima na 45 metara dubine, ako se izvodi dekompresija na smjesu obogaćenu kisikom (nitroks) u usporedbi sa zrakom. Za naglasiti je da je smanjenje mjehurića plina bilo značajnije ukoliko je korišten nitroks 99 (smjesa 99% kisika) tijekom dekompresije u usporedbi s dekompresijom na zrak ili nitroks 50 (58). Nadalje, statistički značajno pokazalo se samo smanjenje mjehurića plina ukoliko je korišten nitroks 99 nakon dodatnog manevra jer pokretanje udova ili kašalj dodatno mobiliziraju mjehuriće (19).

Kao što smo ranije spominjali, vjeruje se da mjehurići plina mogu nastati od pre-mjehurića plina kao posljedica viška otopljenog dušika pod povećanim hidrostatskim tlakom (19,59). Također je pokazano da udisanje kisika prije zarona može eliminirati postojeće pre-mjehuriće što upućuje na to da sveukupno smanjenje inertnog plina ili uklanjanje plinskih „mikrojezgara“ prije stvaranja mjehurića mogu biti mehanizmi koji podupiru taj fenomen (18,20). Rezultati naše druge studije u skladu su s tim istraživanjima i pokazali su smanjenu pojavnost mjehurića plina ako se prije dubokog dekompresijskog zarona na trimiks smjesu do 60 metara dubine udiše 100% normobarični

kisik (60). Tim se dodatno naglasila protektivna uloga kisika na smanjenju pojavnosti mjehurića plina. Osim toga, usporedba hiperbaričnog i normobaričnog kisika pred zaron pokazala je veću učinkovitost hiperbaričnog kisika u smanjenju pojavnosti mjehurića plina vjerojatno zato što se pruža više kisika cijelom tijelu za eliminaciju dušika (61-63). Dodatno, u prethodnim istraživanjima utvrđeno je da čimbenici kao što su individualni metabolički procesi, same razlike od zarona do zarona, kao i varijacije u uvjetima pred zaron (kao što je vježbanje ili udisanje kisika) mogu utjecati na pojavnost mjehurića plina (64).

U naša oba istraživanja, ronionci nisu razvili simptome dekompresijske bolesti, iako su u nekim protokolima bili izloženi većem broju mjehurića plina u srčanim šupljinama, što podupire ranije slučajeve dekompresijske bolesti u ronionca bez ili sa vrlo malo mjehurića još jednom naglašavajući da su oni samo pogoršavajući čimbenik, a ne uzrok dekompresijske bolesti (10).

5.2. FMD i hiperoksija

Endotelna disfunkcija, u čijoj osnovi je nedovoljna raspoloživost dušikovog oksida (NO) bilo da dolazi do njegove pojačane potrošnje ili smanjenog stvaranja potvrđena je nakon ronjenja u mnogim studijama (3, 14, 28, 66), ali točan uzrok joj nije definiran. Najčešće se dokazi o endotelnim promjenama nakon ronjenja povezuju s učinkom plinskih mjehurića i/ili oksidacijskim stresom (3, 66, 67).

U prvom dijelu istraživanja očekivali smo, kako je nitroks 50 smanjio FMD nakon zarona, da će nitroks 99 nakon zarona još više smanjiti FMD, ali to se nije dogodilo. Kako istraživanje nije bilo dizajnirano da objasni nastale promjene, možemo pretpostavljati da je vrijeme izloženosti povećanom tlaku kisika uzrok neočekivanih rezultata. Naime, izloženost hiperoksiji od 20 minuta u nitroks 50 protokolu mogla je oštetiti FMD dok je izloženost od samo 8 minuta u nitroks 99 sačuvala FMD. Nadalje, kako je u protokolu nitroks 99 bilo značajno manje mjehurića moguće da je i to pridonijelo očuvanju endotela (58). Pokazano je da vaskularni mjehurići narušavaju endotelnu funkciju, što ukazuje na to da se oštećenje endotela povećava s većim brojem mjehurića (68), a u njihovoj interakciji dolazi do fragmentiranja endotelnih stanica i otpuštanja endotelnih mikročestica (engl. endothelial microparticles) koje i same mogu dodatno pogoršati endotelnu funkciju (66, 69). Endotelne mikročestice prolaze kroz plućni filter, te ulaze u arterijsku cirkulaciju uzrokujući promjene arterijskog endotela i na udaljenim mjestima arterijskog sustava (70). S druge strane, u drugom dijelu istraživanja u protokolu udisanja kisika pred trimiks zaron bilo je manje

mjhurića bez značajnog utjecaja na FMD (60). Tu treba spomenuti činjenicu da se promjena endotelne funkcije mjerene FMD-om može vidjeti i bez direktnog utjecaja mjehurića plina (3,14).

Tijekom ronjenja s komprimiranom plinskom smjesom u čijem se sastavu uvijek nalazi kisik dolazi do udisanja kisika pod hiperbaričnim uvjetima te se organizam izlaže hiperoksiji. Hiperoksija je godinama kontroverzna tema u medicini ronjenja s dokazanim korisnim no i štetnim učincima povećanog parcijalnog tlaka kisika (3,58). Primjerice, u našem drugom istraživanju FMD nije bio promijenjen nakon zarona u odnosu na prije zarona, iako su ronjoci bili izloženi visokim parcijalnim tlakovima kisika tijekom zarona (1.4 bar na 60 metara morske dubine). Nadalje, u skupini u kojoj se udisao 100% kisik prije zarona očekivao se štetan učinak produljenog izlaganja hiperoksiji, ali nije došlo do značajne promjena FMD. Isto bi moglo bi se govoriti u prilog korisnog učinka disanja kisika prije dubokih tehničkih zarona na komprimirane plinske smjese (60).

Hiperoksija može uzrokovati pojačano stvaranje ROS-a uz oksidacijski stres i time posredovati smanjenju biorasploživosti NO-a i endotelnu disfunkciju (71). Stvaranje ROS-a bilo je povezano sa starenjem, kardiovaskularnim i malignim oboljenjima, dok su ga neke studije povezivale s antibakterijskim i protuupalnim čimbenicima (28,31,72). Antioksidansi, u odnosu na oksidacijske supstrate, odgađaju i sprječavaju njihovu oksidaciju. Pokazano je da uzimanje vitamina C i E, kao antioksidansa, dovodi do značajnog smanjenja endotelne disfunkcije i otpuštanja endotelnih mikročestica nakon ronjenja (6,73). Također, nakon dubokih zarona (55 do 80 m dubine) s trimiks plinskom smjesom, endotelna disfunkcija je bila popraćena porastom lipidne peroksidacije kao pokazateljem pojačanog oksidacijskog stresa (67).

