



УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА

Драган Р. Кнежевић

**ЕФЕКТИ ХИПЕРБАРИЧНЕ ОКСИГЕНОТЕРАПИЈЕ
НА КЛИНИЧКЕ И ЛАБОРАТОРИЈСКЕ ПАРАМЕТРЕ
КОД ПАЦИЈЕНАТА СА УЛКУСОМ ДОЊИХ
ЕКСТРЕМИТЕТА УЗРОКОВАНИМ ПЕРИФЕРНОМ
АРТЕРИЈСКОМ ОКЛУЗИВНОМ БОЛЕШЋУ**

докторска дисертација

Крагујевац, 2026.



UNIVERZITET U KRAGUJEVCU
FAKULTET MEDICINSKIH NAUKA

Dragan R. Knežević

**EFEKTI HIPERBARIČNE OKSIGENOTERAPIJE NA
KLINIČKE I LABORATORIJSKE PARAMETRE KOD
PACIJENATA SA ULKUSOM DONJIH
EKSTREMITETA UZROKOVANIM PERIFERNOM
ARTERIJSKOM OKLUZIVNOM BOLEŠĆU**

doktorska disertacija

Kragujevac, 2026.



UNIVERSITY OF KRAGUJEVAC
FACULTY OF MEDICAL SCIENCES

Dragan R. Knežević

**EFFECTS OF HYPERBARIC OXYGEN THERAPY ON
CLINICAL AND LABORATORY PARAMETERS IN
PATIENTS WITH LOWER EXTREMITY ULCERS
CAUSED BY PERIPHERAL ARTERIAL OCCLUSIVE
DISEASE**

Doctoral Dissertation

Kragujevac, 2026.

Идентификациона страница докторске дисертације (ћирилицом)

Аутор
Име и презиме: Драган Кнежевић
Датум и место рођења: 25.07.1984. Крагујевац
Садашње запослење: - асистент за ужу научну област Хирургија, Факултет медицинских наука, Универзитет у Крагујевцу - специјалиста васкуларне хирургије, субспецијалиста баромедицине, Центар за васкуларну хирургију, УКЦ Крагујевац
Докторска дисертација
Наслов: Ефекти хипербаричне оксигенотерапије на клиничке и лабораторијске параметре код пацијената са улкусом доњих екстремитета узрокованим периферном артеријском оклузивном болешћу
Број страница: 126
Број слика: -4 фотографије, 40 графикана, 44 табеле
Број библиографских података: 196
Установа и место где је рад израђен: Факултет медицинских наука, Универзитет у Крагујевцу
Научна област (УДК): Медицинске науке
Ментор: Проф. др Владимир Живковић, редовни професор Факултета медицинских наука, Универзитет у Крагујевцу
Датум пријаве теме: 14.04.2025.
Број и датум одлуке Већа универзитета о прихватању теме докторске дисертације:
IV-03-576/4 21.10.2025.

Identifikaciona stranica doktorske disertacije na engleskom jeziku

Author
Name and surname: Dragan Knežević
Date and place of birth: 25.07.1984.
.Current employment: - Teaching tssistant in surgery, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac - Specialist in vascular surgery, Subspecialist in baromedicine, Center for Vascular Surgery, University Clinical Center Kragujevac
Doctoral Dissertation
Title: Effects of hyperbaric oxygen therapy on clinical and laboratory parameters in patients with lower extremity ulcers caused by peripheral arterial occlusive disease
No. of pages: 126
No. of images: 4 photos, 40 charts, and 44 tables
No. of bibliographic data: 196
Institution and place of work: Faculty of medical sciences
Scientific area (UDK): Medical Scienses
Mentor: Prof dr Vladimir Živković, Full Professor, Department of Physiology, Faculty of medical sciences, Unversity of Kragujevac
Topic Application Date: 14.04.2025
Decision number and date of acceptance of the doctoral dissertation topic:
IV-03-576/4 21.10.2025

САЖЕТАК

Увод: Периферна артеријска оклузивна болест представља чест узрок хроничних улкуса доњих екстремитета, који су праћени болом, поремећајем микроциркулације, инфламацијом и променама хемостазе. Хипербарична оксигенотерапија (ХБО) може имати значајну улогу као допунска терапијска метода код ових пацијената.

Циљ: Циљ истраживања био је да се испита утицај ХБО терапије на величину улкуса, оксидациони стрес, инфламацију, агрегацију тромбоцита и интензитет бола код пацијената са улкусима доњих екстремитета узрокованим периферном артеријском оклузивном болешћу.

Материјал и методе: Истраживањем је обухваћено 90 пацијената, од којих је 60 било у испитиваној, а 30 у контролној групи. Пацијенти испитиване групе били су изложени ХБО терапији током четири недеље, укупно 20 третмана. Параметри су анализирани пре и после терапије. Агрегација тромбоцита процењивана је Multiplate тестом (ASPI, ADP, TRAP) а интензитет бола VAS скалом, док су као маркери инфламације коришћени Ц реактивни протеин и однос тромбоцита и лимфоцита. Као маркери оксидационог стреса коришћени су: супероксид анјон радикал, азот моноксид (NO) супероксид дисмутаза (SOD), супстанце реактивне са тиобарбитурном киселином (TBARS), редуковани глутатион (GSH), водоник-пероксид (H_2O_2) и каталаза.

Резултати: Након ХБО терапије утврђено је значајно смањење агрегације тромбоцита, као и значајно смањење интензитета бола. Није забележен прооксидативни ефекат терапије. Величина улкуса се није статистички значајно променила, али је уочен клинички бољи изглед улкусних промена. Параметри инфламације остали су без значајне промене.

Закључак: ХБО терапија код пацијената са улкусима доњих екстремитета узрокованим периферном артеријском оклузивном болешћу показује повољан ефекат на смањење агрегације тромбоцита и бола, без прооксидативног дејства, што указује на њен потенцијални значај као допунске терапије.

Кључне речи: хипербарична оксигенотерапија, периферна артеријска оклузивна болест, оксидациони стрес, агрегација тромбоцита, бол.

ABSTRACT

Introduction: Peripheral arterial occlusive disease is a common cause of chronic lower extremity ulcers, which are accompanied by pain, impaired microcirculation, inflammation, and changes in hemostasis. Hyperbaric oxygen therapy (HBOT) may have an important role as an adjunctive therapeutic modality in these patients.

Aim: The aim of this study was to examine the effects of HBOT on ulcer size, oxidative stress, inflammation, platelet aggregation, and pain intensity in patients with lower extremity ulcers caused by peripheral arterial occlusive disease.

Material and Methods: The study included 90 patients, of whom 60 were assigned to the study group and 30 to the control group. Patients in the study group underwent HBOT over a period of four weeks, receiving a total of 20 treatments. The analyzed parameters were evaluated before and after therapy. Platelet aggregation was assessed using the Multiplate test (ASPI, ADP, TRAP), pain intensity was evaluated using the VAS scale, while C-reactive protein and the platelet-to-lymphocyte ratio were used as markers of inflammation. Oxidative stress markers included superoxide anion radical, (NO), superoxide dismutase (SOD), thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), reduced glutathione (GSH), hydrogen peroxide (H₂O₂), and catalase.

Results: After HBOT, a significant reduction in platelet aggregation and pain intensity was observed. No pro-oxidative effect of the therapy was recorded. Ulcer size did not change significantly; however, a clinically improved appearance of ulcer lesions was observed. Inflammatory parameters remained without significant changes.

Conclusion: HBOT in patients with lower extremity ulcers caused by peripheral arterial occlusive disease has a beneficial effect on reducing platelet aggregation and pain, without pro-oxidative effects, indicating its potential importance as an adjunctive therapeutic modality.

Keywords: hyperbaric oxygen therapy, peripheral arterial occlusive disease, oxidative stress, platelet aggregation, pain.

Захваљујем се свом ментору, проф. др Владимиру Живковићу, на стручном вођењу, несебичној подршци, стрпљењу, разумевању и корисним саветима током свих фаза израде ове дисертације.

Велику захвалност дугујем колегама и запосленима у Центру за васкуларну хирургију УКЦ Крагујевац и Центру за хипербаричну медицину, Факултета медицинских наука, на подршци, сарадњи и помоћи током спровођења истраживања и израде дисертације.

Посебно се захваљујем својој породици на подршци, стрпљењу и разумевању. Моји родитељи, Раденко и Јела су ми својим примером, пожртвованошћу и вером у мене били трајан ослонац и подстрек да истрајем.

Посебну и најискренију захвалност дугујем својој супрузи Марији, на љубави, стрпљењу, разумевању и безусловној подршци током свих година мог научног и професионалног усавршавања.

Ову дисертацију посвећујем својој ћерки Неди и сину Војину, који су моја највећа радост, снага и мотивација.

Свима који су били део овог процеса, искрено хвала.

Садржај

1	Увод.....	1
1.1	Периферна артеријска оклузивна болест.....	1
1.1.1	Дефиниција.....	1
1.1.2	Епидемиологија.....	1
1.1.3	Етиопатогенеза.....	2
1.1.4	Клиничка слика	4
1.1.5	Дијагностика.....	6
1.1.6	Лечење.....	6
1.2	Дијабетес мелитус као фактор ризика за периферну артеријску болест	8
1.2.1.	Епидемиологија и етипатогенеза дијабетес мелитуса код периферне артеријске болести.....	9
1.2.2.	Клиничке манифестације периферне артеријске болести код оболелих од дијабетеса ...	10
1.3	Улога оксидационог стреса у периферној артеријској болести.....	12
1.3.1	Оксидациони стрес и антиоксидациона заштита	12
1.3.2	Оксидациони стрес у атеросклерози као основи периферне артеријске болести.....	13
1.3.3	Оксидациони стрес у ПАБ- дијагностичко-прогностички аспект и повезаност са инфламацијом.....	14
1.4	Улога тромбоцита у атеросклерози и настанку-прогресији периферне артеријске болести	17
1.4.1	Клинички значај агрегације тромбоцита у ПАД.....	18
1.4.2	Смањење агрегације тромбоцита код ПАБ – терапијски приступи	19
1.5	Хипербарична оксигенотерапија	20
1.5.1	Историјски развој ХБОТ: од експеримената до на доказима засноване медицине ...	21
1.5.2	Молекуларни и ћелијски механизми дејства.....	21
1.5.3	Хипрбарична оксигенотерапија и оксидациони стрес	22
1.5.4	Хипербарична оксигенотерапија у лечењу периферне артеријске болести и улкусних промена код ПАБ и дијабетеса	23
2	Циљеви и хипотезе.....	26
2.1	Главни циљ истраживања.....	26
2.2	Специфични циљеви истраживања	26
2.3	Полазне хипотезе:	26
3	Методологија истраживања	27
3.1	Врста студије.....	27
3.2	Испитивана популација.....	27

3.3	Студијске варијабле које су одређиване	28
3.3.1	Протокол хипербаричне оксигенотерапије	30
3.3.2	Процена агрегације тромбоцита	30
3.3.3	Мерење величине улкуса.....	31
3.3.4	Мерење параметара оксидационог стреса	33
3.3.5	Процена јачине бола	34
3.3.6	Процена инфламације.....	34
3.4	Снага студије и величина узорка.....	34
3.5	Статистичка обрада података	34
4	Резултати истраживања	36
4.1	Описивање узорка	36
4.2	Дескриптивна статистичка анализа.....	37
4.3	Провера нормалности расподеле података.....	47
4.4	Анализа ефеката хипербаричне оксигенације (ХБО) на испитиване параметре	48
4.5	Анализа резултата у експерименталној и контролној групи пре и после терапије	63
4.6	Метод генерализованих процењивачких једначина	79
4.6.1	АСПИ	79
4.6.2	АДП	80
4.6.3	ТРАП	82
5	Дискусија	85
5.1	Демографски подаци	86
5.2	Утицај ХБО терапије на агрегацију тромбоцита	87
5.3	Утицај ХБО терапије на зарастање (величину) улкуса	91
5.4	Утицај ХБО терапије на бол	95
5.5	ХБО терапија и инфламација.....	97
5.6	Утицај ХБО терапије на оксидациони стрес	98
5.7	Ограничења студије и правци будућих истраживања	102
6	Закључак	103
7	Библиографија.....	104
8	Списак скраћеница.....	120

1 Увод

1.1 Периферна артеријска оклузивна болест

1.1.1 Дефиниција

Периферна артеријска болест доњих екстремитета представља хронично стање које се карактерише сужењем или потпуном оклузијом артерија ногу. Најчешће настаје као последица атеросклеротског процеса где временом долази до смањене перфузије дисталних ткива. Хемодинамске последице ових промена на артеријама су најизраженије током физичког оптерећења. Тада повећане метаболичке потребе скелетних мишића не могу бити адекватно задовољене, док у узнатим стадијумима болести, исхемија може бити присутна и у миру. Клинички спектар ПАБ обухвата од асимптоматских облика болести, преко хроничне симптоматске форме са интермитентним клаудикацијама до хроничне критичне исхемије екстремитета која подразумева бол у миру, улкусну промену на нози или гангрену (1).

1.1.2 Епидемиологија

Периферна артеријска болест (ПАБ) је једна од најчешћих и клинички врло значајних манифестација системске атеросклерозе. Клинички значај ове болести се огледа у чињеници да је водећи узрок функционалног оштећења, перзистентног бола, хроничних незарастајућих рана и ампутација доњих екстремитета. Поред изражених локалних последица на доњим екстремитетима, ПАБ има и важан системски аспект. Она представља поуздан маркер генерализоване атеросклеротске болести и повезана је са значајно повишеним ризиком од инфаркта миокарда, цереброваскуларног инсульта и повећаног укупног морталитета (1). Глобално гледано, а то показују и резултати обимне мета-анализе која је рађена 2019. године, преваленца периферне артеријске болести код особа узраста ≥ 25 година износила приближно 5,56%. То практично значи да је око 236,6 милиона људи у свету живело са овом болешћу. Аутори су овде закључили да се преваленца значајно повећава са старењем, а највише стопе обољевања су забележени код најстарије популације (2). ПАБ

је дуго времена, посебно када се пореди са коронарном и цереброваскуларном атеросклерозом, била недовољно препозната и потцењена. Ипак, без обзира на такве чињенице из прошлости, ПАБ и даље носи велики ризик, и у погледу губитка екстремитета и у погледу нежељеног кардиоваскуларног догађаја(3). У старијој животној доби, како показују епидемиолошке студије, преваленца периферне артеријске болести, се значајно повећава. Распрострањеност болести се значајно разликује међу појединим географским регионима. Дијагноза ПАБ је постављена код значајног броја од укупног броја оболелих уопште, нарочито у земљама које имају средње или ниске приходе, са истовременом значајном повезаношћу са традиционалним факторима ризика, односно пушењем и дијабетесом(4). Када се пореди са другим атеросклеротским болестима, ризик од смртног исхода је јако изражен. Бројни радови указују на висок ризик укупног и кардиоваскуларног морталитета, као и на ризик од можданог удара и инфаркта миокарда. Овакви налази, које показују многа истраживања, објашњавају зашто је агресивна примена мера секундарне превенције код оболелих од ПАБ оправдана(5). Ова болест је често недовољно препозната и дијагностикована. Разлог је у томе што значајан део оболелих нема типичну симптоматологију односно јавља се са атипичном клиничком сликом. Ова појава се највише јавља код старијих особа и пацијената са дијабетесом. То се дешава јер је код ове популације често развијена сензорна неуропатија а истовремено је и ниво физичке активности смањен што додатно прикрива симптоме периферне исхемије. Због оваковог одложеног препознавања, болест се врло често открива када већ унапредује. Тада су терапијске опције ограничене, а ризик од ампутација и морталитета значајно повећан (1).

1.1.3 Етиопатогенеза

Периферна артеријска болест се најчешће развија као последица атеросклерозе. Наиме, ради се о дуготрајној хроничној инфламацији која се временом развија у артеријском зиду. То није процес који се деси одједном, већ он траје годинама а почиње онда када ендотел изгуби своју нормалну заштитну улогу. Када дође до те дисфункције, у зиду крвног суда се задржавају липопротеини, за које они постају пропустљиви, а након тога долази до оксидације тих липопротеина. После тога следи укључивање моноцита, њихове трансформација у макрофаге и стварање пенастих ћелија. У исто време, долази до умножавања глатких мишићних ћелија које прелазе из медије у интиму артеријског зида. Током дужег временског периода, долази до формирања атеросклеротског плака. Тај плак се током времена мења, долази до његовог ремоделовања а крајњи резултат је сужавање артерије. Последица овог процеса је смањење протока крви а онда ткива која се налазе дистално од овог сужења, остају без довољно кисеоника и развија се исхемија. Што се молекуларног нивоа тиче, главну улогу у развоју периферне артеријске болести има ендотелна дисфункција. Може се рећи да је то заједничка тачка у којој се „састају” различити фактори ризика. Прво, смањује се количина азот-мооксида (NO) који је доступан, а са друге стране долази до повећане продукције маркера оксидационог стреса. Последично долази до губитка адекватне вазодилатације и лакшег слеplивања леукоцита за ендотел. Тако сам ендотел постепено добија проинфламаторне и протромботске

особине. Такође, јавља се појачавање инфламаторних сигналних путева и ослобађање цитокина и адхезионих молекула, а то све заједно убрзава напредовање процеса атеросклерозе (6–8).

Атеротромбоза је појам који заузима значајно место у развоју атеросклерозе. Наиме, дестабилизација атеросклеотског плака и развој тромбозе на самом плаку, могу додатно да погоршају перфузију ткива дистално од лезије. Овако се значајно повећава ризик да дође до клиничке прогресије и то од интермитентних клаудикација ка болу у миру, односно критичној исхемији. Ризик за овакав сценарио је већи уколико у организму постоји активна инфламација или неко прокоагулантно стање. Овај спој атеросклерозе и тромбозе је управо разлог зашто се ПАБ сматра болешћу високог атеротромботског ризика и зато је рад на превенцији тог нежељеног тромботског догађаја у ствари и стратегија за превенцију губитка екстремитета и нежељеног кардиоваскуларног догађаја, дугорочно гледано(4,5). Оно што је важно да се истакне, код периферне артеријске болести, исхемија не погађа само васкуларни зид. Она постоји у скелетним мишићима. У њима, због понављаних епизода релативне хипоксије долази до развијања метаболичких и структурних промена. То све доводи до смањене ефикасности оксидативног метаболизма а након тога и ранијег настанка замарања и смањене толеранције на физички напор. Ово доводи до функционалног ограничења у смислу смањења клаудикационе дистанце чак и код пацијената код којих анатомске лезије нису тешког степена (6,9,10).

Пушење представља један од најзначајнијих независних и потенцијално променљивих фактора ризика за настанак и прогресију периферне артеријске болести. Савремена истраживања указују на снажну повезаност пушења и периферне артеријске болести доњих екстремитета. Ризик зависи од дужине и интензитета пушења. Пушачи имају много већи ризик да се болест јави у млађем животном добу што са собом повлачи теже клиничке облике и лошије исходе лечења (4,11,12). Пушење делује негативно кроз више механизма. Пре свега, доводи до израженог оксидативног стреса и смањења биодоступности азот-моноксида (NO). Тиме се, као што је већ поменуто, нарушава вазодилататорна функција ендотела. Поред тога, појачава се инфламаторни одговор, долази до повећања експресије адхезионих молекула и подстиче се акумулација атерогених липида и њихова оксидативна модификација. Ови процеси значајно убрзавају атерогенезу, и додатно погоршавају периферну перфузију ткива. Још један битан аспект пушења је и утицај дуванског дима на хемостазу и тромбогенезу. Дувански дим доводи до повећане активације тромбоцита, нарушава антитромботска својства ендотела и доприноси настанку атеротромботских компликација. У присуству већ постојећих стенотичних атеросклеротских лезија, ови механизми могу да доведу до наглог погоршања клиничке слике и прогресије болести ка критичној исхемији екстремитета. Због свега овога, у радовима и клиничким смерницама, престанак пушења се сматра једном од кључних мера у лечењу периферне артеријске болести. Циљ је успоравање прогресије болести и побољшања клиничких исхода лечења пре, али што је још битније и после инвазивног лечења, било ендоваскуларног или отовреног хуруршког (7,11,13,14).

1.1.4 Клиничка слика

Клиничка слика периферне артеријске болести је доста различита код разлитих пацијената. Како ће се манифестовати зависи од локализација атеросклеротских лезија, степена стенозе али и од функционалног статуса пацијента. Најчешћи разлог да се пацијенти са ПАБ јављају лекару јесу интермитентне клаудикације. Оне се дефинишу као понављајући бол, грчеви, осећај затезања или печења у мишићима доњих екстремитета, и то најчешће у потколеницама. Друга карактеристика је да се јављају током физичког напора, тј ходања и увек се повлаче након одмора. Ово је оно што их разликује од болова у ногама друге етиологије. Трећа карактеристика да је увек захваћена иста група мишића. У овим мишићима долази до несразмере између повећаних потреба мишића за кисеоником у току рада и немогућности артеријске циркулације која је инсуфицијентна да те потребе задовољи (15–17). Пацијенти који имају интермитентне клаудикације, временом почињу да избегавају физичку активност. Као последица тога, долази до пада функционалне способности и до погоршања кардиоваскуларног статуса. Све ово заједно повећава ризик од кардиоваскуларног догађаја и значајно смањује квалитета живота. Због свега овога, у данашње време, клаудикације се не посматрају само као симптом, него и као важан прогностички и терапијски показатељ. На пример, клаудикациона дистанца је јако битна као циљ структурисаних програма ходања и рехабилитације. Како болест напредује, уколико се не лечи, јавља се исхемијски бол у миру, који је често најизраженији током ноћи. Бол је локализован у пределу стопала и наводи пацијенте да спуштају ногу током ноћи. Долази до појаве исхемијског рубора а након тога долази до развоја рана које не зарастају и гангрене. Овај стадијум се дефинише као хронична критична исхемија екстремитета и пацијенти у овом стадијуму болести су у изузетно великом ризику за ампутацију екстремитета и појаву смртног исхода (18–21).

Класификација

Постоји неколико класификација периферне артеријске оклузивне болест.

а) *Fontaine* класификација

Стадијум I – асимптоматска болест

Стадијум II – интермитентне клаудикације

IIa: благе клаудикације

IIb: тешке клаудикације

Стадијум III – исхемијски бол у миру

Стадијум IV – улкус или гангрена (22)

б) *Rutherford* класификација

Категорија 0 – асимптоматски

Категорије 1–3 – клаудикације (благе, умерене, тешке)

Категорија 4 – исхемијски бол у миру

Категорија 5 – мањи ткивни губитак (улкуси)

Категорија 6 – велики ткивни губитак (опсежна гангрена) (22)

в) *WIfI* класификација

Ово је савремена класификација периферне артеријске болести која је све више прихваћена. Код пацијената са хроничном критичном исхемијом, савремени стандард у клиничкој пракси представља *WIfI* класификација креирана од стране Удружења васкуларних хирурга. Ово је класификација која процењује степен угрожености екстремитета кроз три независне, али међусобно повезане компоненте: рану (*Wound*), степен исхемије (*Ischemia*) и инфекцију стопала (*foot Infection*). Свака од ових компоненти оцењује се градусима од 0 до 3, а њихова комбинација дефинише клинички стадијум (1–4). У односу на стадијум, процењује се ризик од велике ампутације и тако има значајну улогу у доношењу одлуке у вези са даљим начином лечења (23).

Компонента *Ischemia* (I) у *WIfI* систему заснива се на објективним хемодинамским параметрима. Процењује се перфузија ткива а градација се може спроводити на основу неколико начина мерења. Најчешће се користи индекс притиска скочног зглоба (АСПИ), након тога притисак на прстима (*toe pressure*) или најређе коришћено, мерење транскутаног парцијалног притиска кисеоника (TcPO₂). Избор одговарајућег теста зависи од тога да ли су присутни коморбидитети, да ли је присутна калцификација медије у зиду артерије, код пацијената са дијабетесом или хроничном бубрежном слабошћу али као и од доступности појединих метода. Оваквим приступом се омогућава квантификација перфузије и упоредивост код различитих пацијената. На основу таквих параметара, поставља се прецизнији и јаснији ризик од ампутација и потреба за реваскуларизацијом (22–24).

У клиничкој пракси се често користе одређене вредности параметара који имају директну клиничку интерпретацију. Вредност АСПИ $\leq 0,90$ говори у прилог постојању периферне артеријске болести. Ниске вредности (нпр. $\leq 0,40$) указују на тешку артеријску инсуфицијенцију. Код пацијената са некомпресибилним артеријама, што је често присутно код дијабетеса и хроничне бубрежне болести, АСПИ може бити лажно повишен, због калцификованих артерија. Код ових пацијената се предност даје мерењу притиска на прстима (*toe pressure*) и/или TcPO₂. Као клинички релевантне вредности које указују на висок ризик ампутације, често се наводе *toe pressure* <30 mmHg и/или TcPO₂ <30 mmHg.

Ове вредности су доказано повезане са лошијим зарастањем рана а самим тим и већим ризиком од ампутације. Овакви пацијенти се сходно томе позиционирају на више WIfI градусе исхемије (22,23). Предност WIfI система огледа се у томе што јасно раздваја допринос ране, исхемије и инфекције у укупном ризику, чиме се омогућава индивидуализован приступ лечењу. Тако пацијент може имати релативно малу рану уз изражену исхемију, где је реваскуларизација терапијски приоритет, или, обрнуто, доминантну инфекцију која захтева хитну контролу и дренажу, уз паралелну процену перфузије. Овакав приступ олакшава мултидисциплинарно планирање лечења, које укључује васкуларну хирургију и интервентну радиологију, инфектологију, ендокринологију. Овако се такође истовремено омогућава стандардизованије поређење исхода различитих терапијских модалитета. Студије показују да виши WIfI стадијуми носе значајно већи ризик велике ампутације и неповољнијих исхода лечења, а у појединим групама је показана и независна повезаност са морталитетом. Овај податак додатно потврђује прогностичку вредност система у савременој пракси лечења критичне исхемије екстремитета (23,25,26).

1.1.5 Дијагностика

Приликом дијагностике периферне артеријске болести, користе се неинвазивне и инвазивне дијагностичке процедуре. Основни неинвазивни дијагностички тест за периферну артеријску болест је *ankle-brachial index* (АСПИ -Вредности $\leq 0,90$ сматрају се типично дијагностичким за ПАБ, док се у клиничкој пракси вредности у распону 0,91–0,99 често третирају као „граничне“. Вредности $\geq 1,40$ указују на некомп्रेसибилне, калцификоване артерије. У таквим ситуацијама, као што је већ поменуто, потребна је примена додатних тестова перфузије. Када су веома ниске вредности АСПИ (нпр. приближно $\leq 0,40$) оне указују на тешку исхемију, али се код некомпресибилних крвних судова процена мора ослонити на друге параметре процене перфузије (1,22).

Управо због ограничења АСПИ код појединих пацијената, пртисак на нивоу прста и $TcPO_2$ заузимају посебно место, будући да боље одражавају дисталну перфузију на нивоу микроциркулације (22,23). За анатомску процену периферне артеријске болести користе се *СТ* ангиографија (*CTA*) и дигитална субтракциона ангиографија (*DSA*). *DSA* и даље представља златни стандард у дијагностици, у ситуацијама када је планирана ендоваскуларна интервенција или када је неопходна најдетаљнија процена артеријске анатомије. Ипак, с обзиром да се ради о инвазивној процедури која носи одређени ризик, како од компликација у смислу крварења, тако и од контрастне нефропатије, *DSA* се у клиничкој пракси примењује селективно, док *CTA* у многим центрима има улогу стандардне неинвазивне методе за преоперативно планирање. Ови налази ангиографије се увек посматрају уз клиничку слику и процену перфузије (22).

1.1.6 Лечење

Када говоримо о лечењу перифрени артеријске болести, оно предстаља дуготрајан процес има више циљева. Пре свега смањење крадиоваскуларног ризика, смањење тегоба, побољшање функционалног статуса пацијента, очување екстремитета и наравно превенцију ампутације. Савремено лечење ПАБ подразумева комбинацију неколико мера. Ту се мисли на контролу фактора ризика, најбољу могућу медикаментозну терапију, нефармаколошке мере и на крају, према индикацијама и неку врсту реваскуларизације. Јако је битно да постоји индивидуални приступ лечењу а у складу са клиничком сликом и ризиком за губитак екстремитета. Прву и основну ствар представља интензивна контрола фактора ризика. То подразумева апсолутни престанак пушења и задовољавајућу регулацију гликемије код пацијената са дијабетесом. Даље, потребна је адекватна контрола хипертензије и поремећаја метаболизма липида. Поред тога, јако је битно усвајање здравих животних навика. Ове мере имају доказан ефекат не само на успоравање прогресије периферне артеријске болести, већ и на значајно смањење ризика од инфаркта миокарда, можданог удара и укупног морталитета. Ово је од посебног значаја када се има у виду да ПАБ представља показатељ генерализоване атеросклерозе (1,4). Медикаментозно лечење је пре свега усмерено на смањење атеротромботског ризика и подразумева примену антитромбоцитне тј антиагрегационе терапије. Поред тога, користе се статини у високим или умерено високим дозама као и други лекови у складу са коморбидитетима које сваки појединачни пацијент има. Оваква терапија представља основу секундарне превенције и треба да се спроводи код свих пацијената са периферном артеријском болешћу, без обзира на присуство или одсуство симптома. То је битно јер такво лечење значајно смањује ризик од настанка великих кардиоваскуларних догађаја (5,18,27). Код пацијената са интермитентним клаудикацијама, важан део лечења чине нефармаколошке мере. То подразумева пре свега структурисани програм физичке активности и надгледаног ходања, односно “ходање преко границе бола”. Ови програми доводе до побољшања функционалне способности, повећања клаудикационе дистанце и укупног квалитета живота. Овај вид лечења се сматра једним од најефикаснијих конзервативних начина лечења у симптоматској ПАБ. У ситуацијама када конзервативне мере не доводе до задовољавајућег клиничког побољшања, као и код пацијената са хроничном критичном исхемијом, прелази се на инвазивно лечење, односно реваскуларизацију. Циљ реваскуларизације је обнављања адекватног артеријског протока ка ткиву које је исхемично. Реваскуларизација се може спровести ендоваскуларним или хируршким путем, при чему избор методе зависи од анатомске локализације и сложености лезија, клиничког стадијума болести, присутних коморбидитета, као и процене очекиване користи у односу на ризик саме интервенције (16,18,19).

Ендоваскуларна реваскуларизација подразумева минимално инвазивне процедуре, као што су перкутана транслуминална ангиопластика, имплантација стентова или примена других ендоваскуларних метода. Код неких пацијената ово је метод првог избора, посебно код оних са ограниченим, кратким лезијама на артеријама или код пацијената који имају повишен оперативни ризик. Предности ендоваскуларног начина лечења укључују нижи периоперативни морбидитет и морталитет, краћи боравак у болници и бржи постпроцедурални опоравак. Лоша страна оваквог начина лечења је што дугорочна проходност реваскуларизације код сложенијих и дугих лезија, може бити ограничена (22).

Када је у питању хируршка реваскуларизација, она обухвата различите облике бајпас процедура уз примену аутологног венског или синтетског графта као и ендартеректомију. Она остаје значајна терапијска опција код пацијената са екстензивним, вишесегментним или комплексним лезијама на крвним судовима. Она је и опција у ситуацијама када ендоваскуларни начин лечења није изводљив или је претходно био неуспешан. Иако је отворена хирургија повезана са већим иницијалним ризиком, код пажљиво одабраних пацијената она може обезбедити бољу дугорочну проходност графта и боље очување екстремитета. Савремене смернице истичу да избор између ендоваскуларне и хируршке реваскуларизације не треба посматрати као строго супротстављене приступе, већ као комплементарне терапијске опције у оквиру лечења сваког пацијента појединачно. Одлука се доноси у оквиру мултидисциплинарног тима, уз сагледавање клиничке слике, WIfI стадијума, анатомске сложености лезија и општег стања пацијента. Крајњим циљ је оптимално очувања екстремитета и побољшања укупног преживљавања (18). Поред ових стандардних метода лечења, код појединих пацијената, посебно оних са хроничним незарастајућим улкусима и хроничном критичном исхемијом, разматрају се и друге, адјувантне терапијске методе. Једна од њих је хипербарична оксигенотерапија (ХБО). Она се заснива на удисању 100% кисеоника под повишеним притиском, са циљем повећања парцијалног притиска кисеоника у исхемичним ткивима. Теоријска основа примене ХБО терапије обухвата побољшање оксигенације ткива, стимулацију ангиогенезе, модулацију инфламаторног одговора и потенцијално убрзање зарастања хроничних рана. Ово је од посебног значаја за пацијената са тешком периферном исхемијом (6). Иако хипербарична оксигенотерапија не представља замену за реваскуларизацију када је она индикована, у клиничкој пракси се разматра као допунска мера код пажљиво одабраних пацијената, са циљем побољшања локалног налаза на улкусној промени али и са циљем побољшања функционалног статуса пацијента (1).

1.2 Дијабетес мелитус као фактор ризика за периферну артеријску болест

Шећерна болест је један од најзначајнијих потврђених независних фактора ризика како за настанак тако и за и прогресију периферне артеријске болести (ПАБ). Пацијенти оболели од дијабетеса, када се пореде са општом популацијом, чешће оболевају од ПАБ. Код њих је клинички ток болести агресивнији али је и налаз на артеријама тежи, јер су лезије на артеријама често дифузне, и захватају више сегмената. Када постоје и придружени фактори ризика као што је старија животна доб, хипертензија, дислипидемија, пушење, дијабетес са њима делује синергистички, између осталог и на ендотел крвних судова. Тако долази до убрзавања атеросклерозе и нарушавања компензаторних механизма у смислу развоја колатералних крвних судова. У клиничком смислу, то све доводи смањења протока крви и погоршања симптома(4,28,29). Када

пацијенти са ПАБ имају и дијабетес, то указује да су под повећаним атеротромботским ризиком али и укупним кардиоваскуларним ризиком уопште. Ови пацијенти показују већи морталитет и чешћи неповољан кардиоваскуларни догађај. Ово све указује да је ПАБ показатељ генерализоване и унапредовале атеросклерозе. С обзиром на ове податке, увек треба имати на уму да терапијски приступ не треба да буде усмерен само на проблем са екстремитетом, већ да треба да постоји пажљивије праћење и интензивнија секундарна превенција. Ово је битно јер удружено присуство обе болести носи неповољнију прогнозу чак и када се примењује стандардно лечење (30,31).

1.2.1. Епидемиологија и етиопатогенеза дијабетес мелитуса код периферне артеријске болести

Епидемиолошки подаци показују да се периферна артеријска болест, као што је већ поменуто, чешће јавља код пацијената са дијабетесом када се пореди са општом популацијом. Учесталост зависи од тога како се ПАБ дефинише у одређеној студији. Некада се користе АСПИ вредности, некада мерење притиска на прстима а некада на клиничкој дијагнози. С обзиром на ово, разумљиво је што резултати нису у потпуности уједначени. Већина радова који су се бавили пацијентима оболелим од дијабетеса, показала је да се преваленца ПАБ код оболелих од дијабетеса најчешће креће од око 12% до више од 20%. У свакодневној клиничкој пракси, то није занемарљив податак, јер такав проценат значи велики број пацијената. Поред тога, учесталост ПАБ расте са дужином трајања дијабетеса и присуством придружених болести, посебно хроничне бубрежне болести. Учесталост је наравно већа када су истовремено присутни и класични кардиоваскуларни фактори ризика. Све су ово разлози, зашто је периферна артеријска болест учесталија у старијој животној доби (22,32,33).