Uloga hiperbaričnog kisika u razvoju endotelne disfunkcije nije potpuno jasna. Naime, u istraživanjima se pokazalo da je značajno smanjena endotelna funkcija nakon ronjenja na zrak, ali ne i nakon ronjenja s kisikom u hiperbaričnoj komori, što upućuje na to da hiperbarični kisik nije jedini uzrok endotelne disfunkcije (66). Sama molekula kisika ne izaziva izravno oksidacijski stres, ali predstavlja izvor svih ROS. ROS potom oštećuje endotel i pridonosi mikrovaskularnoj disfunkciji (28). Dodatno, oksidativni stres povezan s hiperoksijom dovodi i do nakupljanja superoksidnog aniona (O_2^-) koji u reakciji s NO formira peroksinitritni anion ($ONOO^-$). Peroksinitrit može oksidirati kofaktor sintaze dušikovog oksida (NOS), tetrahidrobiopterin i tako smanjiti stvaranje NO, a pojačati daljnje stvaranje O_2^- . Također, peroksinitrit može nastaviti oksidacijske procese i stvoriti druge reaktivne kisikove i dušikove spojeve čime se iscrpljuje antioksidacijski kapacitet stanice (74,75,76).

Mogli bi zaključiti da se interakcijom ROS-a i NO-a uspostavlja začarani krug koji rezultira nastavkom endotelne aktivacije i razvojem upale koja dodatno potiče stvaranje reaktivnih kisikovih radikala, a smanjuje protektivni utjecaj NO-a na endotelnu funkciju (76).

Za napomenuti, uslijed same fizičke aktivnosti prilikom ronjenja dolazi do pojačane potrošnje kisika i pojačanog stvaranja ROS-a. Povećano stvaranje ROS-a tijekom SCUBA ronjenja uzrokuje pojačano stvaranje antioksidativnih enzima kao što su katalaza (CAT), glutation peroksidaza (GPx) i superoksid dismutaza (SOD) koji tijekom i nakon povratka na površinu pokreću borbu protiv nastalog oksidativnog stresa (76). Primjerice, nađen je povećan obrambeni antioksidacijski status tijekom duboke faze SCUBA i ronjenja na dah, što sprječava nastanak oksidacijske štete uzrokovane reaktivnim kisikovim spojevima koje uključuje smanjenu raspoloživost NO-a i vazokonstrikciju (77).

Važno je napomenuti da na endotelnu funkciju tijekom ronjenja utječe i sama dubina zarona, broj uzastopnih zarona i plinska mješavina koja se koristi. Primjerice akutna endotelna disfunkcija u velikim provodnim arterijama nakon uzastopnih dubokih trimiksa zarona ukazuje na moguće kumulativne učinke (67).

5.3. Kisik i psihomotorne promjene

U bihevioralnim studijama pokazano je da kognitivne funkcije, kao što su memorija, vrijeme reakcije i donošenje odluka, mogu slabiti kako raste tlak u dubinama (78, 79). Na brze i pravilne odluke koje doprinose sigurnosti ronioca utječu i smjesa plinova, vrijeme, temperatura vode i stres. Najčešće se kao akutni negativni efekt ronjenja spominje narkoza ovisna o toksičnosti dušika (80). S druge strane, umjereni fizička aktivnost mogla bi pozitivno utjecati na kognitivnu izvedbu (81). Također, Moss i sur. su zabilježili poboljšanje testova pozornosti i dugotrajne memorije ako se prije istih ordinira normobarični kisik (39).

Kako znamo, previše kisika posebno u hiperbaričnim uvjetima, toksično je za mozak vjerojatno zbog oksidativnog stresa i ROS-a. Centar za kontrolu disanja u produljenoj moždini posebno je osjetljiv na povećanje kisika u udahnutom zraku. Respiracijski odgovor na hiperoksiju je bifazičan, prvih nekoliko udaha obično smanjuju minutnu ventilaciju inhibicijom perifernih kemoreceptora. Međutim, ovaj početni učinak hiperoksije na disanje kratkog je vijeka i nakon jedne do dvije minute dolazi do tzv. hiperoksične hiperventilacije te sekundarnog porasta minutne ventilacije, prvenstveno kroz povećanje ovisno o porastu respiracijskog volumena, koje ne mora nužno biti popraćeno povećanjem frekvencije disanja. Hiperoksična hiperventilacija potaknuta povećanom produkcijom ROS-a tijekom hiperoksije izravno stimulira središnje CO₂ kemoreceptore u moždanom deblu i uzrokuje ovaj paradoks kontrole disanja (82). Također, sličnu ulogu ROS, kao pokazatelj oksidativnog stresa, ima u detekciji promjena tlaka kisika putem perifernih kemoreceptora (83). Hiperoksija je naime jedan od dobro poznatih inhibitora perifernih kemoreceptora, što rezultira promjenom njihove signalizacije prema središnjem živčanom sustavu (82). Stanice karotidnog tijela koje čine glavne periferne kemoreceptore inače reagiraju na smanjeni parcijalni tlak kisika. Točan mehanizam hiperoksijom uzrokovane inaktivacije kemoreceptora vjerojatno uključuje promjenu ionske provodljivosti, posebice kalijevih kanala osjetljivih na kisik (82, 84).

U prethodnim istraživanjima predloženo je da hiperoksija i endotelna disfunkcija mogu utjecati na kognitivnu i psihomotornu izvedbu (40,41). Povezanost kognitivne izvedbe i stvaranja mjehurića plina tek treba utvrditi, no endotelna disfunkcija vjerojatno ima neizravni utjecaj. Koristeći mješavine plinova sa smanjenim dušikom i povećanim udjelom kisika, smanjio se rizik od dušične narkoze i plinskih mjehurića (7,18,85). Zaštitni učinci takvih mješavina na kognitivne i psihomotorne performanse još uvijek su nejasni, a kako su istraživanja koristila različite dizajne studije i metodologiju, rezultati su dijelom i kontradiktorni. Primjerice, zabilježen je zaštitni učinak

nitroks smjese na pamćenje i brzinu reakcije u usporedbi s disanjem na zrak (85,86). S druge strane, studija s dvadeset sportskih ronjaca pokazala je lošije testove pamćenja u dubokim nego na plićim zaronima, neovisno jesu li ronjaci udisali zrak ili nitroks 30 smjesu (34).