Када се узме у обзир да број оболелих од дијабетеса константно расте, за очекивати је и да ће број пацијената са унапредовлом ПАБ расти. Ово ће бити израженије у сиромашнијим земљама са ограниченим средствима за превентивне мере и рано откривање (3,34). Патогенетска веза између дијабетеса и периферне артеријске болести је сложена и одвија се на више нивоа васкуларног система. Дуготрајни метаболички поремећаји код дијабетеса не захватају само ендотел, већ и интиму, медију али и коагулациони систем. Један од кључних механизма је хронична хипергликемија, која доводи до стварања и акумулације напредних продуката гликације (AGEs). Они мењају структуру и функцију протеина у зиду крвних судова, а истовремено ремете ћелијску сигнализацију и подстичу инфламаторни одговор. Уз то, активација протеинкиназе С и појачано стварање реактивних кисеоничних радикала додатно појачавају оксидативни стрес. Последица свих ових процеса је убрзани развој ендотелне дисфункције и поремећај вазомоторне регулације. Истовремено се стварају услови за брже формирање и напредовање атеросклеротског плака, али и за смањену способност васкуларног система

да се прилагоди хронично смањеном протоку крви (35,36). Поред метаболичких поремећаја, дијабетес оставља значајне последице и на васкуларни и инфламаторни одговор организма. Као што је поменуто, смањена је биодоступност азот-моноксида. Са друге стране су појачани адхезија леукоцита и тромбоцита а присутна је и хронична инфламација ниског степена. Као последица ових чињеница, зид крвног суда, постепено поприма проатерогене и протромботске особине, као што наводи Libby у раду из 2019. године. У таквим условима расте вероватноћа дестабилизације атеросклеротског плака и настанка локалне тромбозе. У клиничком смислу, то се испољава бржом прогресијом периферне артеријске болести и већим ризиком за развој хроничне критичне исхемије (7,37). Дијабетес значајно мења природни ток периферне артеријске болести и у клиничкој пракси „помера“ болест ка тежим стадијумима. То се огледа у већој учесталости хроничне критичне исхемије и последичних ампутација. Овакав ток је последица удруженог дејства макроваскуларне болести, микроваскуларне дисфункције и оштећеног инфламаторног и регенеративног одговора. Клиничке студије показују да пацијенти са дијабетесом и ПАБ често имају сложенију анатомску дистрибуцију болести. Карактеристична је израженија дистална захваћеност, такозвана крурална болест, као и мање повољни услови за развој спонтане колатералне циркулације. У пракси, ово резултује већом потребом за поновљеним и комплекснијим реваскуларизационим процедурама, као и неповољнијим дугорочним исходима у погледу очувања екстремитета и укупног преживљавања (18,38).

1.2.2. Клиничке манифестације периферне артеријске болести код оболелих од дијабетеса

Клиничке манифестације периферне артеријске болести код пацијената са дијабетесом често су атипичне и неспецифичне. Ово је један од главних разлога за касно препознавање болести у клиничкој пракси. Дијабетесна периферна неуропатија, пошто се често јавља, може значајно умањити болне сензације. Због те неуропатије, класичне интермитентне клаудикације могу бити минималне или потпуно одсутне, чак и уколико постоје хемодинамски значајне лезије на артеријама. Клинички и свакодневни проблем из живота је што ови пацијенти уопште често не ходају довољно да би се интермитентне клаудикације испољиле. На тај начин, клиничка слика додатно бива маскирана. Као последица ових механизма, у свакодневном клиничком раду се дешава да прва манифестација периферне артеријске болести код дијабетичара буде појава улкуса, инфекције или гангрене, односно већ узнапредовала исхемија. Ово често доводи до касног упућивања пацијента васкуларном хирургу (1,39,40). Дијабетес не утиче само на учесталост периферне артеријске болести, већ и на њену анатомску локализацију. Код ових пацијената промене су чешће локализоване на инфраингвиналним и дисталним артеријама, нарочито на тибикалним и педалним крвним судовима. Овакав распоред болести има значајне клиничке последице. Ови пацијенти имају израженију исхемију, слабије развијену колатералну циркулацију и мање могућности за успешну реваскуларизацију. Због тога код пацијената са дијабетесом сумња на периферну артеријску болест треба да постоји и онда када типични симптоми нису изражени, посебно ако су присутне промене на стопалу у смислу хроничних промена на кожи (41–43). Због

овакве комплексне патофизиологије и атипичне клиничке презентације, дијабетес мелитус се у савременој васкуларној медицини сматра једним од кључних фактора који одређује ток, тежину и на крају исход лечења периферне артеријске болести.

1.3 Улога оксидационог стреса у периферној артеријској болести

1.3.1 Оксидациони стрес и антиоксидациона заштита

Оксидациони стрес настаје када се наруши равнотежа између стварања реактивних врста кисеоника и азота (ROS/RNS) и способности антиоксидативног система да их неутралише или ублажи оштећења која изазивају. Када те равнотеже нема, у организму може доћи до оштећења липида, протеина и нуклеинских киселина. Поред тога долази до активације сигналних путева који доприносе одржавању хроничне инфламације. Међутим, ROS/RNS немају искључиво штетну улогу за организам. У нормалним, физиолошким условима, они учествују у бројним важним процесима, као што су регулација васкуларног тонуса, функција ендотела, адаптација организма на физички напор и имунски одговор. До проблема долази онда када је њихово стварање појачано током дужег временског периода или када је антиоксидативна одбрана ослабљена. Уколико до тога дође, то погодује развоју проинфламаторног и протромботског стања (44–46).

Антиоксидативна заштита организма је организована у више нивоа:

- ензимски антиоксиданси (супероксид-дисмутазе, каталаза, глутатион-пероксидазе/редуктазе и др.),
- нискомолекулски антиоксиданси (глутатион, урат, билирубин, витамини С и Е, каротеноиди, коензим Q10 и др.)
- системи детоксикације и репарације оштећених биомолекула.

Nrf2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2) представља важан транскрипциони регулатор који активира бројне гене укључене у антиоксидативну и цитопротективну одбрану. Због тога се наводи као један од јако битних механизма који служи за разумевање и објашњење јако комплексног перзистентног redox-дисбаланса у хроничним болестима. У ову групу болести спада и атеросклероза. Када говоримо о крвним судовима, из угла периферне артеријске оклузивне болести, значајни извори ROS су NADPH-оксидазе (NOX), митохондријални ланац транспорта електрона, ксантин-оксидаза и ендотелна NO-синтаза (eNOS). Последица дејства свих ових чинилаца је смањена биорасположивост азот-монооксида (NO), поремећена вазодилатација, као и појачана адхезија леукоцита и повећана инфламација у крвним судовима. Посебно се истиче улога NOX изоформи у атерогенези, јер се сматра да значајно доприносе васкуларној продукцији супероксида и секундарних ROS. Ипак, савремена истраживања указују да је

њихов ефекат и проатероген и антиатероген у зависности од ситуације. На пример, NOX4 се у појединим радовима описује као потенцијално атеропротективан. То додатно указује на сложеност redox-сигнализације у атеросклерози и потребу за додатним истраживањем у овој области (44,47–49). У клиничким студијама, „оксидациони стрес“ се најчешће не мери директно, већ преко стабилнијих индиректних маркера оштећења (липиди, протеини, eNOS) или преко статуса антиоксидативних система. Практични проблем који се јавља у овим мерењима је што различити маркери одражавају различите домене (нпр. липидна пероксидација или протеинска карбонилација) и различите временске прозоре (акутна промена после исхемије/реперфузије у односу на хронично акумулиране промене). Због свега овога, много је битније и вредније тумачење комбинације маркера оксидативног стреса, него један изолован параметар (44,47,50). Као маркери липидне пероксидације често се користе F2-изопростани, који су релативно специфични показатељи *in vivo* оксидације липида, док се за процену протеинске оксидације користе протеински карбонили. У клиничким истраживањима помињу се и параметри као што су активност параоксоназе-1 (PON1) на ХДЛ, као и мијелопероксидаза (MPO), која представља и маркер и медијатор оксидативно-инфламаторних процеса. Посебну сложеност представља чињеница да у атеросклерози није важна само количина ROS, већ и квалитативне промене липопротеина и васкуларног микроокружења. Оксидативне модификације ЛДЛ-а и ХДЛ-а утичу на активацију инфламације, ендотелну дисфункцију и ремоделовање зида крвног суда. Због тога маркери који одражавају дисфункцију ХДЛ-а, као што је PON1, као и активност MPO, могу имати прогностички значај у васкуларним болестима. Све ово указује на изузетно сложен систем прооксидативних и антиоксидативних маркера у периферној васкуларној болести. Ситуација је још сложенија код пацијената са придруженим коморбидитетима, нарочито када постоје поливаскуларне компликације (44,51–53).

1.3.2 Оксидациони стрес у атеросклерози као основи периферне артеријске болести

Атеросклероза се јако често описује као хронична инфламаторна болест артеријског зида. У тој поремећају, једна од битнијих појава је redox-дисбаланс. Он представља оно што покреће патолошки процес. Наводи се да ROS учествују у развоју ендотелне дисфункције, да доводи до оксидације липида, активације инфламаторних процеса и оно што је клинички најзначајније, до дестабилизације плака. Са друге стране, захваљујући неадекватној NO сигнализацији, повећава се реактивост крвних судова на стимулусе вазоконстрикције (44,48). У том смислу, периферна артеријска болест (ПАБ) може се посматрати као клиничка манифестација системске атеросклерозе а не изолованог проблема на једном екстремитету. Међутим, њен значај не ограничава се искључиво у хемодинамском смањењу артеријског протока. У оквиру овог процеса развија се и комплексна „миоангиопатија“ исхемичног екстремитета, која обухвата промене на више нивоа ткива. У ствари, овде долази до понављаних епизода релативне исхемије током хода, уз реперфузију у периоду одмора. Ово практично представља прави, биолошки

модел хроничних и понављаних исхемијско-реперфузионих догађаја. То је феномен који се веома често среће у свакодневној клиничкој пракси код пацијената са симптоматском ПАБ. Као последица пратктивно свакодневног хода пацијента, што звучи крајње поједностављено, долази до појаве процеса који делују као снажни индуктори продукције реактивних кисеоничних радикала (ROS). Последица ових догађаја је локално оксидативно оштећења ткива (54,55).

У савременим радовима посебно се истиче да код ПАБ, оксидативни стрес није самостални фактор. Он делује на више нивоа истовремено. Први ниво је да је његов утицај је изражен у васкуларном зиду у коме доприноси развоју ендотелне дисфункције и одржавању инфламаторног одговора. Други ниво су значајне промене које захватају и најмање крвне судове, поред лезије магистралних. Оксидативни стрес испољава значајан утицај и на скелетне мишиће. У том смислу, описују се смањена и поремећена функција митохондрија, смањена активност антиоксидативних ензима и акумулација маркера оксидативног оштећења. Важно је истаћи да ове промене показују јасну корелацију са тежином болести и степеном функционалног ограничења пацијената (54,56,57).

Чињенице, које произилазе из молекуларних лабораторијских истраживања, имају и значајан клинички значај. Клинички значај ових механизма се додатно потврђује у подацима који указују и на оксидативно оштећење у гастрокнемијусу, мишићу потколенице који је најчешће место појаве интермитентних клаудикација. Процењено је да је присуство протеинских карбонила, повезано са дугорочним преживљавањем код пацијената са ПАБ. Ова запажања су значајна, јер указују да локалне промене у мишићном ткиву могу одражавати укупни системски ризик по пацијента. Због тога се концепт „миопатије ПАБ“ може посматрати као део шире патофизиолошке целине системске атеросклеротске болести. Овакав приступ помаже да се боље разуме зашто код појединих пацијената долази до несразмерно лоших клиничких исхода у односу на вредности АСПИ или саму анатомску дистрибуцију и степен оштећења артерија (54,58–60).

1.3.3 Оксидативни стрес у ПАБ- дијагностичко-прогностички аспект и повезаност са инфламацијом

У периферној артеријској болести (ПАБ) описане су промене више биохемијских параметара оксидативног стреса и инфламације као што је раније већ поменуто. Између осталог, код ових пацијената утврђене су повишене вредности F2-изопростана и протеинских карбонила, као и измењена активност параоксоназе 1 (PON1) и других параметара повезаних са липопротеинском оксидацијом.

Када узмемо у обзир овакве налазе, долазимо до тога да су атеросклероза, исхемија, инфламација и поремећено зарастање ткива у једној јако комплексној спрези. На

молекуларном нивоу се посебно издваја мијелопероксидаза. За овај молекул се сматра и да је ефектор али и индикатор оксидативно-инфламаторног оштећења. Показано је да су повишени нивои мијелопероксидазе повезани са већим ризиком од развоја нежељеног кардиоваскуларног догађаја и развоја критичне исхемије екстремитета (51,52,54,56). Интересовање за испитивање оксидационог стреса и инфламације код пацијената са ПАБ расте континуирано, већ годинама. Ова испитивања врло често укључују и микроваскуларну дисфункцију, изражену инфламацију и присуство инфекције. Испитивања биолошких маркера код пацијената са критичном исхемијом указују да су бројни параметри, укључујући маркере ендотелне дисфункције, инфламације и оксидативног стреса, значајно повишени. Ови поремећаји су посебно изражени у случајевима када је критична исхемија удружена са дијабетес мелитусом. То указује да уколико постоји удружено оштећење, на два патофизиолошка нивоа – дијабетеса и периферне исхемије, то има директан утицај на клинички статус пацијента, односно на зарастање улкусне промене(53,56,61).

Лечење пацијената са незарастајућим улкусима који настају као последица периферне артеријске болести веома је сложено и зато захтева мултидисциплинарни приступ. У основи ове болести налази се повезан низ патофизиолошких догађаја. Најпре долази до појачаног стварања супероксида из NOX система, а затим и до смањења доступности азот-оксида услед формирања пероксинитрита. Ово доводи до развоја нитрозативног стреса. Након тога, долази до ендотелне дисфункције, смањења еластичности артерија и активације инфламације. Посебан значај ове осовине је у томе што она јасно повезује класичне факторе ризика, као што су пушење, дијабетес и дислипидемија, са клиничким испољавањем болести, односно са појавом клаудикација и критичне исхемије екстремитета. Зато се патофизиологија периферне артеријске болести не може свести само на сужење лумена крвног суда, јер она обухвата и сложене функционалне и биохемијске промене које значајно утичу на ток болести (48,55). Из угла антиоксидативне одбране, системи који су регулисани помоћу Nrf2 имају централну улогу. Ензими глутатионског циклуса, хем-оксигеназа-1 и други сродни механизми помажу организму да се носи са хроничним оксидативним оптерећењем. Зато се Nrf2 у литератури о периферној артеријској болести све чешће издваја као потенцијална терапијска мета. Ипак, ови подаци уједно показују да се идеја о једноставном „повећању антиоксиданаса“ не може лако пренети у клиничку праксу. Redox равнотежа је осетљива и зависи од више међусобно повезаних фактора, као што су доза, време примене антиоксиданаса као и место деловања, било да је реч о васкуларном зиду, скелетном мишићу или циркулацији (47,57,62,63).

Када је реч о суплементацији антиоксидансиа у ПАБ, прегледни радови указују на постојање бројних студија са различитим антиоксидансиа, како природним, тако и синтетским. Међутим, врло је изражена хетерогеност међу овим истраживањима. Разлике у испитиваним популацијама, дозама, исходима и трајању терапије, наводе нас да закључке треба тумачити опрезно. Због тога се антиоксиданси не могу посматрати као универзална замена за доказане начине лечења атеросклерозе. Антиоксидансе треба посматрати као могућу адјувантну терапију и то у строго дефинисаним истраживачким или појединачним клиничким индикацијама. Истовремено, поједине клиничке студије код пацијената са ПАБ, указују на јасну повезаност између маркера оксидативног стреса и

инфламације и стадијума болести. На пример, описује се повезаност између мултиплих лезија на артеријама и повишених нивоа прооксидативних и проинфламаторних параметара (56,57,64,65). Ови налази представљају важан аргумент зашто у оквиру овог рада има смисла посебно разматрати параметре оксидационог стреса и инфламације. Они, наине, нису само „лабораторијска занимљивост“, већ могу да представљају везу између клиничке тежине болести, укупног ризика и одговора на терапију.

1.4 Улога тромбоцита у атеросклерози и настанку-прогресији периферне артеријске болести

Тромбоцити заузимају централно место у процесу атеротромбозе. Они учествују не само у изградњи тромба на месту где је дошло до руптуре плака, него и настанку у прогресији атеросклерозе. Овај процес се дешава путем такозване тромбоинфламације, односно интерреакције тромбоцита са ендотелом, ослобађањем медијатора (хемокини, цитокини, фактори раста) али и путем тромбоцитних екстрацелуларних везикула тј микропартикула, које утичу на локални микроваскуларни амбијент (66–68). Код периферне артеријске болести значај тромбоцита долази посебно до изражаја, јер се сама болест не одвија само као постојање стабилног плака на суженом крвном суду. Ту се јавља динамичан процес у коме се током хода смењују епизоде исхемије и реперфузије. Поред тога, овде су често присутни инфламација и ендотелна дисфункција, а то додатно подстиче протромботско окружење. У таквим условима, тромбоцитна хиперреактивност добија посебан патофизиолошки значај, јер представља важну везу између атеросклеротске основе болести и њене клиничке декомпензације. Ово је разлог зашто се код ПАБ повећава ризик од погоршања клиничког тока, укључујући акутну исхемију екстремитета, погоршање хроничне исхемије или тромбозу након реваскуларизације (54,67,69).

У почетку развоја атеросклерозе, долази до активације ендотела различитим факторима као што су дислипидемија, пушење, дијабетес и оксидациони стрес. Ендотел након тога појачава експресију адхезионих молекула и губи физиолошку антиадхезивну и антикоагулантну одбрану односно баријеру. У таквој ситуацији, тромбоцити се много лакше везују за ендотел и субендотелне структуре. Све ово заједно није само иницијални корак тромбозе већ и стимуланс за локалну инфламацију што последично доводи до миграције имунских ћелија у интиму (66,70–72).