Rocco i sur. koristeći bihevioralno računalno testiranje CFFF (engl. critical flicker fusion frequency) u iskusnih ronjaca, kao koristan biomarker viših kognitivnih funkcija, pokazali su bolju pozornost i vrijeme reakcije u smjesama obogaćenih kisikom neovisno o različitim udjelima kisika u njima (8). Vjeruje se da udisanje hiperbaričnog kisika tijekom ronjenja dovodi do redistribucije moždanog protoka. U tijeku hiperbarične hiperoksijske vazokonstrikcije povećava se perfuzija lijeve hemisfere te dorzalnih i ventralnim moždanih puteva odgovornih za pozornost. Tim bi se mogao objasniti protektivni učinak hiperbaričnog kisika na kognitivne izvedbe (87). Na molekularnoj razini tijekom redistribucije krvotoka dolazi do povećane proizvodnje NO-a zbog autooksidacije reaktivnih molekula kisika koje mijenjaju ionsku provodljivost i sinaptički prijenos (88). Utjecaj same cerebralne vazokonstrikcije kao odgovor na hiperoksiju je tek oko 15-20%. Rocco i sur. su zaključili da ovisno o interferiranju kisika i dušika potiče se neuralna ekscitacija ili depresija. Kisik uglavnom djeluje kao aktivirajući, a dušik kao inhibirajući čimbenik na sintezu i otpuštanje neurotransmitera kao što je GABA (gama-aminomaslačna kiselina) (8).

U našoj drugoj studiji, kognitivna i psihomotorna mjerenja nisu pokazala negativne promjene u vremenu reakcije na svim testovima koji su korišteni nakon ronjenja na trimiks smjesu plinova. Takvi rezultati eventualno mogu pridonijeti sigurnosti ronjenja i ponuditi protokole koji nemaju akutne (narkotičke) učinke na psihomotornu izvedbu. Osim toga, pokazano je da bi udisanje normobaričnog kisika 30 minuta prije zarona moglo imati zaštitni učinak na složenu psihomotornu brzinu (60).

Za napomenuti je da, dugoročni učinci SCUBA ronjenja, koji nisu bili interes našeg istraživanja, u različitim protokolima u rekreacijskih i profesionalnih ronjaca daju rezultate koji ovise o asimptomatskoj dekompresijskoj bolesti, broju zarona i okolišnim čimbenicima koji se moraju uzeti u obzir pri obabiru najoptimalnijeg protokola ronjenja (38,78,89).

5.4. Anksioznost u ronioca

Anksioznost kao negativna emocija može pogoršati kognitivnu i psihomotornu izvedbu te ugroziti život samog ronioca. U studijama je pokazana lošija kognitivna izvedba u otvorenoj vodi naspram zatvorene hiperbarične komore zbog nesigurnosti i osjećaja straha u otvorenim vodama (48,49). U mjerenjima na ronionicima naše druge studije nisu pokazana kratkotrajna oštećenja kognitivne i psihomotorne funkcije, a STAI upitnikom nisu anksiozni niti kao osobe niti zbog trenutnog stanja u kojem se nalaze (tehničko ronjenje na 60 metara morske dubine) (60). Nadalje, kako postoje dokazi da rezultati ronjenja i anksioznosti imaju linearnu korelaciju, možemo indirektno zaključiti da su naši ronionci uz nisku razinu anksioznosti izveli najbolji mogući zaron (51,56). Treba spomenuti da su napadima panike skloniji manje iskusni ronionci, ali napad je moguć u svakog ronioca posebno u onih s povišenim razinama anksioznosti kao osobini ličnosti. Zbog tih razloga u novijim studijama naglašava se važnost pripreme ronioca kao i mogućih terapijskih intervencija u anksioznih ronioca (50, 57, 90, 91).

U našoj studiji nisi pronađeni kratkoročni štetni učinci tehničkog ronjenja na vrijeme potrebno za reakciju ronioca u ispitivanjima na trimiks smjesu s prethodnim disanjem kisika ili bez njega, a jedino što je eventualno moglo utjecati na procjenu bilo je samo vrijeme izvođenja CRD i STAI testova (60-80 min nakon zarona). S druge strane, dugoročni štetni kognitivni učinci prethodno su bili predloženi u profesionalnih ronilaca (92).

5.5. Ograničenja istraživanja

Rezultate istraživanja treba tumačiti u svjetlu nekih ograničenja. Istraživanja su uključivala ograničen broj sudionika koji su služili kao vlastite kontrole. Uzorak jest malen, ali to nije neuobičajeno za istraživanja koja uključuju slične protokole, zbog ograničenog broja certificiranih ronioca za zahtjevna tehnička ronjenja (3,4,25). U skladu s tim veličina uzorka druge studije bila je slična veličini istovjetnih ispitivanja (60, 67).

Nadalje, raspon dobi od 25 do 56 godina u prvoj studiji mogao je utjecati na FMD rezultate budući da stariji pojedinci već imaju smanjenu vaskularnu popustljivost, a neki od njih su imali arterijsku hipertenziju koja je jedna od glavnih bolesti povezana s aterosklerozom i posljedičnom endotelnom disfunkcijom (27,58,72,93). U prvoj studiji, gdje su polovica ronioca bile žene, nismo utvrdili fazu menstrualnog ciklusa iako FMD varira tijekom istoga i povezan je s promjene koncentracije estradiola u serumu (30,58,94). U drugoj studiji zbog spolne raspodjele naše kohorte, rezultati su primjenjiviji samo na mušku populaciju (60).

Ehokardiografska detekcija mjehurića nakon ronjenja u našim studijama provedena je u fazi mirovanja i nakon kašlja kao provokativnog manevra. Poznato je da se tijekom provokacijskih manevara mogu dogoditi naviranja mjehurića pa smo u našim studijama prikazali rezultate oba mjerenja (52,58,60,95).

U drugoj studiji ronioci nisu bili zaslijepljeni za protokol udisanja plinova prije ronjenja, što je moglo utjecati na anksioznost ronioca. Međutim, rezultati pokazuju da nije bilo razlike u razini anksioznosti prije i nakon ronjenja kada se koristio zrak ili kisik 30 min prije ronjenja (60).

Zaključno, ronioci su koristili svoje ronilačke kompjutere s prethodno utvrđenim planom zarona pomoću V-planera i postoji mogućnost da su ostvarene dubine i trajanje ronjenja nešto drugačije (58,60).

6. ZAKLJUČCI

U protokolima koji su tijekom dekompresije koristili smjese obogaćene kisikom došlo je do smanjenja pojavnosti mjehurića plina u odnosu na smjese s komprimiranim zrakom. Nitroks 99 smjesa koja je ujedno imala i najkraće trajanje zarona nije značajno promijenila FMD, sugerirajući protektivni učinak na endotelnu funkciju, što se može iskoristiti u praktične svrhe tijekom budućih planiranja protokola ronjenja.

Nadalje, u protokolima gdje se udisao 100% normobarični kisik prije zarona na trimiks smjesu došlo je do smanjenja pojavnosti mjehurića plina bez značajne promjene u endotelnoj funkciji mjerenoj FMD-om. U protokolima gdje se udisao kisik prije zarona dodatno je uočena brža izvedba kognitivnih i psihomotornih testova. Dobiveni rezultati mogli bi služiti ronjocima pri odabiru najoptimalnijih potokola tehničkog ronjenja na trimiks smjesu plinova.

7. LITERATURA

1. Pedersen DM. Perceptions of high risk sports. *Percept Mot Skills*. 1997;85:756-8.
2. Brubakk A, Neuman T. Bennett and Elliotts' *Physiology and Medicine of Diving*. 5th Edition. London UK: Elsevier;2002.
3. 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.
4. Dujčić 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.
5. Marabotti C, Chiesa F, Scalzini A, Antonelli F, Lari R, Franchini C, et al. Cardiac and humoral changes induced by recreational scuba diving. *Undersea Hyperb Med*. 1999;26:151-8.
6. Obad A, Palada I, Valic Z, Ivancev V, Baković D, Wisłøff U, et al. The effects of acute oral antioxidants on diving-induced alterations in human cardiovascular function. *J Physiol*. 2007;578:859-70.
7. Lafère P, Hemelryck W, Germonpré P, Matity L, Guerrero F, Balestra C. Early detection of diving-related cognitive impairment of different nitrogen-oxygen gas mixtures using critical flicker fusion frequency. *Diving Hyperb Med*. 2019;49:119-26.
8. Rocco M, Pelaia P, Di Benedetto P, Conte G, Maggi L, Fiorelli S, et al. Inert gas narcosis in scuba diving, different gases different reactions. *Eur J Appl Physiol*. 2019;119:247-55.
9. Pourhashemi SF, Sahraei H, Meftahi GH, Hatf B, Gholipour B. The Effect of 20 Minutes Scuba Diving on Cognitive Function of Professional Scuba Divers. *Asian J Sports Med*. 2016;7:e38633.
10. Papadopoulou V, Tang MX, Balestra C, Eckersley RJ, Karapantsios TD. *Advances in Colloid and Interface Science*. Elsevier 2014;206: 239-49.
11. Mitchell SJ, Doolette DJ. Recreational technical diving part 1: an introduction to technical diving methods and activities. *Diving Hyperb Med*. 2013;43:86-93.
12. Soldo A, Valić Z, Glavičić I, Jurman B, Drviš I. *Ronjenje*. 1. izdanje. Split: Sveučilište u Splitu; 2013.
13. Thom SR, Milovanova TN, Bogush M, Yang M, Bhopale VM, Pollock NW, et al. Bubbles, microparticles, and neutrophil activation: changes with exercise level and breathing gas during open-water SCUBA diving. *J Appl Physiol*. 2013;114:1396-405.

14. Marinovic J, Ljubkovic M, Breskovic T, Gunjaca G, Obad A, Modun D, et al. Effects of successive air and nitrox dives on human vascular function. *Eur J Appl Physiol.* 2012;112:2131-7.
15. Hitchcock MA, Hitchcock FA, editors. *Barometric pressure: Researches in Experimental Physiology.* 1 st ed. Columbus (OH): College Book Company;1943.
16. Lozo M, Madden D, Gunjaca G, Ljubkovic M, Marinovic J, Dujic Z. The impact of consecutive freshwater trimix dives at altitude on human cardiovascular function. *Clin Physiol Funct Imaging.* 2015;35:142–9.
17. Andreis I, Kukolja Taradi S, Taradi M, ur. *Medicinska fiziologija.*13. izdanje. Zagreb: Medicinska naklada; 2017.
18. Castagna O, Gempp E, Blatteau JE. Pre-dive normobaric oxygen reduces bubble formation in scuba divers. *Eur J Appl Physiol.* 2009;106:167-72.
19. Blatteau JE, Hugon J, Gempp E, Castagna O, Pény C, Vallée N. Oxygen breathing or recompression during decompression from nitrox dives with a rebreather: effects on intravascular bubble burden and ramifications for decompression profiles. *Eur J Appl Physiol.* 2012;112:2257-65.
20. Arieli Y, Arieli R, Marx A. Hyperbaric oxygen may reduce gas bubbles in decompressed prawns by eliminating gas nuclei. *J Appl Physiol (1985).* 2002;92:2596-9.
21. Verma S, Buchanan MR, Anderson TJ. Endothelial Function Testing as a Biomarker of Vascular Disease. *Circulation.* 2003;108:2054-9.
22. Harris RA, Nishiyama SK, Wray DW, Richardson RS. Ultrasound assessment of flow-mediated dilation. *Hypertension.* 2010;55:1075-85.
23. Sessa WC. eNOS at a glance. *J Cell Sci.* 2004;117:2427-9.
24. Thijssen DH, Black MA, Pyke KE, Padilla J, Atkinson G, Harris RA, et al. Assessment of flow-mediated dilation in humans: a methodological and physiological guideline. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2011;300:H2-12.
25. 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.
26. Bosco G, Rizzato A, Moon RE, Camporesi EM. *Environmental Physiology and Diving Medicine.* *Front Psychol.* 2018;9:72.