Још један од механизма како тромбоцити утичу на атеросклерозу је путем П селектина. Он омогућава блиску интеракцију инфламаторних ћелија и тромбоцита. Активирани тромбоцити ослобађају садржај својих гранула, између осталог и PF4/CXCL4, RANTES/CCL5 и друге хемоатрактантне медијаторе. На тај начин додатно подстичу миграцију моноцита, њихово задржавање у зиду крвног суда и каснију активацију. Још један важан механизам је формирање агрегата између тромбоцита и леукоцита. Ови комплекси имају велики проинфламаторни потенцијал, а уједно се све чешће посматрају и као показатељ активне атеротромбозе (73,74). У ПАБ је посебно занимљив доказ да тромбоцити могу директно препрограмирају моноците ка проатерогеном фенотипу. У студији из 2018. године, на симптоматским ПАБ пацијентима показано је да тромбоцит-деривисани *MRP-14* може бити пренет на моноците и подстицати њихову активацију и миграцију. Ово показује да активација тромбоцита није

само последица оштећења ендотела, ерозије или руптуре атеросклеротског плака, већ и процес који активно доприноси инфламацији, тромбози и прогресији атеросклеротске болести (75).

1.4.1 Клинички значај агрегације тромбоцита у ПАД

Агрегација тромбоцита се одвија кроз више истовремених процеса који су повезани. Долази до контакта са оштећеним ендотелом односно до адхезије, након тога се тромбоцити активирају. Ту активацију прати ослобађање медијатора али и промена облика тромбоцита. Каније долази до стабилизације тромба, у којој интегрин $\alpha\text{IIb}\beta_3$ има централну улогу. У оквиру атеротромбозе, најважнији путеви стимулације овог процеса су ADP преко P2Y₁₂ пута, тромбоксан A₂ преко COX-1 пута и тромбин преко PAR пута. Ови путеви су управо и мета деловања главних група антиагрегационих лекова (76,77).

Са клиничког гледишта, агрегација тромбоцита у ПАБ се може посматрати са два нивоа. С једне стране, хронично појачана тромбоцитна активација може доприносити настанку малих или немих микротромбоза. Ово последично доводи до развоја микроваскуларне дисфункције, што има посебан значај за зарастање рана у условима хроничне исхемије екстремитета. Што се другог нивоа тиче, код болесника са високим ризиком, нарочито након ендоваскуларне или хируршке реваскуларизације, појачана агрегација и резидуална тромбоцитна реактивност могу повећати вероватноћу тромбозе реконструисаног сегмента и настанка акутне исхемије, односно изазвати тромбозу, тј оклузију графта или стента (67,69,78). Поред тога, код пацијената са ПАБ описани су и феномени као што су повећан број тромбоцит-моноцитних и тромбоцит-неутрофилних агрегата. Ово је важно јер тај број агрегата може да се мења у различитим стадијумима болести. То можемо повезати са клиничким значајем, односно ту се успоставља веза између лабораторијски мерљивог феномена и агрегације тромбоцита која учествује у клинички значајној прогресији болести (79,80). У популацији пацијената са ПАБ, интересовање за тромбоцитну реактивност додатно је порасло због запажања да код неких болесника, без обзира на примену антитромбоцитне терапије, перзистира висока реактивност тромбоцита током лечења (*high on-treatment platelet reactivity*, HPR) (81). Ова појава се потенцијално повезује са већим ризиком од кардиоваскуларних догађаја. Велики прегледни радови који се баве испитивањем тромбоцитне функције код пацијената са ПАБ показују да је доступно више лабораторијских метода, укључујући светлосну агрегометрију (*light transmission aggregometry*), тест VerifyNow и VASP/P2Y₁₂ тест. Ипак, истовремено се наглашава да резултате ових испитивања треба тумачити опрезно. Разлог за то лежи у чињеници да граничне вредности и стварни клинички значај добијених налаза нису универзално стандардизовани за ПАБ, као што је то случај у појединим областима интервентне кардиологије, нарочито у оквиру болести коронарних артерија (82,83).

1.4.2 Смањење агрегације тромбоцита код ПАБ – терапијски приступи

Приликом лечења периферне артеријске оклузивне болести, један од најважнијих терапијских циљева је смањење агрегације тромбоцита, јер тромбоцити у овој популацији не учествују само у настанку атеротромбозних догађаја, већ и у прогресији. Због тога савремена примена антитромбоцитне терапије у ПАБ не усмерава се искључиво на смањење кардиоваскуларног ризика. Она све више обухвата и превенцију неповољних исхода по екстремитет, посебно код симптоматских болесника и након реваскуларизационих процедура(84,85).

Постоје три најчешћа модела примене терапије:

а)Инхибиција COX-1 – ацетилсалицилна киселина смањује агрегацију тромбоцита блокадом COX-1 и инхибицијом синтезе тромбоксана A2, чиме умањује дејство једног од главних појачача тромбоцитне активације. У ПАБ се аспирин дуго посматра као основа секундарне превенције атеротромбозних догађаја, посебно код симптоматских пацијената и након интервенција. Међутим, с обзиром на савремена сазнања о резидулној активности све чешће се превазилази концепт једноставне монотерапије и усмерава се ка комбинацији антитромбоцитних лекова (69,78).

б)Инхибиција P2Y₁₂ (клопидогрел/тикагрелор): P2Y₁₂ инхибитори делују тако што смањују ADP-посредовану активацију тромбоцита и отежавају стабилизацију агрегације. У великом рандомизованом клиничком испитивању код пацијената са симптоматском ПАБ (EUCLID), тикагрелор није показао значајну супериорност у односу на клопидогрел у смањењу кардиоваскуларних догађаја. Али су са друге стране стопе великих крварења биле сличне. Овај налаз има непосредан практични значај приликом избора антитромбоцитне терапије, нарочито када знамо да се ради о старијој популацији пацијената. (86) Управо због изражене варијабилности одговора на P2Y₁₂ инхибиторе, која може бити условљена фармакогенетиком, интеракцијама лекова и присуством коморбидитета, у ПАБ се разматра и улога тестирања тромбоцитне реактивности. Такав приступ би могао бити јако користан код пацијената који су високоризични. Наиме, код њих као начин процене резидуалне активације тромбоцита, може да се ради тест агрегације тромбоцита, али и даље не постоји консензус да овакво тестирање треба рутински да се уведе (67,82).

в) „Dual pathway inhibition“ (ДПИ): Примена антитромбоцитне терапије у комбинацији са ниском дозом антикоагуланса све више се разматра као стратегија за постизање повољнијих исхода по екстремитет. Код ПАБ, нарочито након реваскуларизације, клинички релевантна стратегија не подразумева искључиво јако антитромбоцитно деловање, већ и комбиновање деовања на различите механизме развоја тромбозе. VOYAGER PAD студија показала је да додавање ривароксабана у дози од 2,5 mg два пута дневно уз аспирин смањује ризик од кардиоваскуларних компликација и неповољних

исхода по екстремитет у поређењу са применом само аспирина. Ово се посебно односило на смањење ризика од акутне исхемије екстремитета и велике ампутације васкуларне етиологије(69). У анализама студије VOYAGER PAD, корист ривароксабана била је присутна независно од примене клопидогрела, док су подаци истовремено указивали на извесне нијансе у ризику од крварења у зависности од трајања терапије клопидогрелом. То је од практичног значаја, јер указује на потребу индивидуалног приступа приликом одлуке о трајању комбиноване терапије након интервенција (78).

Тромбоцити, интеракцијом са леукоцитима и ослобађањем различитих медијатора, могу појачавати локалну инфламацију у плаку, убрзавати ремоделовање и доприносити нестабилности лезије. Истовремено, у периферним артеријама ови процеси утичу и на микроваскуларну средину, која је од посебног значаја за зарастање улкуса код пацијената са критичном исхемијом. Због овога, савремена антитромботска терапија у ПАБ све више тежи не само смањењу нежељених кардиоваскуларних догађаја, већ и превенцији неповољних исхода по екстремитет, који су клинички подједнако важни (66).

Због свега наведеног, даље испитивање тромбоцитне функције код пацијената са ПАД има велики значај, јер може допринети бољем разумевању резидуалног тромботског ризика, прецизнијој процени индивидуалне реактивности тромбоцита и оптимизацији терапијских стратегија усмерених не само на кардиоваскуларне, већ и на исходе на екстремитетима.

1.5 Хипербарична оксигенотерапија

Хипербарична оксигенотерапија (ХБОТ) представља терапијску методу у којој пацијент удише практично 100% кисеоник у условима повишеног амбијенталног притиска, најчешће између 2,0 и 2,5 атмосфере апсолутне (АТА). У оваквим условима долази до јако великог повећања парцијалног притиска кисеоника у алвеолама. Као последица тога, долази и до значајног повећања количине кисеоника раствореног у плазми, које су независне од хемоглобина. Овај механизам омогућава да се кисеоник транспортује и дифундује до ткива чак и у условима нарушене макро- и микроваскуларне перфузије. То има велики значај код хронично исхемичних, инфицираних и хипоксичних ткива. Са клиничког становишта, ХБОТ не можемо да посматрамо као самосталну терапију која замењује стандардне методе лечења. Она се посматра као адјувантна терапија која делује синергистички са хируршким, ендоваскуларним, антибиотским и локалним мерама. Управо овај адјувантни карактер представља суштину савременог приступа ХБОТ и разлог зашто се њена примена разматра у строго дефинисаним клиничким оквирима (87).

1.5.1 Историјски развој ХБОТ: од експеримената до на доказима засноване медицине

Почеци хипербаричне медицине датирају још из 17. века, када су се први експерименти са компримованим ваздухом спроводили у покушају лечења различитих болести. Међутим, тек са развојем гасних закона (Бојл–Мариотов, Хенријев закон) и разумевањем физиологије дисања у 19. и 20. веку, створена је научна основа за рационалну примену повишеног притиска и кисеоника у медицини. Савремена ХБОТ почиње да добија јасније место средином 20. века, нарочито у лечењу декомпресивне болести и тровања угљен-моноксидом (88). У наредним деценијама развој специјализованих хипербаричних комора, безбедносних протокола и клиничких смерница омогућио је да се хипербарична медицина постепено издвоји као посебна област. Важну улогу у том процесу имао је *Undersea and Hyperbaric Medical Society (UHMS)*, пре свега у дефинисању индикација, едукацији лекара и увођењу приступа медицине засноване на доказима. Истовремено, такав развој је допринео јаснијем разликовању медицински оправдане примене ХБОТ од неконтролисане или претежно комерцијалне употребе кисеоника без довољно јасног клиничког оправдања (89–91). Иако је повећана испорука кисеоника основни ефекат ХБОТ, савремена истраживања показују да је биолошко дејство ове терапије знатно сложеније. Данас се ХБОТ посматра као метода која покреће читав низ молекуларних и ћелијских одговора, укључујући модулацију инфламације, ангиогенезе, оксидативног стреса и регенерације ткива (68).

1.5.2 Молекуларни и ћелијски механизми дејства

Када се тумачи ефекат ХБО терапије, централно место заузима хипероксично хипоксични парадокс. Овај концепт, објашњава како повремена изложеност хипероксији, може да активира сигналне путеве који су карактеристични за хипоксију. Овај парадоксални ефекат омогућава активацију фактора повезаних са ангиогенезом, ћелијским преживљавањем и регенерацијом. Ово има велики значај у хроничним ранама и ткиву које је исхемично. На самом месту ране, тј улкусне промене, ХБОТ побољшава функцију неутрофила и макрофага, повећава бактерицидни потенцијал кисеоник-зависних механизма и модификује инфламаторни одговор. Ово заједно доприноси да се контролише инфекција и да се покуша да се хронична рана “преведе” у фазу регенерације. Такође, повећан притисак кисеоника омогућава синтезу колагена и екстрацелуларног матрикса, што представља предуслов за растање ране (68,92,93).

Радови указују и да ХБОТ може да стимулише васкуларно ремоделовање и ангиогенезу. Овај ефекат се постиже преко NO-зависних путева при чему долази до мобилизације ендотелних прогениторских ћелија и активације фактора раста. Овим се објашњава потенцијална дугорочнија корист у одређеним случајевима (94,95). Историјски гледано, ставови о ХБОТ су варирали од ентузијастичног прихватања до изразитог скептицизма. У савременом добу, преовлађује уравнотежен приступ који препознаје јасне користи у одређеним индикацијама, али истовремено наглашава ограничења доказа у другим областима. Управо због тога се ХБОТ у већини клиничких препорука позиционира као селективна, адјувантна терапија (96,97).

Када говоримо о хроничним ранама и дијабетесним улкусима, литература је изузетно хетерогена. Неке мета-анализе указују на побољшање зарастања и потенцијално смањење великих ампутација, друге истичу да је квалитет доказа умерен или низак, те да су резултати снажно зависни од селекције пацијената, присуства исхемије и адекватности стандардне неге. Ово је довело до савременог консензуса да ХБОТ не може заменити хируршко лечење критичне исхемије, већ има потенцијалну улогу тек након реваскуларизације (98–100).

Са становишта безбедности, ХБОТ се у савременој литератури сматра релативно безбедном процедуром када се примењује у складу са стандардима. Најчешће нежељене реакције су углавном благе и реверзibilне, док су озбиљне компликације ретке и најчешће су повезане са непоштовањем протокола или лошим одабиром пацијената. Управо зато савремени радови наглашавају значај искуства установе која спроводи ХБО терапију, мултидисциплинарне процене и пажљивог избора индикације (101–103).

1.5.3 Хипербарична оксигенотерапија и оксидациони стрес

Хипербарична оксигенотерапија (ХБО) заузима специфично место међу терапијским модалитетима периферне артеријске оклузивне болести баш зато што пацијента намерно уводи у стање хипероксије. Као последица тога, може доћи до транзитрног, привременог повећања продукције реактивних кисеоничних врста (ROS). Међутим, савремени подаци на људима наглашавају да овај „контролисани“ оксидативни стимулус може представљати део механизма деловања ХБО. Како се наводи, он може допринети модулацији инфламаторног одговора и подстицању процеса повезаних са зарастањем и ангиогенезом (68). Студије које су обухватале пацијенте са хроничним дијабетесним ранама показале су да је примена ХБО праћена смањењем појединих маркера оксидативног стреса и инфламације, као и променама у факторима раста. Ови налази се најчешће тумаче као померање од перзистентне хроничне инфламације ка повољнијем биолошком окружењу за зарастање, иако њихов значај зависи од протокола лечења, стадијума болести и присуства коморбидитета (68,104).

Имајући то у виду, ХБО не треба посматрати ни као „чист антиоксиданс“, нити као „чист прооксиданс“. Њено дејство се остварује кроз механизме *redox*-модулације. Зато је однос ХБО према оксидативном стресу најбоље разумети као динамичан и зависан од клиничког контекста (57,68,104). Управо из тог разлога, оправдано је посебно анализирати и даље испитивати примену ХБО код критичне исхемије екстремитета и улкусних промена.

1.5.4 Хипербарична оксигенотерапија у лечењу периферне артеријске болести и улкусних промена код ПАБ и дијабетеса

У савременој клиничкој пракси, хипербарична оксигенотерапија се у лечењу периферне артеријске болести и хроничне критичне исхемије посматра као допунска терапијска мера, усмерена пре свега на побољшање локалних услова за заостајање ране. ХБОТ не треба схватити као методу која делује на примарни узрок болести, односно на артеријску оклузију или стенозу. Њена примена се клинички оправдава чињеницом да код појединих пацијената, нарочито код оболелих од дијабетеса, поремећај циркулације није ограничен само на проток крви кроз велике артерије. Код ових болесника истовремено могу бити присутни макроваскуларна исхемија, поремећај микроваскуларне циркулације и дуготрајна хипоксија ткива, због чега рана остаје у хроничној, незарастајућој фази. Зато улкус понекад не напредује ка заостају ни након примене уобичајених мера лечења и адекватне локалне неге ране (98,105–107). У том смислу, ХБОТ се у литератури често описује као терапија која може мења хроничну рану из стања биолошке стагнације ка активнијој фази заостајања, али само у оквиру добро дефинисаног терапијског оквира. Посебно се наглашава да се примена ХБОТ разматра тек након што су спроведене основне мере лечења које подразумевају оптималну локалну негу ране. Такође, треба лечити инфекцију уколико је има, регулисати гликемију и метаболичке дисбалансе а пре свега проценити перфузију и урадити евентуалану реваскуларизацију уколико за то има услова (108,109).

Рандомизоване клиничке студије које су испитивале улогу ХБОТ код пацијената са исхемијским дијабетесним улкусима представљају кључни, али и најконтроверзнији сегмент доказа. *DAMO2CLES* мултицентрична рандомизована клиничка студија, као јако важна у овој области, није показала статистички значајну корист ХБОТ у погледу примарних клиничких исхода. Међутим, детаљна анализа резултата указује да је значајан број пацијената имао потешкоће у комплетирању планираног броја ХБО сесија, што указује на важну практичну димензију примене терапије. Ту је дошла до изражаја њена захтевност и ограничена применљивост у свакодневним условима (110). Овај налаз је од посебног значаја јер су пацијенти са ПАБ и дијабетесом често старији, ограничено покретни са бројним коморбидитетима, што може утицати на адхеренцу и тиме на ефективност терапије у пракси, независно од њеног теоријског биолошког потенцијала (110).

Мање клиничке студије и серије случајева, иако методолошки слабије, указују да код пажљиво одабраних пацијената, посебно оних са стабилним, али хронично исхемичним улкусима, може доћи до клинички релевантног убрзања смањења ране и побољшања локалних параметара зарастања. Ови резултати подржавају хипотезу да корист од ХБОТ вероватно није универзална, већ ограничена на одређену популацију пацијената (111). Мета-аналитички подаци додатно објашњавају комплексност ове теме. Систематски преглед који се експлицитно фокусирао на дијабетесне улкусе са доказаном артеријском инсуфицијенцијом указује да ХБОТ може бити повезана са смањењем ризика великих ампутација, што је клинички изузетно значајно. Такође, ефекат на комплетно зарастање улкуса остаје неконзистентан, што упућује на то да ХБОТ можда више утиче на „крајње“ исходе (ампутације), него на саму брзину епителизације (98). Новије мета-анализе, укључујући и оне засноване на рандомизованим студијама, указују на потенцијалну корист ХБОТ у погледу зарастања и смањења ризика од великих ампутација. Ипак, поједини радови истовремено указују и на већу учесталост нежељених кардиоваскуларних догађаја, због чега однос користи и ризика мора бити пажљиво процењен, нарочито код пацијената са дијабетесом и ПАБ (98,112). Посебан клинички ентитет представљају пацијенти са критичном исхемијом код којих није могуће спровести реваскуларизацију. Код ових пацијената, литература је ограничена углавном на ретроспективне и опсервационе анализе, које указују на потенцијалну повезаност између примене ХБОТ и бољих исхода у погледу очувања екстремитета. Међутим, због могућег утицаја селекционих и конфузионих фактора, ови резултати се не могу тумачити као доказ узрочно-последичне везе (113).