27. Wunderlich T, Frey N, Kähler W, Lutz M, Radermacher P, Klapa S, et al. Influence of hyperoxia on diastolic myocardial and arterial endothelial function. *Undersea Hyperb Med.* 2017;44:521-33.
28. Attaye I, Smulders YM, de Waard MC, Oudemans-van Strarten HM, Smit B, Van Wijhe MH, et al. The effects of hyperoxia on microvascular endothelial cell proliferation and production of vaso-active substances. *Intensive Care Med Exp.* 2017;5:22.
29. Doshi SN, Naka KK, Payne N, Jones CJ, Ashton M, Lewis MJ, et al. Flow-mediated dilatation following wrist and upper arm occlusion in humans: the contribution of nitric oxide. *Clin Sci (Lond).* 2001;101:629-35.
30. Parker BA, Tschakovsky ME, Augeri AL, Polk DM, Thompson PD, Kiernan FJ. Heterogenous vasodilator pathways underlie flowmediated dilation in men and women. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2011;301:H1118-26.
31. Brubakk AO, Ross JA, Thom SR. Saturation diving; physiology and pathophysiology. *Compr Physiol.* 2014;4:1229-72.
32. Sureda A, Batle JM, Ferrer MD, Mestre-Alfaro A, Tur JA, Pons A. Scuba diving activates vascular antioxidant system. *Int J Sports Med.* 2012;33:531-6.
33. Meckler C, Blatteau JE, Hasbroucq T, Schmid B, Risso JJ, Vidal F. Effects of hyperbaric nitrogen-induced narcosis on response-selection processes. *Ergonomics.* 2014;57:210-8.
34. Hobbs MB. Impairment from gas narcosis when breathing air and enriched air nitrox underwater. *Aviat Space Environ Med.* 2014;85:1121-4.
35. Mitchell SJ, Doolette DJ. Recreational technical diving part 1: an introduction to technical diving methods and activities. *Diving Hyperb Med.* 2013;43:86-93.
36. Carreño A, Gascon M, Vert C, Lloret J. The Beneficial Effects of Short-Term Exposure to Scuba Diving on Human Mental Health. *Int J Environ Res Public Health.* 2020;17:7238.
37. Peters BH, Levin HS, Kelly PJ. Neurologic and psychologic manifestations of decompression illness in divers. *Neurology.* 1977;27:125-7.
38. Slosman DO, De Ribaupierre S, Chicherio C, Ludwig C, Montandon ML, Allaoua M, et al. Negative neurofunctional effects of frequency, depth and environment in recreational scuba diving: the Geneva "memory dive" study. *Br J Sports Med.* 2004;38:108-14.

39. Moss MC, Scholey AB, Wesnes K. Oxygen administration selectively enhances cognitive performance in healthy young adults: a placebo-controlled double-blind crossover study. *Psychopharmacology (Berl)*. 1998;138:27-33.
40. Groeneveld ON, van den Berg E, Johansen OE, Schnaidt S, Hermansson K, Zinman B, et al. Oxidative stress and endothelial dysfunction are associated with reduced cognition in type 2 diabetes. *Diab Vasc Dis Res*. 2019;16:577-81.
41. Heringa SM, van den Berg E, Reijmer YD, Nijpels G, Stehouwer CD, Schalkwijk CG, et al. Markers of low-grade inflammation and endothelial dysfunction are related to reduced information processing speed and executive functioning in an older population - the Hoorn Study. *Psychoneuroendocrinology*. 2014;40:108-18.
42. Petri NM. Change in strategy of solving psychological tests: evidence of nitrogen narcosis in shallow air-diving. *Undersea Hyperb Med*. 2003;30:293-303.
43. Karanovic N, Carev M, Kardum G, Pecotic R, Valic M, Karanovic S, et al. The impact of a single 24 h working day on cognitive and psychomotor performance in staff anaesthesiologists. *Eur J Anaesthesiol*. 2009;26:825-32.
44. Pecotic R, Dodig IP, Valic M, Galic T, Kalcina LL, Ivkovic N, et al. Effects of CPAP therapy on cognitive and psychomotor performances in patients with severe obstructive sleep apnea: a prospective 1-year study. *Sleep Breath*. 2019;23:41-8.
45. Lusic Kalcina L, Pavlinac Dodig I, Pecotic R, Valic M, Dogas Z. Psychomotor Performance in Patients with Obstructive Sleep Apnea Syndrome. *Nat Sci Sleep*. 2020;12:183-95.
46. Pavlinac Dodig I, Krišto D, Lušić Kalcina L, Pecotić R, Valić M, Đogaš Z. The effect of age and gender on cognitive and psychomotor abilities measured by computerized series tests: a cross-sectional study. *Croat Med J*. 2020;61:82-92.
47. Pendergast DR, Moon RE, Krasney JJ, Held HE, Zamparo P. Human physiology in an aquatic environment. *Compr Physiol*. 2015;5:1705-50.
48. Tsai FH, Wu WL, Liang JM, Hsu HT, Chen TY. Anxiety impact on scuba performance and underwater cognitive processing ability. *Diving Hyperb Med*. 2020;50:130-4.
49. Terry PC, Mayer JL, Howe BL. Effectiveness of a mental training program for novice scuba divers. *J of Appl Sport Psychol*. 1998;10:251-67.

50. Spielberger, C.D.; Gorsuch, R.L.; Lushene, R.; Vagg, P.; Jacobs, G. Manual for the State-Trait Anxiety Inventory. Palo Alto, CA: Consulting Psychologists Press;1983.
51. Morgan W. Anxiety and panic in recreational scuba divers. *Sport Medicine*. 1995;20:398-421.
52. 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.
53. Corretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ, Celermajer D, Charbonneau F, Creager MA, et al. 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.
54. Wisløff U, Richardson RS, Brubakk AO. Exercise and nitric oxide prevent bubble formation: a novel approach to the prevention of decompression sickness? *J Physiol*. 2004;555:825-9.
55. Drenovac M. An analysis of some attributes of the dynamics of mental processing. *Rev Psychol*. 2001;8:61-7.
56. Morgan WP, Raglin JS, O'Connor PJ. Trait anxiety predicts panic behavior in beginning scuba students. *Int J Sports Med*. 2004;25:314-22.
57. Steinberg F, Doppelmayr M. A brief note on the relationship between anxiety and performance in scuba diving in adolescents: a field study. *Percept Mot Skills*. 2015;120:960-70.
58. Šegrt Ribičić I, Valić M, Božić J, Obad A, Glavaš D, Glavičić I, et al. Influence of oxygen enriched gases during decompression on bubble formation and endothelial function in self-contained underwater breathing apparatus diving: a randomized controlled study. *Croat Med J*. 2019;60:265-72.
59. Blatteau JE, Souraud JB, Gempp E, Boussuges A. Gas nuclei, their origin, and their role in bubble formation. *Aviat Space Environ Med*. 2006;77:1068-76.
60. Šegrt Ribičić I, Valić M, Lušić Kalcina L, Božić J, Obad A, Glavaš D, et al. Effects of Oxygen Prebreathing on Bubble Formation, Flow-Mediated Dilatation, and Psychomotor Performance during Trimix Dives. *Sports (Basel)*. 2024;12:35.
61. Blatteau JE, Pontier JM. Effect of in-water recompression with oxygen to 6 msw versus normobaric oxygen breathing on bubble formation in divers. *Eur J Appl Physiol*. 2009;106:691-5.
62. Bosco G, Paoli A, Camporesi E. Aerobic demand and scuba diving: concerns about medical evaluation. *Diving Hyperb Med*. 2014;44:61-3.