Свесна ових ограничења, савремена клиничка истраживања све чешће испитују ХБОТ у уже дефинисаним клиничким ситуацијама. Један од таквих примера је примена после успешно урађене ендоваскуларне реваскуларизације, када се процењује да ли додатна оксигенација може да убрза зарастање ране (114). Аргументи у прилог примени ХБОТ у лечењу улкуса повезаних са ПАБ и дијабетесом пре свега се заснивају на њеном могућем утицају на убрзање регенеративних процеса, на потенцијалном смањењу ризика од великих ампутација код појединих подгрупа болесника, као и на њеној улози у мултимодалном и мултидисциплинарном приступу лечењу. Ови аргументи су најубедљивији онда када се ХБОТ примењује селективно уз стандардне мере лечења (98). С друге стране, постоје и важни разлози за опрез. Резултати неких великих студија нису увек доследни. Поред тога, ХБОТ носи значајне логистичке и финансијске захтеве. Центри са хипербаричном комором нису свуда доступни, а постоји и ризик од нежељених ефеката. Посебно је важно нагласити да се ХБОТ не сме посматрати као замена за реваскуларизацију или за адекватну локалну негу ране, јер је то у супротности са савременим препорукама (110,115). Додатну дилему у примени ХБОТ представља то што се индикације и услови надокнаде трошкова разликују међу здравственим системима. У појединим земљама ХБОТ се признаје као допунска терапија код одабраних дијабетесних улкуса са доказаном исхемијом. У другим земљама њена примена је ограничена на мањи број индикација. Понекад се одобрава тек када су исцрпљене друге могућности лечења. Ове разлике вероватно су последица различитог тумачења доступних клиничких доказа, али и различите процене односа користи и трошкова у пракси (108).

Због свега тога, различита покривеност ХБОТ од стране фондова здравственог осигурања додатно отежава питање када је прави тренутак за њену примену. Није сасвим јасно да ли је треба уводити раније, као покушај да се спречи прогресија улкуса, или касније, као последњу адјувантну меру код рана које упорно не зарастају. Управо је то једна од честих дилема у савременим расправама и један од разлога због којих примена ХБОТ у ПАБ и дијабетесним улкусима и даље остаје тема клиничке и здравствено-политичке дебате (98,116).

У целини, доступни докази указују на то да хипербарична оксигенотерапија (ХБОТ) може имати место у лечењу улкусних промена код пацијената са периферном артеријском болешћу и дијабетесом. Ипак, њена примена има смисла пре свега код пажљиво одабраних болесника и као део ширег, мултимодалног терапијског приступа. Клинички исходи у досадашњим студијама нису уједначени, а тумачење доказа се разликује. Поред тога, индикације за примену и могућност рефундирања значајно варирају између здравствених система. Због тога је неопходан индивидуалан приступ у доношењу клиничких одлука, као и више квалитетних истраживања која би јасније одредила место ХБОТ у овој области.

Хронични улкуси доњих екстремитета узроковани периферном артеријском болешћу, посебно код пацијената са дијабетесом и хроничном критичном исхемијом, представљају озбиљан клинички и јавно-здравствени проблем. Ове лезије су повезане са високим ризиком од инфекције, дугим лечењем, честим хоспитализацијама и реваскуларизационим процедурама, као и са значајним ризиком од велике ампутације.

Последице ових улкуса су тешке и за пацијента и за здравствени систем, а квалитет живота је често озбиљно нарушен. Основ лечења и даље чине правовремена и адекватна реваскуларизација, контрола фактора ризика и добра локална нега ране. Међутим, део улкуса не реагује задовољавајуће ни на оптимално лечење, што је довело до већег интересовања за адјувантне методе, укључујући ХБОТ. Упркос дугогодишњој примени у пракси, ставови о њеној ефикасности и индикацијама и даље нису усаглашени. Разлике постоје и између клиничких студија и између стручних препорука, али и у оквиру различитих система здравственог осигурања. То указује на сложену природу болести, у којој истовремено делују макроваскуларна и микроваскуларна исхемија, инфламација, оксидациони стрес и тромбоинфламаторни механизми. Зато је важно прецизније препознати клиничке и лабораторијске параметре који би могли помоћи у бољој селекцији пацијената и рационалнијој примени ХБОТ у овој високо ризичној популацији.

2 Циљеви и хипотезе

2.1 Главни циљ истраживања

Испитати ефекте хипербаричне оксигенотерапије (ХБО) на зарастање улкусне промене, параметре оксидационог стреса, лабораторијске параметре, инфламаторни одговор, агрегацију тромбоцита и интензитет бола код пацијената са периферном артеријском оклузивном болешћу и улкусом, као и анализирати разлике у наведеним параметрима између испитиваних група.

2.2 Специфични циљеви истраживања

1. Утврдити утицај ХБО терапије на зарастање улкусне промене, односно на смањење величине улкуса код пацијената са периферном артеријском оклузивном болешћу.
2. Испитати утицај ХБО терапије на параметре оксидационог стреса код испитиваних пацијената.
3. Анализирати утицај ХБО терапије на агрегацију тромбоцита.
4. Проценити утицај ХБО терапије на инфламаторни одговор организма, односно на вредности проинфламацијских маркера.
5. Проценити ефекат ХБО терапије на смањење бола код испитиваних пацијената.

2.3 Полазне хипотезе:

1. ХБО терапија позитивно утиче на зарастање односно величину улкуса
2. ХБО терапија код ових пацијената неће бити повезана са повећањем маркера оксидационог стреса
3. ХБО терапија утиче на агрегацију тромбоцита
4. ХБО терапија неће бити повезана са повећањем проинфламацијских маркера
5. ХБО терапија утиче на смањење болова код ових пацијената

3 Методологија истраживања

3.1 Врста студије

Истраживање је дизајнирано као проспективна, опсервациона клиничка студија са контролном групом, која у фокусу има праћење ефеката хипербаричне оксигенотерапије (ХБОТ) на клиничке и лабораторијске параметре код пацијената са улкусом узрокованим периферном артеријском васкуларном болешћу.

3.2 Испитивана популација

Студијом су били обухваћени испитаници са хроничном улкусном променом на екстремитету, и то улкусом који је настао као последица периферне артеријске болести, било да су пацијенти оболели од дијабетес мелитуса или не. Под хроничним улкусом, подразумева се рана која не зараста 6 недеља (117)

Праћени су и анализирани пацијенти лечени хипербаричном оксигенотерапијом (ХБОТ) у Центру за хипербаричну медицину Факултета Медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу у периоду од септембра 2024. године до јуна 2025. године.

Студија се придржавала свих правила етичности и начела добре клиничке праксе у складу са Хелсиншком декларацијом. Студија је одобрена од стране Етичког одбора Факултета медицинских наука 01-1743/2 од 06.03.2024. године.

Испитаници

Сваки испитаник је био прегледан од стране истраживача ради утврђивања укључујућих и искључујућих критеријума. Испитаници који испуњавају задате критеријуме су сукцесивно укључивани у студију, до броја који је прорачунат за укупну величину узорка.

Критеријуми за укључивање:

- 1) Потписан формулар информисаног пристанка за учешће у студији
- 2) Улкус доњих екстремитета који траје дуже од шест недеља
- 3) Присутна периферна артеријска оклузивна болест (АСПИ <0.9 и/или >1.4 у миру)(118). Код пацијената са АСПИ преко 1.4, утврђено је постојање монофазног протока на тибијалним артеријама.

- 4) Пацијенти са дијабетесним стопалом стадијуми 1 до 4 по Wagner Meggit- овој класификацији(119)

Критеријуми за искључивање:

- 1) испитаници млађи од 18 година и труднице,
- 2) испитаници од којих се због когнитивних сметњи не могу добити поуздани подаци
- 3) испитаници код којих је постављена дијагноза хроничног улкуса друге етиологије (венски улкус, декубит, неуроисхемијско дијабетесно стопало итд.)
- 4) испитаници са ХОБП - GOLD класа 4
- 5) испитаници који су примали хемиотерапију, имуносупресивну терапију и системску кортикостероидну терапију последња три месеца
- 6) испитаници са метастатском малигном болешћу
- 7) испитаници са ејекционом фракцијом испод 30%
- 8) испитаници са скорашњом груднохируршком интервенцијом или операцијом средњег уха
- 9) нерегулисана епилепсија

Групе испитаника

Пацијенти су били сврстани у две групе:

1. Пацијенти којима је постављена дијагноза хроничног улкуса на доњим екстремитетима узрокованим периферном артеријском оклузивном болешћу (n=60)
2. Контролна група која је била уједначена са експерименталном групом по свим, за истраживану појаву, релевантним варијаблама, осим излагања ХБОТ (n=30)

3.3 Студијске варијабле које су одређиване

Првог дана, након доласка пацијента на примену ХБОТ, након укључивања у студију, обављено је анкетирање испитаника, комплетан клинички преглед као и узимање узорака крви за одређивање студијских варијабли. Анкетирањем су добијени следећи подаци о испитанику: године живота, пол, фактори ризика (хипертензија, хиперлипидемија, дијабетес, пушење, наслеђе, претходне ампутације, висина, тежина, БМИ), придружене васкуларне болести (претходни мождани удар, претходни инфаркт миокарда), употреба лекова, са посебним освртом на коришћење антиагрегационе терапије. Узимани су подаци да ли пацијети пију ацетилсалицилну киселину, клопидогрел или оба. Пацијенти који су користили другу антиагрегациону терапију, нису укључивани.

Свим пацијентма је урађен АСПИ за процену дијагнозе (MESI ABPI MD). Након тога је узимана крв за следеће анализе, ККС са леукоцитарном формулом, уреа, креатинин, калијум натријум, калцијум, процењивана је јачина гломерулске филтрације, ПЦТ, ЛДЛ, ХДЛ, триглицериди, ацидум урикум, билирубин укупни и директни, АСТ, АЛТ, гликолизирани хемоглобин, крв за агрегацију тромбоцита, параметри оксидационог стреса (супероксид анјон радикал, азот-моноксид, TBARS, H₂O₂, CAT, GSH, SOD), ЦРП. Као збуњујућа варијабла, користила се инфекција која се потврђивала брисом ране. Пацијенти

су попуњавали скалу бола (ВАС). Мерење величине улкуса је вршено помоћу комерисијално доступног софтверског програма ImmitoMeasure (120).

3.3.1 Протокол хипербаричне оксигенотерапије

По узимању узорака за одређивање поменутих варијабли од интереса, пацијенти су изложени ХБОТ по протоколу, од 2.0 до 2.5 бара током 20 циклуса у трајању од 60 минута и то 5 дана недељно (BaroxSolo; Yaklaşım Makine / BaroxHBO, Istanbul, Turkey) (121). Слика бр 1.



Слика 1. Једномесна хипербарична комора у Центру за хипербаричну медицину, Факултет медицинских наука, Универзитет у Крагујевцу

3.3.2 Процена агрегације тромбоцита

Агрегација тромбоцита је процењивана применом импедансне агрегометрије на уређају Multiplate® (Roche Diagnostics), који омогућава анализу тромбоцитне функције у узорку целе крви. Тестирање је изведено у складу са фабричким протоколом и важећим

препорукама произвођача у Служби за трансфузију, Универзитетског Клиничког центра Крагујевац. Венска крв је узета стандардном венепункцијом у епрувете са хепарином као антикоагулансом ($25\mu\text{g/mL}$). Епрувете су лагано инвертоване неколико пута ради равномерног мешања крви и антикоагуланса, након чега је узорак одстојао на собној температури пре анализе, без излагања вибрацијама и хлађењу. Multiplate тест се заснива на мерењу промене електричне импедансе између две сребрне електроде. Током активације тромбоцита, долази до њихове адхезије на површину електрода, што доводи до прогресивног пораста импедансе. Уређај региструје промене у реалном времену и приказује криву агрегације. У кивете је стављано $300\mu\text{L}$ физиолошког раствора ($0,9\% \text{ NaCl}$) и $300\mu\text{L}$ узорка целе крви. Након тога је узорак инкубиран на 37 степени целзијуса а након стабилизације базалне импедансе додавао се одговарајући агониста тромбоцита, зависно од теста који се изводио и то: ASPI тест – арахидонска киселина, ADP тест – аденозин дифосфат и TRAP тест – тромбин рецептор активирајући пептид. По додавању агонисте, уређај је пратио пораст импедансе чиме је формирана крива агрегације. Главни резултат теста изражен је као AUC (Area Under the Curve, U) – интеграл пораста импедансе током времена, AUC је коришћен као примарни параметар за процену тромбоцитне реактивности, а вредности су упоређиване са референтним опсезима дефинисаним од стране произвођача. Узорак је анализиран у року од највише 45 минута од узимања крви (122,123).

3.3.3 Мерење величине улкуса

Рана је мерена непосредно пре започињања и по завршетку ХБО терапије употребом апликације *imitoMeasure*. Након уклањања завоја и стандардне обраде ране, поред ране је постављен калибрациони маркер, а рана је фотографисана мобилним уређајем на коме је инсталирана апликација. На добијеној фотографији означена је контура ране а након тога је апликација аутоматски израчунала дужину, ширину, обим и површину ране. Сва мерења су извођена у стандардизованим условима, при истом положају пацијента, сличном осветљењу и из приближно истог угла снимања. Као примарни параметар праћена је површина ране, а ефекат ХБО терапије процењиван је поређењем вредности пре и после терапије, уз израчунавање промене површине ране. Слика бр 2. *imitoMeasure* је намењен оваквом типу дигиталног мерења рана уз калибрациони маркер и аутоматски обрачун мерних параметара (120).

MeasurementOverall Area 0.5 cm²**Measurement****A1**

Area	0.5 cm ²
Circumference	2.6 cm
Length	0.9 cm
Width	0.8 cm
Depth	N/A

Status

Wound Types	Arterial Leg Ulcer
Exudate Amount	Light
Exudate Type	Serous

Signs of Infection	Swelling (edema)
Wound is Infected	Not Specified
Tissue Types	Epithelialisation

Слика бр 2. Примена софтвера за аутоматско мерење површине улкусне промене

3.3.4 Мерење параметара оксидационог стреса

Одређивање индекса липидне пероксидације (TBARS) одређен је индиректно, преко продуката реакције липидне пероксидације са тиобарбитурном киселином (Thiobarbituric Acid Reactive Substances). Принцип ове методе заснива се на процени нивоа липидних пероксида путем реакције једног од њихових продуката, малонилдиалдехида (MDA), са тиобарбитурном киселином (TBA) (124).

Одређивање концентрације азот-моноксида (NO) извршено је на основу количине ослобођених нитрита. Принцип методе заснива се на употреби Griess-овог реагенса, који са нитритима формира диазо-комплекс љубичасте боје. Мерење се врши на таласној дужини $\lambda = 550 \text{ nm}$ (125).

Принцип одређивања концентрације супероксидног анјона ($\text{O}_2^{\bullet-}$) у узорцима крвне плазме заснива се на реакцији супероксидног анјона са нитро тетразолијум плавим (Nitro Blue Tetrazolium, NBT), при чему настаје нитроформазан плави. Мерење се врши на таласној дужини $\lambda = 550 \text{ nm}$ (126).

Метод одређивања концентрације водоник-пероксида (H_2O_2) заснива се на оксидацији фенол-црвеног помоћу водоник-пероксида, у реакцији коју катализује ензим пероксидаза из коњске ротквице (Horse Radish Peroxidase, HRPO). Крајњи производ ове реакције је једињење које има максимум апсорпције при $\lambda_{\text{max}} = 610 \text{ nm}$. Мерење се врши на таласној дужини $\lambda = 530 \text{ nm}$ (127).

За одређивање активности SOD коришћена је адреналинска метода. Принцип ове методе, која припада групи метода „негативног“ типа, заснива се на праћењу смањења брзине аутооксидације адреналина у алкалној средини, која зависи од присуства $\text{O}_2^{\bullet-}$. Пошто се $\text{O}_2^{\bullet-}$ уклања деловањем присутне SOD, долази до инхибиције реакције аутооксидације адреналина. Систем прати брзину промене аутооксидације адреналина преко промене апсорбанце на 480 nm , која је обрнуто пропорционална активности SOD (128).

За одређивање активности каталазе примењена је метода по Beutler-у. Принцип ове методе заснива се на спектрофотометријском праћењу брзине разградње водоник-пероксида у присуству каталазе, на таласној дужини од 230 nm , при којој водоник-пероксид апсорбује светлост (129).

За одређивање активности редукованог глутатиона (GSH) коришћена је спектрофотометријска метода по Beutler-у. Принцип ове методе заснива се на оксидацији глутатиона (GSH) помоћу 5,5-дитио-бис-2-нитробензојеве киселине (DTNB) (130).

3.3.5 Процена јачине бола

Интензитет бола код испитаника процењиван је применом визуелно-аналогне скале (VAS), као једноставног инструмента за процену субјективног доживљаја бола. Скала је била приказана у виду хоризонталне линије дужине 10 cm. Њен леви крај означавао је одсуство бола, односно „без бола“, док је десни крај представљао „најјачи замислив бол“.

Сваки испитаник је на овој линији обележавао место које је најбоље одражавало јачину бола коју је у том тренутку осећао. Након тога је измерено растојање од почетка скале до означеног места, изражено у милиметрима. На основу те вредности добијан је VAS скор. Већи број милиметара указивао је на израженији бол, док су ниже вредности означавале слабији интензитет бола (131,132).

3.3.6 Процена инфламације

Инфламаторни статус испитаника процењиван је одређивањем вредности С-реактивног протеина (CRP) и израчунавањем односа броја тромбоцита и лимфоцита (PLR). За анализу су коришћени узорци периферне венске крви. Концентрација CRP одређивана је као лабораторијски показатељ системске инфламације и изражавана у mg/L, док је PLR израчунаван из налаза комплетне крвне слике као однос апсолутног броја тромбоцита и апсолутног броја лимфоцита. Оба параметра су коришћена као једноставни и доступни маркери инфламаторног одговора код пацијената са периферном артеријском болешћу и хронично угрожавајућом исхемијом екстремитета (133,134).

3.4 Снага студије и величина узорка

Коришћењем података недавно објављене студије у којој је испитиван утицај ХБОТ на параметре оксидационог стреса код болесника са дијабетесом и ПАБ, извршен је прорачун величине узорка. За прорачун величине узорка коришћен је компјутерски програм G*Power 3.0 и статистички тест за примарну варијаблу, Т-тест за два независна узорка, уз $\alpha=0,05$, $\beta=0,2$ (снага студије 80%) и расподеле испитаника 2:1. На тај начин је добијено да је потребно најмање 60 испитаника за групу која се излаже ХБОТ и 30 испитаника за контролну групу (104,135).

3.5 Статистичка обрада података

Статистичка обрада података урађена је у програму IBM SPSS Statistics v.23.

Подаци су прво приказани дескриптивно и то коришћењем табела и графикана. Нумерички подаци су приказани коришћењем најмање и највеће вредности, као и

просечне вредности и стандардног одступања, а графички коришћењем хистограма. Категоријски подаци су приказани коришћењем апсолутне и релативне учесталости, а графички коришћењем кружног и стубичастог графика.

Анализа нормалности расподеле података урађена је применом Колмогоров-Смирнов, односно Шапиру-Вилк теста нормалности у зависности од броја случајева у узорку. У односу на резултате ове анализе одабрани су одговарајући тестови значајности.

За анализу вредности анализираних параметара у односу на примену терапије примењен је Студентов т тест за везане узорке уколико подаци прате нормалну расподелу, односно Вилкоксонов тест у супротном. За графички приказ статистички значајних резултата коришћени су стубичасти графикони, односно кутијасти (правоугаони) графикони.

За анализу вредности анализираних параметара у односу на групу пацијената односно у односу на контролну групу примењен је Студентов т тест за независне узорке уколико подаци прате нормалну расподелу, односно Ман-Витнијев У тест у супротном. За графички приказ коришћени су стубичасти графикони, односно кутијасти (правоугаони) графикони.

За анализу ефекта хипербаричне оксигенотерапије на параметре тромбоцитне агрегације током времена примењен је модел генерализованих процењивачких једначина. Модел је коришћен због погодности за анализу поновљених мерења и корелираних података, уз укључивање групе, времена и њихове интеракције као главних ефеката. Као коваријате у анализу су укључени антиагрегациона терапија, дијабетес, пушење и ЦРП, чиме је омогућена контрола потенцијалних утицајних фактора.

Резултати су сматрани статистички значајним уколико је p вредност била мања од 0,05.

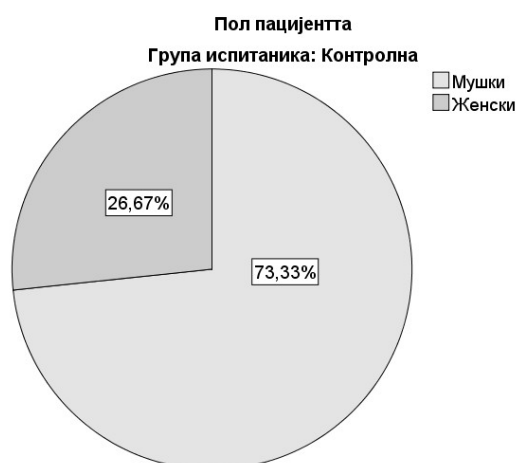
4 Резултати истраживања

4.1 Описивање узорка

Узорак је обухватио 90 испитаника, од којих је 60 било у експерименталној групи, а 30 у контролној групи. У експерименталној групи било је 41 мушкарац (68,3%) и 19 жена (31,7%), док су у контролној групи била 22 мушкарца (73,3%) и 8 жена (26,7%).

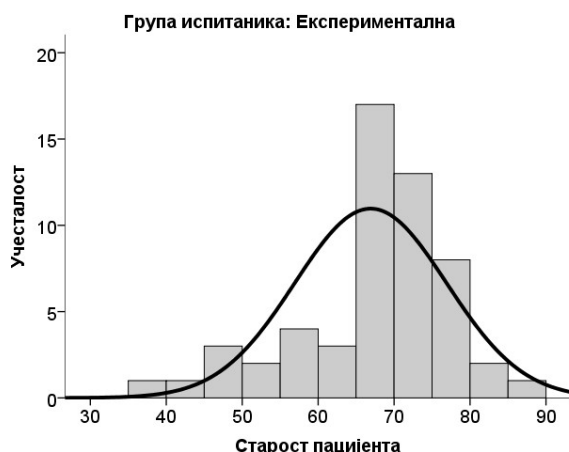


Графикон 1. Расподела испитаника према полу у експерименталној групи

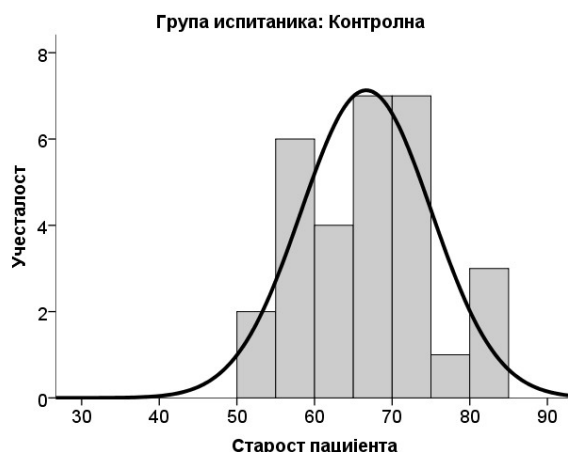


Графикон 2. Расподела испитаника према полу у контролној групи

Испитаници у експерименталној групи били су старости од 37 до 85 година, са просечном старошћу од $66,82 \pm 9,42$ година. У контролној групи старост испитаника кретала се од 52 до 83 године, са просечном старошћу од $63,00 \pm 8,31$ година.



Графикон 3. Расподела старости испитаника у експерименталној групи



Графикон 4. Расподела старости испитаника у контролној групи

4.2 Дескриптивна статистичка анализа

Дескриптивна статистичка анализа спроведена је одвојено за испитанике укључене у експерименталну групу и за испитанике контролне групе. У циљу адекватног приказа података, за континуиране променљиве коришћени су показатељи централне тенденције и варијабилности, укључујући минималну и максималну вредност, аритметичку средину и стандардну девијацију. За категоријске променљиве примењени су показатељи апсолутне и релативне учесталости, чиме је омогућено свеобухватно сагледавање структуре посматраних података.

У циљу свеобухватне карактеризације испитиване популације, спроведена је дескриптивна статистичка анализа основних антропометријских, клиничких и функционалних параметара. Обухваћени су телесна висина, телесна тежина и индекс телесне масе као основни показатељи нутритивног статуса, као и дужина трајања ране и трајање дијабетес мелитуса као клинички релевантни параметри хроничног оптерећења болешћу. Поред тога, анализирани су и параметри артеријске крутости, процењени кроз CF (carotid-femoral) и BA (brachial-ankle) pulse wave velocity, као индиректни показатељи васкуларне функције. Резултати су приказани применом дескриптивних статистичких мера, ради јасног увида у расподелу испитиваних варијабли у посматраној популацији у Табели 1.

Табела 1. Дескриптивни приказ антропометријских, клиничких и параметара артеријске крутости испитаника

	Експериментална група		Контролна група	
	Мин-Макс	Просек±СД	Мин-Макс	Просек±СД

Телесна висина	158-198	174,29±8,57	162-190	175,73±7,41
Телесна тежина	58-129	86,00±15,93	61-105	82,33±11,02
Индекс телесне масе	20,50-39,81	28,23±4,51	20,20-33,60	26,57±2,93
Дужина трајања ране	2-72	11,15±12,37	2-36	9,00±6,37
Број година дијабетеса	3-38	20,50±9,78	2-30	18,85±7,97
CF pulse wave velocity	4,2-25,6	13,78±5,19	10,2-24,6	16,92±3,39
BA pulse wave velocity	10,4-38,3	20,19±5,62	14,8-29,5	23,15±4,45

Анализирани су присуство дијабетес мелитуса, претходне васкуларне интервенције, индекс телесне масе, ниво стручне спреме, статус пушења, претходне ампутације, присуство хиперлипидемије, кардиоваскуларне болести, као и локација улкуса. Додатно су обухваћени подаци о претходном можданом удару, типу дијабетеса, присуству хроничне опструктивне болести плућа (ХОБП), бубрежној слабости и примењеној терапији. Резултати су приказани у Табели 2 кроз апсолутне и релативне учесталости, што омогућава јасан увид у структуру испитиване популације.

Табела 2. Дескриптивни приказ категоријских клиничких, социодемографских и терапијских карактеристика испитаника

У циљу потпуније карактеризације испитиване популације, спроведена је дескриптивна анализа категоријских варијабли које обухватају демографске, клиничке и терапијске податке.

Променљива	Одговор	Експериментална група		Контролна група	
		Број	Проценат	Број	Проценат
Дијабетес мелитус	Да	33	55,0%	19	63,3%
	Не	27	45,0%	11	36,7%
Претходне васкуларне интервенције	Лечен хирургијом	19	31,7%	9	30,0%
	Ендоваскуларно	21	36,0%	13	43,3%
	Нема услова за реконструкцију	16	26,7%	8	26,7%
	Није индиковано	4	6,7%	-	-
Индекс телесне масе	Нормална тежина	15	25%	9	30%
	Гојазност	45	75%	21	70%
Стручна спрема	ОСС	18	30,0%	9	30%
	ССС	37	61,7%	21	70%
	ВСС	5	8,3%	-	-
Статус пушача	Да	29	48,3%	16	53,3%
	Не	31	51,7%	14	46,7%
Претходне ампутације	Да	26	43,3%	14	46,7%
	Не	34	56,7%	16	53,3%
Хиперлипидемија	Да	32	53,3%	24	80%
	Не	28	46,7%	6	20%
Кардио-васкуларне болести	Не	8	13,3%	5	16,7%
	ХТА	38	63,3%	18	60,0%
	ИМ	10	16,7%	6	20,0%

	ЦМП	4	6,7%	1	3,3%
Локација улкуса	Плантарно	25	41,7%	16	53,3%
	Дорзум стопала	19	31,7%	7	23,3%
	Потколеница	15	25,0%	7	23,3%
	Остало	1	1,7%	-	-
Претходни мождани удар	Да	3	5%	0	0%
	Не	57	95%	30	100%
Дијабетичар	Не	27	45%	11	36,7%
	ОАД	6	10%	2	6,7%
	ОАД инсулин	27	45%	17	56,7%
ХОБП	Да	4	6,7%	1	3,3%
	Не	56	93,3%	29	96,7%
Бубрежна слабост	Да	4	6,7%	3	10%
	Не	56	93,3%	27	90%
Терапија	Не	18	30,0%	9	30,0%
	Аспирин	28	46,7%	10	33,3%
	Плавикс	4	6,7%	-	-
	Аспирин + Плавикс	10	16,7%	11	36,7%

У циљу процене ефеката примењене терапије, анализирани су одабрани клинички исходи на почетку и на крају терапијског протокола. Посматрани параметри обухватили су величину улкуса и интензитет бола, изражен помоћу Визуелне аналогне скале (ВАС). Резултати су приказани кроз дескриптивне статистичке показатеље, укључујући опсег вредности (минимум–максимум), аритметичку средину и стандардну девијацију, што омогућава увид у промене наведених параметара током терапијског периода. Клинички исходи представљени су у Табели 3 за експерименталну групу и у Табели 4 за контролну групу.

Табела 3. Дескриптивни приказ клиничких исхода (величина улкуса и ВАС) на почетку и на крају терапије код испитаника из експерименталне групе

	На почетку терапије		На крају терапије	
	Мин-Макс	Просек±СД	Мин-Макс	Просек±СД
Величина улкуса	1,01-36,58	11,69±9,22	1,01-35,70	11,38±8,99
ВАС	1-6	3,59±1,21	0-4	1,78±0,83

Табела 4. Дескриптивни приказ клиничких исхода (величина улкуса и ВАС) на почетку и на крају терапије код испитаника из контролне групе

	На почетку терапије		На крају терапије	
	Мин-Макс	Просек±СД	Мин-Макс	Просек±СД
Величина улкуса	1,45-36,8	11,31±8,85	1,44-36,7	11,44±8,72
ВАС	1-5	3,07±1,28	1-7	4,03±1,33

У циљу процене хематолошког статуса испитаника, анализирани су ККС са леукоцитарном формулом на почетку и на крају терапијског периода. Посматране су вредности укупног броја леукоцита и њихових подтипова (неутрофили, лимфоцити, моноцити, еозинофили и базофили), као и параметри који се односе на еритроците, укључујући број еритроцита, концентрацију хемоглобина и еритроцитне индексе (MCV, MCH, MCHC и RDW). Додатно је анализиран однос тромбоцита и лимфоцита као потенцијални маркер инфламаторног одговора. Резултати су приказани коришћењем дескриптивних статистичких показатеља (минимум–максимум, аритметичка средина и стандардна девијација), што омогућава увид у промене хематолошких параметара током терапије. Подаци су представљени у Табели 5 за експерименталну групу и у Табели 6 за контролну групу.

Табела 5. Дескриптивни приказ хематолошких параметара на почетку и на крају терапије код испитаника из експерименталне групе

	На почетку терапије		На крају терапије	
	Мин-Макс	Просек±СД	Мин-Макс	Просек±СД
Леукоцити	3,40-12,0	7,79±2,06	3,10-11,30	7,73±1,90
Неутрофили	1,80-9,60	4,98±1,63	1,40-8,60	4,91±1,43
Лимфоцити	0,70-4,17	1,93±0,78	0,90-4,00	1,97±0,70
Моноцити	0,10-1,10	0,61±0,20	0,10-1,10	0,55±0,25
Еозинофили	0,00-0,80	0,22±0,19	0,00-0,60	0,17±0,13
Базофили	0,00-0,10	0,05±0,05	0,00-0,20	0,05±0,06
Еритроцити	3,50-5,85	4,36±0,51	2,50-5,24	4,17±0,74
Хемоглобин	65-168	130,16±20,20	70-158	127,93±19,30
MCV	23,7-104,3	87,62±11,46	61,8-102,1	88,49±7,14
MCH	18,6-36,1	29,77±3,14	18,1-35,7	29,95±3,12
MCHC	289-358	335,60±12,96	288-355	332,04±15,06
RDW	12,1-23,0	15,10±2,16	11,8-19,9	15,26±2,03
Тромбоцити	135-664	269,05±96,84	152-607	267,22±85,09
МПВ	6,6-11,5	9,07±1,10	6,6-12,5	8,90±1,03
ПЦТ	0,12-0,61	0,24±0,08	0,14-0,44	0,24±0,07
ПДВ	9,5-19,9	16,32±1,99	15,9-19,8	16,95±0,60
МДВ	13,8-25,1	19,69±2,74	15,4-35,6	19,77±3,24

Табела 6. Дескриптивни приказ хематолошких параметара на почетку и на крају терапије код испитаника из контролне групе

	На почетку терапије		На крају терапије	
	Мин-Макс	Просек±СД	Мин-Макс	Просек±СД
Леукоцити	1,10-12,00	7,14±2,27	4,10-11,00	7,39±1,91
Неутрофили	2,10-8,00	4,65±1,70	2,00-8,10	4,56±1,70
Лимфоцити	0,85-3,20	1,85±0,62	0,76-3,30	1,85±0,62
Моноцити	0,00-1,50	0,63±0,28	0,10-1,40	0,61±0,27
Еозинофили	0,00-0,87	0,27±0,24	0,00-0,81	0,24±0,21
Базофили	0,00-0,11	0,04±0,04	0,00-0,10	0,04±0,04
Еритроцити	2,92-5,28	4,12±0,62	2,80-5,38	4,02±0,65

Хемоглобин	83-168	123,93±19,06	89-165	124,30±17,42
МЦВ	74,3-99,0	90,17±5,02	75,3-97,6	89,83±4,62
МЦХ	23,6-37,8	30,30±2,49	25,6-35,9	30,15±2,25
МЦХЦ	302-355	334,10±12,87	312-358	334,70±12,68
РДВ	12,1-17,4	14,31±1,35	12,1-17,4	14,31±1,35
Тромбоцити	136-853	286,57±127,99	145-821	284,07±124,89
МПВ	6,1-11,5	9,22±1,38	6,0-11,2	9,16±1,35
ПЦТ	0,13-0,52	0,25±0,08	0,11-0,55	0,25±0,08
ПДВ	8,1-17,4	14,14±2,95	7,9-17,8	14,00±2,95
МДВ	14,7-23,7	17,40±2,18	13,9-22,9	17,11±2,22

У циљу процене функције јетре и метаболичког статуса испитаника, анализирани су биохемијски параметри који обухватају показатеље хепатичне функције, липидни профил и гликорегулацију, на почетку и на крају терапијског периода. Посматрани су нивои укупног и директног билирубина, трансаминаза (AST и ALT), као индикатори оштећења хепатоцита, као и параметри липидног метаболизма, укључујући укупни холестерол, триглицериде, HDL, LDL, non-HDL и ремнант холестерол. Додатно је анализирана и концентрација глукозе као показатељ гликемијског статуса. Резултати су приказани применом дескриптивне статистике (минимум–максимум, аритметичка средина и стандардна девијација), чиме је омогућено поређење вредности између два временска пресека. Подаци су приказани у Табели 7 за експерименталну групу и у Табели 8 за контролну групу.