63. Bosco G, Yang ZJ, Di Tano G, Camporesi EM, Faralli F, Savini F, et al. Effect of in-water oxygen prebreathing at different depths on decompression-induced bubble formation and platelet activation. *J Appl Physiol* (1985). 2010;108:1077-83.
64. Imbert JP, Egi SM, Germonpré P, Balestra C. Static Metabolic Bubbles as Precursors of Vascular Gas Emboli During Divers' Decompression: A Hypothesis Explaining Bubbling Variability. *Front Physiol*. 2019;10:807.
65. Madden LA, Laden G. Gas bubbles may not be the underlying cause of decompression illness - The at-depth endothelial dysfunction hypothesis. *Med Hypotheses*. 2009;72:389-92.
66. Madden LA, Christmas BC, Mellor D, Vince RV, Midgley AW, McNaughton LR, et al. Endothelial function and stress response after simulated dives to 18 msw breathing air or oxygen. *Aviat Space Environ Med*. 2010;81:41-5.
67. Obad A, Marinovic J, Ljubkovic M, Breskovic T, Modun D, Boban M, et al. Successive deep dives impair endothelial function and enhance oxidative stress in man. *Clin Physiol Funct Imaging*. 2010;30:432-8.
68. Nossum V, Koteng S, Brubakk AO. Endothelial damage by bubbles in the pulmonary artery of the pig. *Undersea Hyperb Med*. 1999;26:1-8.
69. Brubakk AO, Møllerløgken A. The role of intra-vascular bubbles and the vascular endothelium in decompression sickness. *Diving Hyperb Med*. 2009;39:162-9.
70. Brodsky SV, Zhang F, Nasjletti A, Goligorsky MS. Endothelium-derived microparticles impair endothelial function in vitro. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2004;286:H1910-5.
71. Powers SK, Jackson MJ. Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiol Rev*. 2008;88:1243-76.
72. Wang CH, Chang WT, Huang CH, Tsai MS, Yu PH, Wang AY et al. The effect of hyperoxia on survival following adult cardiac arrest: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Resuscitation*. 2014;85:1142-8.
73. Christmas BC, Midgley AW, Taylor L, Vince RV, Laden G, Madden LA. Acute antioxidant pre-treatment attenuates endothelial microparticle release after decompression. *Diving Hyperb Med*. 2010;40:184-8.
74. Demchenko IT, Boso AE, O'Neill TJ, Bennett PB, Piantadosi CA. Nitric oxide and cerebral blood flow responses to hyperbaric oxygen. *J Appl Physiol* (1985). 2000;88:1381-9.

75. Tousoulis D, Kampoli AM, Tentolouris C, Papageorgiou N, Stefanadis C. The role of nitric oxide on endothelial function. *Curr Vasc Pharmacol*. 2012;10:4-18.
76. Vezzoli A, Mrakic-Sposta S, Brizzolari A, Balestra C, Camporesi EM, Bosco G. Oxy-Inflammation in Humans during Underwater Activities. *Int J Mol Sci*. 2024;25:3060.
77. Solich-Talanda M, Żebrowska A, Mikołajczyk R, Kostorz-Nosal S, Ziora D, Jastrzębski D, et al. Effect of Apnea-Induced Hypoxia on Cardiovascular Adaptation and Circulating Biomarkers of Oxidative Stress in Elite Breath-Hold Divers. *Front Physiol*. 2021;12:726434.
78. Hemelryck W, Germonpré P, Papadopoulou V, Rozložnik M, Balestra C. Long term effects of recreational SCUBA diving on higher cognitive function. *Scand J Med Sci Sports*. 2014;24:928-34.
79. Tikkinen J, Wuorimaa T, Siimes MA. A comparison of simple reaction time, visual discrimination and critical flicker fusion frequency in professional divers at elevated pressure. *Diving Hyperb Med*. 2016;46:82-6.
80. Sharma RI, Marcinkowska AB, Mankowska ND, Waśkow M, Kot J, Winklewski PJ. Cognitive Functions in Scuba, Technical and Saturation Diving. *Biology (Basel)*. 2023;12:229.
81. Möller F, Hoffmann U, Dalecki M, Dräger T, Doppelmayr M, Steinberg F. Physical Exercise Intensity During Submersion Selectively Affects Executive Functions. *Hum Factors*. 2021;63:227-39.
82. Dean JB, Mulkey DK, Henderson RA 3rd, Potter SJ, Putnam RW. Hyperoxia, reactive oxygen species, and hyperventilation: oxygen sensitivity of brain stem neurons. *J Appl Physiol* (1985). 2004;96:784-91.
83. Prabhakar NR. Oxygen sensing by the carotid body chemoreceptors. *J Appl Physiol* (1985). 2000;88:2287-95.
84. Wong-Riley MT, Liu Q, Gao XP. Peripheral-central chemoreceptor interaction and the significance of a critical period in the development of respiratory control. *Respir Physiol Neurobiol*. 2013;185:156-69.
85. Brebeck AK, Deussen A, Schmitz-Peiffer H, Range U, Balestra C, Cleveland S, Schipke JD. Effects of oxygen-enriched air on cognitive performance during SCUBA-diving - an open-water study. *Res Sports Med*. 2017;25:345-56.