Табела 7. Дескриптивни приказ параметара функције јетре, липидног профила и гликемије на почетку и на крају терапије код испитаника из експерименталне групе

	На почетку терапије		На крају терапије	
	Мин-Макс	Просек±СД	Мин-Макс	Просек±СД
Укупни билирубин	3,6-43,4	10,15±5,78	4,4-18,3	10,24±3,33
Директни билирубин	0,9-13,2	3,20±1,86	1,2-6,8	3,42±1,29
АСТ	10-83	19,84±9,97	12-30	18,93±5,06
АЛТ	7-110	19,80±14,06	8-47	18,67±8,36
Холестерол	2,95-8,27	5,11±1,19	2,93-7,71	5,12±1,12
Триглицериди	0,31-4,34	1,68±0,93	0,46-4,11	1,59±0,92
ХДЛ	0,68-2,03	1,17±0,30	0,66-2,11	1,22±0,31
ЛДЛ	0,58-5,81	3,20±1,15	0,40-5,12	3,22±1,04
НОНХДЛ	1,88-7,42	3,94±1,17	1,84-6,73	3,89±1,09
Ремнант холестерол	0,00-1,97	0,79±0,43	0,02-6,20	0,94±0,87
Глукоза	2,5-22,5	7,31±3,78	2,6-26,6	7,26±4,18

Уреа	2,4-23,9	6,81±3,16	2,5-12,1	6,94±2,37
Креатинин	41-263	81,73±35,98	40-199	81,42±30,27
Мокраћна киселина	117-719	351,13±101,62	114-628	365,94±100,87
eGFR	20-162	91,45±28,98	31-167	88,85±29,64
Калијум	3,70-13,60	4,73±1,11	3,90-6,20	4,64±0,49
Натријум	102-148	138,39±5,10	132-144	139,87±2,49
Калцијум	2,15-2,79	2,41±0,13	2,18-2,62	2,39±0,09
проБНП	23-5096	567,01±874,91	35-3743	464,78±666,84

Табела 8. Дескриптивни приказ параметара функције јетре, липидног профила и гликемије на почетку и на крају терапије код испитаника из контролне групе

	На почетку терапије		На крају терапије	
	Мин-Макс	Просек±СД	Мин-Макс	Просек±СД
Укупни билирубин	4,1-26,7	10,23±5,44	4,5-25,7	9,98±5,00
Директни билирубин	0,6-4,6	2,03±1,13	0,6-4,6	2,03±1,13
АСТ	11-64	23,03±11,41	12-65	23,53±11,22
АЛТ	8-55	18,73±9,52	9-52	18,60±8,56
Холестерол	2,05-9,68	4,49±1,62	2,05-9,59	4,92±1,60
Триглицериди	0,75-6,38	2,06±1,25	0,72-6,34	2,06±1,26
ХДЛ	0,66-2,07	1,20±0,40	0,63-2,04	1,20±0,40
ЛДЛ	0,57-4,96	2,30±0,90	0,52-4,93	2,30±0,89
НОНХДЛ	1,27-9,01	3,24±1,48	1,31-8,98	3,25±1,47
Ремнант холестерол	0,34-7,50	1,11±1,30	0,32-7,40	1,11±1,27
Глукоза	2,0-14,8	6,92±3,07	2,0-14,9	6,86±3,05
Уреа	3,4-18,6	6,89±3,26	3,2-18,5	6,86±3,27
Креатинин	56-232	95,73±35,73	53-236	96,00±37,28
Мокраћна киселина	144-524	345±91,69	146-526	347,97±92,26
ЕГФ одрасли	19-139	77,23±25,89	17-142	77,70±25,90
Калијум	3,52-6,01	4,48±0,55	3,50-6,05	4,52±0,56
Натријум	132-148	138,70±3,30	129-151	139,00±5,44
Калцијум	2,15-2,79	2,43±1,17	2,00-2,82	2,44±1,19
проБНП	23-2760	469,60±628,39	24-2761	469,70±628,39

У циљу процене функције тромбоцита и њихове улоге у хемостази, анализирани су параметри који се односе на број тромбоцита и индексе тромбоцитне активности, као и

показатељи агрегабилности. Посматрани су број тромбоцита и пратећи тромбоцитни индекси (MPV, PCT, PDW и MDW), који омогућавају детаљнији увид у морфолошке и функционалне карактеристике тромбоцита. Поред тога, процењена је тромбоцитна агрегабилност применом различитих агониста (АСПИ, АДП и ТРАП), чиме је омогућена свеобухватна анализа тромбоцитне функције. Резултати су приказани кроз дескриптивне статистичке показатеље (минимум–максимум, аритметичка средина и стандардна девијација), што омогућава поређење вредности на почетку и на крају терапијског периода. Подаци су приказани у Табели 9 за експерименталну групу и у Табели 10 за контролну групу

Табела 9. Дескриптивни приказ параметара тромбоцита и индекса тромбоцитне агрегабилности на почетку и на крају терапије код испитаника из експерименталне групе

	На почетку терапије		На крају терапије	
	Мин-Макс	Просек±СД	Мин-Макс	Просек±СД
АСПИ	118-1854	733,39±349,74	69-1538	454,33±300,10
АДП	135-1923	684,67±336,07	61-1605	468,47±344,55
ТРАП	185-1924	1057,94±341,25	80-1528	702,85±408,67

Табела 10. Дескриптивни приказ параметара тромбоцита и индекса тромбоцитне агрегабилности на почетку и на крају терапије код испитаника из контролне групе

	На почетку терапије		Након 4 недеље	
	Мин-Макс	Просек±СД	Мин-Макс	Просек±СД
АСПИ	174-1448	710,43±294,16	175-1447	710,77±294,02
АДП	198-1510	638,27±306,46	199-1511	638,53±306,38
ТРАП	504-1834	1095,27±310,25	505-1832	1095,27±310,44

У циљу процене инфламаторног одговора и присуства потенцијалне инфекције, анализирани су релевантни биохемијски маркери на почетку и на крају терапијског периода. Посматрани параметри обухватили су С-реактивни протеин (ЦРП) као неспецифични маркер системске инфламације, однос тромбоцита и лимфоцита, као и прокалцитонин као специфичнији маркер бактеријске инфекције и септичких стања. Резултати су приказани применом дескриптивних статистичких показатеља (минимум–максимум, аритметичка средина и стандардна девијација), што омогућава упоредни увид у динамику ових маркера током терапије. Подаци су представљени у Табели 11 за експерименталну групу и у Табели 12 за контролну групу.

Табела 11. Дескриптивни приказ маркера инфламације на почетку и на крају терапије код испитаника из експерименталне групе

	На почетку терапије		На крају терапије	
	Мин-Макс	Просек±СД	Мин-Макс	Просек±СД
ЦРП	0,50-81,81	9,94±14,72	0,10-50,40	7,11±10,58
Прокалцитонин	0,01-0,58	0,06±0,09	0,02-0,30	0,05±0,06
ПЛР	67,50-360,00	159,99±69,47	56,36-374,55	150,16±63,32

Табела 12. Дескриптивни приказ маркера инфламације на почетку и на крају терапије код испитаника из контролне групе

	На почетку терапије		Након 4 недеље	
	Мин-Макс	Просек±СД	Мин-Макс	Просек±СД
ЦРП	1,09-67,97	11,69±15,39	1,07±67,95	11,66±15,33
Прокалцитонин	0,02-0,30	0,06±0,07	0,02-0,31	0,06±0,07
ПЛР	73,98-355,42	165,81±68,87	66,36-356,96	165,15±68,45

У циљу процене оксидативног стреса и антиоксидативног капацитета испитаника, анализирани су релевантни биомаркери оксидативно-редукционе равнотеже на почетку и на крају терапијског периода. Посматрани су параметри који указују на продукцију реактивних кисеоничних и азотних врста (O_2 и NO), као и маркери липидне пероксидације и оксидативног оштећења (TBARS и H_2O_2). Поред тога, анализирани су кључни ензимски и неензимски антиоксидативни системи, укључујући каталазу (CAT), супероксид-дисмутазу (SOD) и глутатион (GSH). Резултати су приказани применом дескриптивне статистике (минимум–максимум, аритметичка средина и стандардна девијација), што омогућава увид у промене оксидативног статуса током терапије. Подаци су представљени у Табели 13 за експерименталну групу.

Табела 13. Дескриптивни приказ маркера оксидативног стреса и антиоксидативног система на почетку и на крају терапије код испитаника из експерименталне групе

	На почетку терапије		На крају терапије	
	Мин-Макс	Просек±СД	Мин-Макс	Просек±СД
O ₂	0,66-4,28	1,63±0,88	0,66-2,97	1,31±0,63
NO	10,15-24,43	15,26±2,87	12,03-21,09	15,81±1,77
TBARS	1,52-2,90	2,25±0,38	2,06-3,34	2,54±0,25
H ₂ O ₂	2,49-4,42	3,32±0,62	2,92-4,49	3,57±0,44
CAT	43,75-111,50	79,33±17,83	43,00-109,00	80,61±19,12
SOD	8,14-81,40	35,48±19,62	16,28-113,96	52,08±25,18
GSH	61883-92413	77660±5910	69722-94888	80042±6845

У складу са наведеним приступом, у оквиру резултата приказани су основни дескриптивни показатељи за све анализиране клиничке, хематолошке, биохемијске и оксидативно-антиоксидативне параметре у експерименталној и контролној групи, на почетку и на крају посматраног периода. На овај начин омогућен је свеобухватан увид у расподелу и варијабилност података, као и њихово поређење између група и временских тачака, чиме је постављена основа за даљу статистичку анализу.

4.3 Провера нормалности расподеле података

Провера нормалности расподеле података за све анализиране континуиране променљиве из клиничких, хематолошких, биохемијских и оксидативно-антиоксидативних параметара, обухваћених у оквиру свих приказаних табела, извршена је применом одговарајућих тестова нормалности. У зависности од величине узорка, коришћен је Колмогоров–Смирнов тест за узорке са више од 50 испитаника, односно Шапиро–Вилк тест за узорке до 50 испитаника. На основу добијених резултата процене дистрибуције података, за даљу статистичку анализу примењени су одговарајући параметријски или непараметријски тестови, у складу са карактеристикама расподеле посматраних варијабли.

4.4 Анализа ефеката хипербаричне оксигенације (ХБО) на испитиване параметре

У циљу процене ефеката терапије, спроведена је анализа промена испитиваних параметара у два временска пресека (пре и после терапије), одвојено за експерименталну и контролну групу. У оквиру сваке групе посебно су анализирани клинички, хематолошки, биохемијски и оксидативно-антиоксидативни параметри, груписани у складу са претходно приказаним дескриптивним табелама. У зависности од резултата теста нормалности расподеле података, за континуиране променљиве примењен је Студентов t-тест за зависне узорке у случајевима нормалне расподеле, односно Вилкоксонов тест потписаних рангова у случајевима одступања од нормалне расподеле. На овај начин омогућена је адекватна статистичка процена разлика између почетних и завршних вредности испитиваних параметара у оквиру сваке групе.

У циљу процене статистичке значајности промена клиничких исхода након примене терапије, спроведена је анализа разлика између вредности пре и након недеље. У зависности од карактера расподеле података, примењени су одговарајући тестови за везане узорке. Резултати тестирања приказани су за параметре величине улкуса и интензитета бола процењеног Визуелном аналогном скалом (ВАС), при чему су приказане вредности тест статистике, ниво значајности, као и одговарајуће средње вредности/медијане пре и након терапије. Подаци су приказани у Табели 14 за експерименталну групу и у Табели 15 за контролну групу.

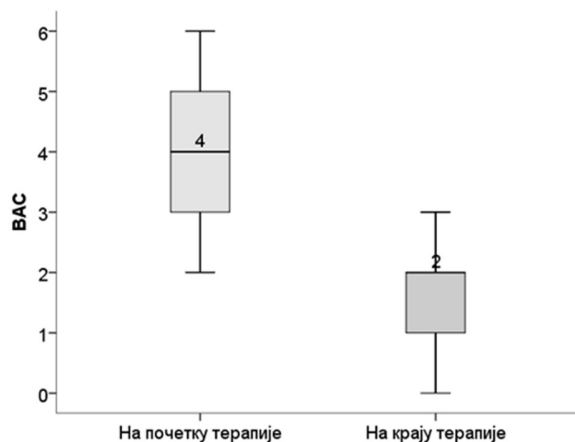
Табела 14. Анализа значајности промена клиничких исхода (величина улкуса и ВАС) пре и после терапије у експерименталној групи

	Параметри теста значајности		Просечна вредност / медијана	
	Тест статистика	р вредност	Пре терапије	После терапије
Величина улкуса	1,815	0,102	9,32	8,92
ВАС	6,193	0,000	4	2

Резултати приказани у Табели 14 указују на делимичне промене клиничких исхода након примене терапије у експерименталној групи. Код параметра величине улкуса уочено је смањење средње вредности са 9,32 на 8,92, при чему разлика није била статистички значајна.

Изражен ефекат забележен је код интензитета бола процењеног Визуелном аналогном скалом (ВАС), где је дошло до смањења медијане са 4 на 2 након терапије, уз високо статистички значајну разлику ($p < 0,001$). Ови налази указују да је примењена терапија довела до значајног ублажавања бола код испитаника.

Свеукупно посматрано, резултати у експерименталној групи потврђују повољан утицај терапијске интервенције на оба анализирана клиничка исхода, како у погледу тенденције редукције величине улкуса, тако и у погледу смањења интензитета бола.



Графикон 5. Приказ промене интензитета бола код пацијената из експерименталне групе на почетку и на крају терапије

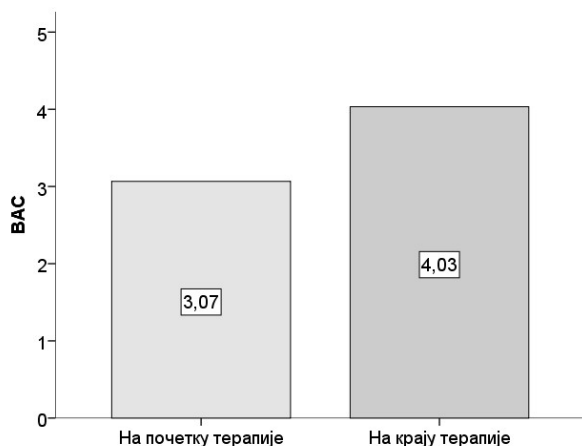
Табела 15. Анализа значајности промена клиничких исхода (величина улкуса и BAS) пре и после терапије у контролној групи

	Параметри теста значајности		Просечна вредност / медијана	
	Тест статистика	р вредност	Пре терапије	После 4 недеље
Величина улкуса	0,102	0,919	8,24	8,20
BAS	3,593	0,001	3,07	4,03

Резултати приказани у Табели 15 указују да у контролној групи није дошло до статистички значајних промена у величини улкуса након посматраног периода. Средња вредност овог параметра остала је практично непромењена (са 8,24 на 8,20), при чему разлика није била статистички значајна ($p = 0,919$), што указује на одсуство спонтаног побољшања.

С друге стране, код параметра интензитета бола процењеног Визуелном аналогном скалом (BAS) забележено је статистички значајно погоршање ($p = 0,001$), при чему је медијана порасла са 3,07 на 4,03 након посматраног периода. Овај налаз може указивати на појачање бола код испитаника контролне групе током праћења, што потенцијално указује на прогресију основног патолошког процеса у одсуству активне терапијске интервенције.

У целини, резултати у контролној групи указују на изостанак побољшања величине улкуса, уз статистички значајно погоршање субјективног осећаја бола.



Графикон 6. Приказ промене интензитета бола код пацијената из контролне групе на почетку и на крају терапије

У циљу процене ефеката терапије на хематолошке параметре, анализиране су промене у вредностима леукограма и еритроцитне серије између почетног и завршног мерења. Обухваћени су укупни број леукоцита и њихове субпопулације, као и основни показатељи еритроцитне линије, укључујући број еритроцита, концентрацију хемоглобина и еритроцитне индексе. У зависности од карактеристика расподеле података, примењени су одговарајући тестови за везане узорке, а резултати су приказани кроз вредности тест статистике, ниво статистичке значајности, као и одговарајуће просечне вредности или медијане пре и после терапије. Подаци су представљени у Табели 16 за експерименталну групу и у Табели 17 за контролну групу.

Табела 16. Анализа значајности промена хематолошких параметара, пре и после терапије у експерименталној групи

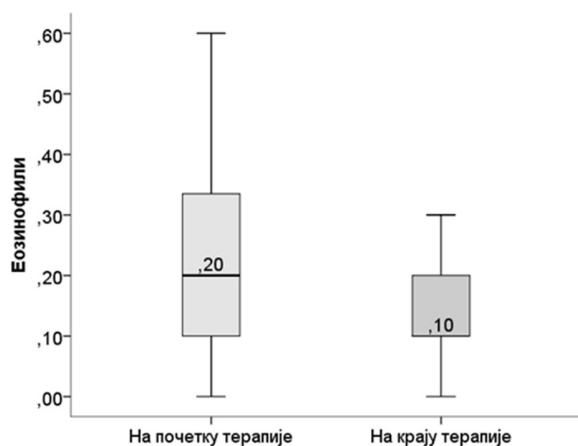
	Параметри теста значајности		Просечна вредност / медијана	
	Тест статистика	р вредност	Пре терапије	После терапије
Леукоцити	0,291	0,772	7,79	7,73
Неутрофили	0,323	0,746	4,3	4,5
Лимфоцити	1,585	0,113	1,8	1,9
Моноцити	1,941	0,057	0,61	0,55
Еозинофили	2,107	0,035	0,1	0,1
Базофили	0,013	0,989	0,0	0,0
Еритроцити	2,122	0,038	4,36	4,16
Хемоглобин	1,295	0,195	133	135
МЦВ	0,608	0,543	89,4	89,6

МЦХ	0,248	0,804	30,6	30,5
МЦХЦ	1,249	0,212	338	336
РДВ	1,559	0,119	14,3	14,5
Тромбоцити	0,415	0,678	228	252
МПВ	1,044	0,301	9,07	8,90
ПЦТ	0,077	0,939	0,24	0,24
ПДВ	1,668	0,095	16,8	17,0
МДВ	0,121	0,904	19,6	19,3

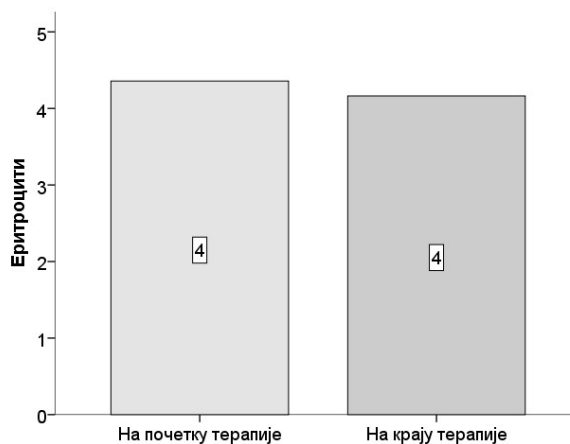
Резултати приказани у Табели 16 указују да у експерименталној групи након примене терапије није дошло до изражених и систематских промена већине хематолошких параметара. Укупни број леукоцита и већина субпопулација леукоцита нису показали статистички значајне промене.