86. Germonpré P, Balestra C, Hemelryck W, Buzzacott P, Lafère P. Objective vs. Subjective Evaluation of Cognitive Performance During 0.4-MPa Dives Breathing Air or Nitrox. *Aerosp Med Hum Perform.* 2017;88:469-75.
87. Micarelli A, Jacobsson H, Larsson SA, Jonsson C, Pagani M. Neurobiological insight into hyperbaric hyperoxia. *Acta Physiol (Oxf).* 2013;209:69-76.
88. Manning EP. Central Nervous System Oxygen Toxicity and Hyperbaric Oxygen Seizures. *Aerosp Med Hum Perform.* 2016;87:477-86.
89. Bast-Pettersen R, Skare Ø, Nordby KC, Skogstad M. A twelve-year longitudinal study of neuropsychological function in non-saturation professional divers. *Int Arch Occup Environ Health.* 2015;88:669-82.
90. Walton L. The panic triangle: onset of panic in scuba divers. *Undersea Hyperb Med.* 2018;45:505-9.
91. Zec M, Antičević V, Lušić Kalcina L, Valić Z, Božić J. Psychophysiological stress response in SCUBA divers: the contribution of negative automatic thoughts and negative emotions. *Curr. Psychol.* 2022;42:16751–65.
92. Kowalski JT, Varn A, Röttger S, Seidack S, Kähler' W, Gerber WD, Andrasik F, Koch A. Neuropsychological deficits in scuba divers: an exploratory investigation. *Undersea Hyperb Med.* 2011;38:197-204.
93. Li Y, Zhang H, Liang Y, Wang W, Xu T, Zhang J, Xiao W, Wang T. Effects of hyperbaric oxygen on vascular endothelial function in patients with slow coronary flow. *Cardiol J.* 2018;25:106-12.
94. Hashimoto M, Akishita M, Eto M, Ishikawa M, Kozaki K, Toba K, Sagara Y, Taketani Y, Orimo H, Ouchi Y. Modulation of endothelium-dependent flow-mediated dilatation of the brachial artery by sex and menstrual cycle. *Circulation.* 1995;92:3431-5.
95. Møllerløkken A, Blogg SL, Doolette DJ, Nishi RY, Pollock NW. Consensus guidelines for the use of ultrasound for diving research. *Diving Hyperb Med.* 2016;46:26-32.

8. SAŽETAK

Uvod SCUBA ronjenje unatoč popularnosti i dalje predstavlja aktivnost visokog rizika. Istraživanje provedeno na SCUBA ronionicima imalo je zadatak ispitati učinak smjesa obogaćenih kisikom ili udisanja kisika pred sam zaron na pojavnost mjehurića plina i endotelnu funkciju.

Metode U prvom dijelu istraživanja sudjelovalo je 10 iskusnih ronioca koji su zaranjali tri puta na 45 metara morske dubine, a bili su randomizirani ovisno o smjesi plinova za dekompresiju: komprimirani zrak, nitroks 50 ili nitroks 99. U drugom dijelu istraživanja sudjelovalo je 12 iskusnih ronioca koji su dva puta ronili na smjesu kisika, dušika i helija (trimiks) do 60 metara morske dubine. Ronioci su bili randomizirani ovisno o protokolu disanja pred zaron: zrak iz okoliša ili 100% kisik 30 minuta. U oba istraživanja svim ronionicima su 30 minuta nakon zarona ultrazvučno monitorirani mjehurići plina u srčanim šupljinama. Prije i 40-60 minuta nakon svakog zarona mjerila se protokom posredovana vazodilatacija (engl. flow-mediated dilatation, FMD). U drugom dijelu istraživanja roniodci su prije i 60-80 minuta nakon zarona provodili kognitivna i psihomotorna mjerenja na CRD seriji testova i STAI upitniku.

Rezultati Broj mjehurića bio je značajno smanjen nakon kašlja ukoliko je korišten nitroks 99 tijekom dekompresije u usporedbi s dekompresijom na zrak ili nitroks 50 ($p = 0,026$). FMD nakon zarona na nitroks 50 bio je značajno smanjen u usporedbi s FMD prije zarona ($p = 0.010$). Također, FMD je bio značajno smanjen nakon zarona na nitroks 50 u usporedbi sa zaronom na zrak ($p=0.031$). U protokolu udisanja 100% kisika prije trimiks zarona značajno je smanjena pojavnost mjehurića plina u usporedbi s disanjem zraka prije zarona ($p < 0.001$). Ukupno vrijeme rješavanja zadataka u psihomotornim testovima (CRD411 i CRD11) bilo je značajno kraće u trimiks zaronima kada se 30 minuta prije udisao 100% kisik ($p = 0.028$).

Zaključci Vrijeme zarona bilo je kraće ukoliko se koristio nitroks 99 uz manji broj mjehurića plina i očuvanu endotelnu funkciju mjerenu FMD-om. Također, udisanje kisika prije zarona smanjuje pojavnost mjehurića plina uz očuvanu endotelnu funkciju. Nadalje, udisanje kisika prije trimiks zarona uzrokuje bržu psihomotornu izvedbu nakon ronjenja.

9. SUMMARY

Title Application of oxygen before diving and during decompression in technical diving: impact on venous gas bubbles and endothelial function of the brachial artery

Background Despite its popularity, SCUBA diving is still a high-risk activity. The research conducted on SCUBA divers had the task of examining the effect of oxygen-enriched mixtures or oxygen application before diving on the occurrence of gas bubbles and endothelial function.

Methods In the first part of the research, 10 divers performed three dives to 45 msw, and were randomized depending on the gas mixture for decompression: air, nitrox 50 or nitrox 99. In the second part of the research, 12 divers performed two dives using mixture of oxygen, nitrogen and helium (trimix) to 60 msw. Divers were randomized depending on the pre-dive breathing protocol: air or 100% oxygen for 30 minutes. In both studies, 30 minutes after the dive, all divers were ultrasonically monitored for gas bubbles in the heart cavities. Flow-mediated vasodilatation (FMD) was measured before and 40-60 minutes after each dive. In the second part of the research, divers performed cognitive and psychomotor measurements on the CRD series of tests and the STAI questionnaire before and 60-80 minutes after the dive.

Results Nitrox 99 significantly reduced bubble formation after cough compared with air or nitrox 50 ($p = 0.026$). Post-dive FMD was significantly reduced compared to pre-dive FMD with nitrox 50 ($p = 0.010$). Also, nitrox 50 significantly reduced post-dive FMD compared with air ($p=0.031$). The bubble grade was decreased in the oxygen prebreathing protocol ($p < 0.001$). The total test solving times after the dive, in CRD411 and CRD11 tests, were significantly shorter in the oxygen prebreathing protocol ($p = 0.028$).

Conclusions Nitrox 99 and oxygen prebreathing protocol reduced bubble formation and preserved endothelial function. Furthermore, in oxygen prebreathing protocol was faster post-dive psychomotor speed.

10. ŽIVOTOPIS

Osobni podaci

Ime i prezime: Ivana Šegrt Ribičić

Datum i mjesto rođenja: 1. kolovoza 1987., Split, Hrvatska

Državljanstvo: hrvatsko

Adresa stanovanja: Jeretova 9, Split, Hrvatska

Adresa zaposlenja: Klinika za plućne bolesti, Klinički bolnički centar Split,

Spinčićeva 1, 21 000 Split, Hrvatska

Mobitel: 091/6640177

E-mail: ivanasegrt@gmail.com

Obrazovanje

1994.-2002. Osnovna škola prof. Filipa Lukasa, Kaštel Stari

2002.-2006. Prva gimnazija, Split

2006.-2012. Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu,

stručni naziv: doktorica medicine

2013.- 2016. Poslijediplomski doktorski studij Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu,

studijski program: Klinička medicina utemeljena na dokazima

Stručno usavršavanje

2015.-2021. Specijalizacija pulmologije, Klinički bolnički centar Split

Zaposlenja

2013.-2014. Klinički bolnički centar Split

Doktorica medicine-pripravnica

2014. Katedra za fiziologiju, Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu

Asistent u nastavi

2015.-2021. Klinika za plućne bolesti Kliničkog bolničkog centra Split

Specijalizantica pulmologije

2021.- Klinika za plućne bolesti Kliničkog bolničkog centra Split

Specijalistica pulmologije

Nastavna aktivnost

2021.- Vanjski suradnik pri Katedri za medicinsku propedeutiku

Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu: znanstveno područje Biomedicina i zdravstvo, znanstveno polje Kliničke medicinske znanosti, znanstvena grana Medicinska propedeutika

Popis radova

1. Šegrt Ribičić I, Valić M, Božić J, Obad A, Glavaš D, Glavičić I, Valić Z. Influence of oxygen enriched gases during decompression on bubble formation and endothelial function in self-contained underwater breathing apparatus diving: a randomized controlled study. *Croat Med J.* 2019;60:265-72.
2. Šegrt Ribičić I, Valić M, Lušić Kalcina L, Božić J, Obad A, Glavaš D, Glavičić I, Valić Z. Effects of Oxygen Prebreathing on Bubble Formation, Flow-Mediated Dilatation, and Psychomotor Performance during Trimix Dives. *Sports (Basel).* 2024;12:35.

Poglavlja u knjigama

1. Ivana Šegrt Ribičić, Kornelija Miše. Liječenje tuberkuloze. Tuberkuloza - stara dama u novom ruhu - Anamarija Jurčev Savičević, Kornelija Miše i suradnici. Zagreb: Medicinska naklada, 2021

Sažeci u zbornicima skupova

1. Irena Perić, Ivana Šegrt, Toni Božinović. Dijagnostika pleuralnih izljeva. Dijagnostika plućnih bolesti. Komiža, Hrvatska 2015.
2. Jasminka Svalina Grmuša, Ivana Šegrt, Anita Tolić Biočina. Dileme u dijagnostici i terapiji tuberkuloze pluća. Poslijediplomski tečaj I. kategorije s međunarodnim sudjelovanjem. Komiža, Hrvatska 2016.
3. Ivana Šegrt, Ivan Škopljanac, Dino Ilak, Kornelija Miše. Recidivirajući pneumotoraks u žena. Poslijediplomski tečaj I. kategorije s međunarodnim sudjelovanjem. Komiža, Hrvatska 2017.
4. Božinović T, Mladinov S, Kokeza J, Popović V, Ilak D, Šegrt I, Škopljanac I, Piljić Burazer M. Analiza EGFR mutacija iz bronhoskopskih uzoraka u KBC Split. 48. kongres Hrvatskog pulmološkog društva, Pula, Hrvatska. 2017.
5. Skopljanac I, Segrt I, Mise K, Lozo Vukovac E, Tolic Biocina A. Cisplatin/pemetrexed chemotherapy versus palliative care survival in malignant pleural mesothelioma. Pleural and Mediastinal Malignancies. 2018;. European Respiratory Journal 2018 52: Suppl. 62, PA2894.
6. Šegrt Ribičić I, Škopljanac I, Miše K. Intersticijska pneumonija s posljedičnom plućnom fibrozom uzrokovana citomegalovirusom. Rijetke pulmološke bolesti s prikazom bolesnika, Komiža, Hrvatska. 2022.
7. Popović V , Meštrović A , Šegrt Ribičić I , Viculin I , Roso Popović D. Prikaz bolesnika s pankreatitisom kao nuspojavom imunoterapije. Toraks, Zagreb, Hrvatska. 2023

Predavanja na stručnim skupovima

1. „Pristup palijativnom bolesniku s karcinomom pluća“, Značaj rane dijagnostike i mogućnosti liječenja karcinoma pluća, Split, 13. svibnja 2023.
1. ”Prikaz slučaja iz kliničke prakse“, 1. Nacionalni tečaj o karcinomu pluća, Split, 26-27. travnja 2024.
3. „ Alergološko testiranje“, XVII. Poslijediplomski tečaj stalnog medicinskog usavršavanja I. kategorije, Imunološka terapija u pulmologiji, Komiža, 10. svibnja 2024.

Sudjelovanje u znanstvenim istraživanjima

1. JTX-4014-202: Studija faze 2 za procjenu učinkovitosti i sigurnosti PD-1 inhibitora JTX-4014 samog i u kombinaciji s Vopratelimabom, ICOS agonist, u odraslih pacijenata s uznapredovalim karcinomom pluća nemalih stanica (NSCLC) nakon jednog režima liječenja baziranog na platini.

Co-investigator

2. TAK-981-1502: studija za usporedbu sigurnosti i učinkovitost TAK-981 + pembrolizumab za liječenje odraslih pacijenata s uznapredovalim karcinomom pluća nemalih stanica (NSCLC) nakon progresije na prvu liniju liječenja pembrolizumabom. Co-investigator

Članstva u strukovnim organizacijama

Hrvatska liječnička komora

Hrvatski liječnički zbor

Hrvatsko pulmološko društvo

Poznavanje stranih jezika

Engleski jezik: napredno