Код еритроцитне лозе такође није забележена значајна промена концентрације хемоглобина и већине еритроцитних индекса (МЦВ, МЦХ, МЦХЦ и РДВ), што указује на очувану стабилност еритроцитопоезе. Статистички значајне, али клинички ограничене промене забележене су код појединих параметара, укључујући смањење броја еритроцита ($p = 0,038$), као и гранично значајну промену код моноцита ($p = 0,057$) и еозинофила ($p = 0,035$), при чему ове промене нису показале конзистентан образац у оквиру беле крвне лозе.

Свеукупно посматрано, хематолошки параметри у експерименталној групи показују релативну стабилност након терапије, уз изоловане и ограничене промене појединих показатеља, без јасног тренда клинички значајне хематолошке дисрегулације.



Графикон 7. Приказ промене вредности еозинофила код пацијената из експерименталне групе на почетку и на крају терапије



Графикон 8. Приказ промене вредности еритроцита код пацијената из експерименталне групе на почетку и на крају терапије

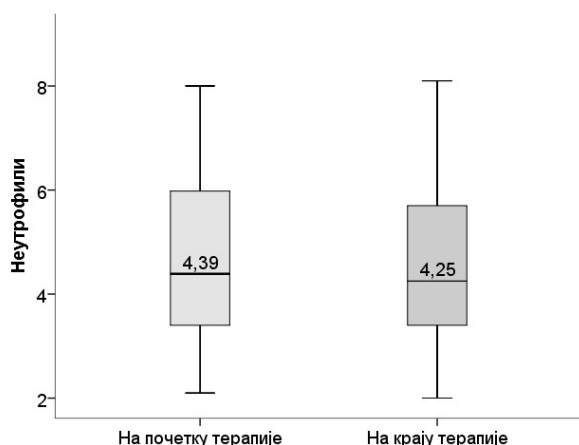
Табела 17. Анализа значајности промена хематолошких параметара (леукограм и еритроцитна серија) пре и после терапије у контролној групи

	Параметри теста значајности		Просечна вредност / медијана	
	Тест статистика	р вредност	Пре терапије	Након 4 недеље
Леукоцити	0,746	0,462	7,14	7,39
Неутрофили	2,149	0,032	4,39	4,25
Лимфоцити	0,309	0,760	1,85	1,85
Моноцити	1,164	0,245	0,60	0,57
Еозинофили	3,534	0,000	0,20	0,20
Базофили	1,382	0,167	0,04	0,03
Еритроцити	1,706	0,099	4,12	4,02
Хемоглобин	0,451	0,655	123,93	124,30
МЦВ	1,313	0,200	90,17	89,83
МЦХ	0,992	0,321	30,15	30,10
МЦХЦ	0,383	0,705	334,10	334,70
РДВ	-	-	14,31	14,31
Тромбоцити	0,566	0,571	258	243
МПВ	1,164	0,254	9,22	9,16
ПЦТ	0,130	0,897	0,23	0,24
ПДВ	0,969	0,332	15,10	15,00
МДВ	1,448	0,148	17,00	16,50

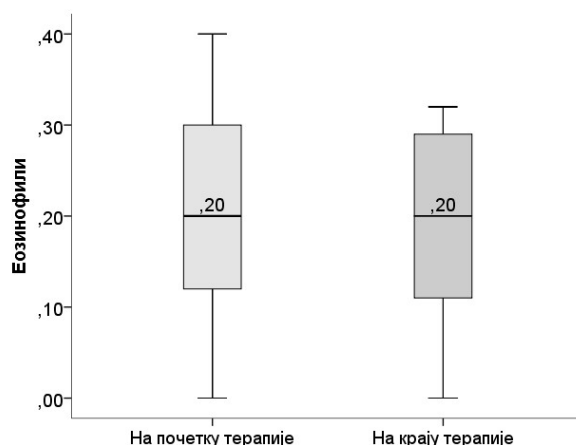
Резултати приказани у Табели 17 указују да у контролној групи, у периоду праћења без активне терапијске интервенције, није дошло до значајних и конзистентних промена већине хематолошких параметара. Укупни број леукоцита, као и већина субпопулација леукоцита, није показао статистички значајне промене, што указује на релативну стабилност беле крвне лозе током праћења.

У оквиру црвене крве лозетакође није забележена значајна промена концентрације хемоглобина и већине еритроцитних индекса (МЦВ, МЦХ, МЦХЦ и РДВ), при чему је РДВ остао непромењен. Ипак, статистички значајно смањење забележено је код броја неутрофила ($p = 0,032$), док су промене у осталим параметрима биле без статистичке значајности или без јасног клиничког тренда.

Свеукупно, добијени резултати указују да у контролној групи не постоји изражена хематолошка динамика током периода праћења, уз појединачне изоловане промене које немају конзистентан образац нити јасан клинички значај.



Графикон 9. Приказ промене вредности неутрофила код пацијената из контролне групе на почетку и на крају периода праћења



Графикон 10. Приказ промене вредности еозинофила код пацијената из контролне групе на почетку и на крају периода праћења

У циљу процене ефеката терапије на параметре функције јетре и метаболички профил испитаника, анализирани су промене вредности релевантних биохемијских показатеља између почетног и завршног мерења. Обухваћени су маркери хепатичне функције, укључујући укупни и директни билирубин и трансминазе (AST и ALT), као и параметри липидног статуса (укупни холестерол, триглицериди, HDL, LDL, non-HDL холестерол и ремнантни холестерол) и гликемије. У складу са карактеристикама расподеле података, примењени су одговарајући тестови за везане узорке. Резултати су приказани кроз вредности тест статистике, ниво статистичке значајности, као и одговарајуће просечне вредности или медијане пре и после терапије. Подаци су представљени у Табели 18 за експерименталну групу и у Табели 19 за контролну групу.

Табела 18. Анализа значајности промена параметара функције јетре, липидног профила и гликемије пре и после терапије у експерименталној групи

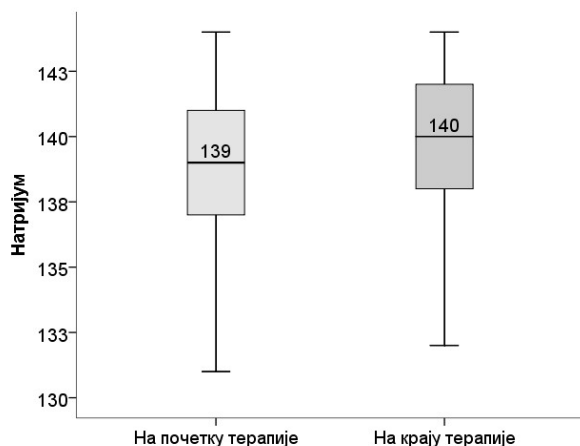
	Параметри теста значајности		Просечна вредност / медијана	
	Тест статистика	р вредност	Пре терапије	После терапије
Укупни билирубин	1,744	0,081	9,9	9,9
Директни билирубин	1,463	0,143	3,2	3,2
АСТ	0,576	0,564	18	20
АЛТ	0,231	0,817	17	17
Холестерол	0,143	0,887	5,11	5,12
Триглицериди	0,474	0,636	1,42	1,28
ХДЛ	1,302	0,193	1,15	1,11

ЛДЛ	0,262	0,794	3,20	3,22
НОНХДЛ	0,550	0,585	3,94	3,89
Ремнант холестерол	0,943	0,346	0,68	0,80
Глукоза	0,550	0,582	5,8	5,8
Уреа	0,797	0,425	6,2	6,8
Креатинин	0,141	0,888	69	74
Мокраћна киселина	1,407	0,165	353,09	365,94
ЕГФ одрасли	0,972	0,336	91,63	88,85
Калијум	1,349	0,177	4,6	4,6
Натријум	2,598	0,009	139	140
Калцијум	0,504	0,616	2,39	2,39
проБНП	1,864	0,062	215	258

Анализа параметара функције јетре, липидног профила, гликемије, бубрежне функције и електролитског статуса у експерименталној групи показала је да након примене терапије није дошло до статистички значајних промена у већини испитиваних биохемијских показатеља. Вредности укупног и директног билирубина, као и трансаминаза (AST и ALT), остале су непромењене, уз минималне флукуације без клиничке релевантности, што указује на очувану стабилност хепатичне функције. Сличан налаз забележен је и код параметара липидног статуса, укључујући укупни холестерол, триглицериде, HDL, LDL, non-HDL и ремнантни холестерол, као и код гликемије, при чему нису уочене статистички значајне промене у односу на почетне вредности.

У погледу бубрежне функције, вредности урее, креатинина и мокраћне киселине остале су стабилне, без статистички значајних разлика, као и процењена гломеруларна филтрација (eGFR), која је показала незнатно смањење без клиничке значајности. Од анализираних електролита, калијум и калцијум нису показали значајне промене, док је једино код натријума забележена статистички значајна разлика ($p = 0,009$), уз благи пораст средње вредности који није имао јасну клиничку импликацију.

Свеукупно посматрано, добијени резултати указују на очувану стабилност параметара функције јетре, метаболичког профила, бубрежне функције и електролитског статуса у експерименталној групи током посматраног периода, без значајних системских ефеката примењене терапије.



Графикон 11. Приказ промене вредности натријума код пацијената из експерименталне групе на почетку и на крају терапије

Табела 19. Анализа значајности промена параметара функције јетре, липидног профила и гликемије пре и после терапије у контролној групи

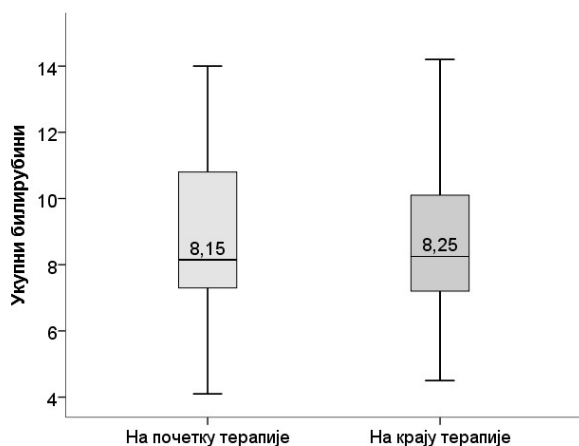
	Параметри теста значајности		Просечна вредност / медијана	
	Тест статистика	р вредност	Пре терапије	После 4 недеље
Укупни билирубин	2,188	0,029	8,15	8,25
Директни билирубин	0,000	1,000	1,60	1,60
АСТ	1,441	0,149	19,50	20,00
АЛТ	0,733	0,463	16,50	17,00
Холестерол	0,944	0,345	5,10	5,12
Триглицериди	0,481	0,631	1,84	1,82
ХДЛ	0,188	0,852	1,20	1,20
ЛДЛ	0,769	0,448	2,30	2,30
НОНХДЛ	0,994	0,320	2,92	2,89
Ремнант холестерол	0,287	0,774	0,84	0,82
Глукоза	1,620	0,105	6,15	6,06
Уреа	1,056	0,291	6,35	6,50
Креатинин	0,083	0,934	85	86
Мокраћна киселина	2,758	0,010	345	347,97
ЕГФ одрасли	0,625	0,537	77,23	77,70
Калијум	1,508	0,142	4,48	4,52

Натријум	0,373	0,712	138,70	139,00
Калцијум	0,714	0,481	2,43	2,44
проБНП	0,350	0,726	242	241

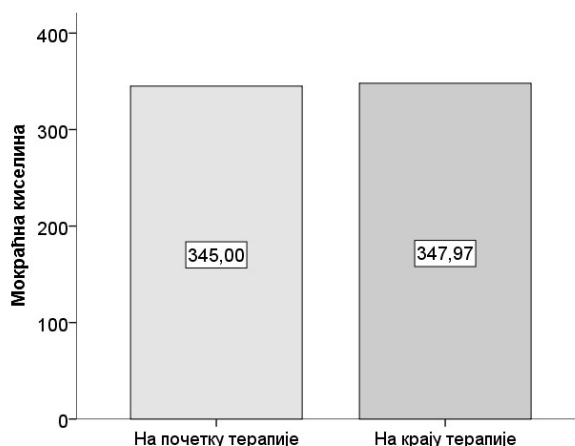
Анализа параметара функције јетре, липидног профила, гликемије, бубрежне функције и електролитског статуса у контролној групи показала је да током посматраног периода није дошло до статистички значајних промена у већини испитиваних биохемијских показатеља. Вредности директног билирубина, трансаминаза (AST и ALT), као и већине параметара липидног статуса остале су стабилне, без значајних разлика између почетног и завршног мерења, док ни ниво глукозе није показао статистички значајну промену. У погледу бубрежне функције, вредности урее, креатинина и процењене гломеруларне филтрације (eGFR) остале су непромењене, као и електролити калијум и калцијум, без значајних варијација.

Изузетак представља укупни билирубин, код кога је уочена статистички значајна промена ($p = 0,029$), са благим порастом средње вредности (са 8,15 на 8,25), као и мокраћна киселина, која је такође показала статистички значајно повећање ($p = 0,010$), при чему обе промене нису имале јасну клиничку импликацију.

Свеукупно посматрано, резултати указују на стабилност метаболичких, бубрежних и електролитских параметара у контролној групи током периода праћења, без изражених физиолошких промена.



Графикон 12. Приказ промене вредности укупног билирубина код пацијената из контролне групе на почетку и на крају терапије



Графикон 13. Приказ промене вредности мокраћне киселине код пацијената из контролне групе на почетку и на крају терапије

У циљу процене ефеката терапије на параметре тромбоцитне функције и агрегације, анализирани су разлике у вредностима између почетног и завршног мерења. Обухваћени су број тромбоцита, тромбоцитни индекси (MPV, PCT, PDW и MDW), као и показатељи агрегације тромбоцита након стимулације различитим агонистима (АСПИ, АДП и ТРАП). У складу са карактеристикама расподеле података, примењени су

одговарајући тестови за везане узорке, а резултати су приказани кроз вредности тест статистике, ниво статистичке значајности, као и одговарајуће просечне вредности или медијане пре и после терапије. Подаци су представљени у Табели 20 за експерименталну групу и у Табели 21 за контролну групу.

Табела 20. Анализа значајности промена параметара тромбоцита и агрегације тромбоцита пре и после терапије у експерименталној групи

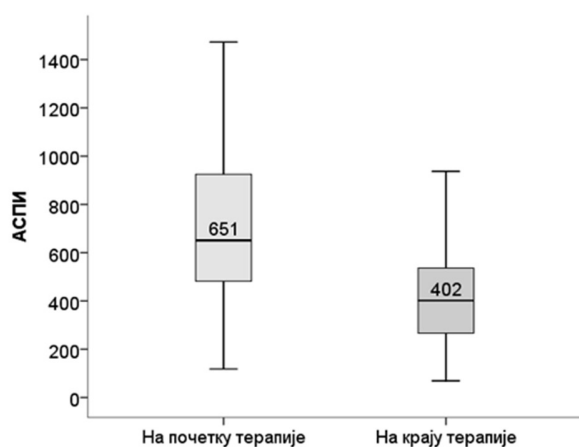
	Параметри теста значајности		Просечна вредност / медијана	
	Тест статистика	р вредност	Пре терапије	После терапије
АСПИ	5,836	0,000	698	307
АДП	5,355	0,000	750	370
ТРАП	7,059	0,000	1037,58	702,85

Резултати приказани у Табели 20 показују да је у експерименталној групи након примене терапије дошло до изражених промена у функционалним параметрима тромбоцита, док су број тромбоцита и тромбоцитни индекси остали без статистички значајних промена.

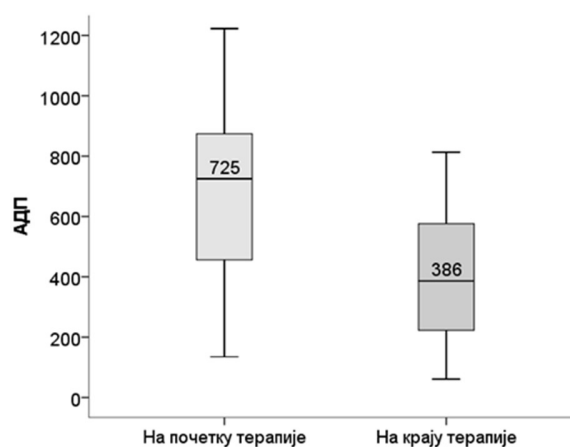
Код агрегације тромбоцита забележено је високо статистички значајно смањење одговора након стимулације свим анализираним агонистима (АСПИ, АДП и ТРАП; $p < 0,001$), што указује на значајно смањење тромбоцитне реактивности након терапије. Овај ефекат је конзистентан кроз све примењене агрегационе стимулусе и представља најизраженију функционалну промену у оквиру тромбоцитне линије.

С друге стране, број тромбоцита и тромбоцитни индекси (MPV, PCT, PDW и MDW) нису показали статистички значајне промене, иако су код PDW и MDW уочене граничне тенденције без статистичке значајности.

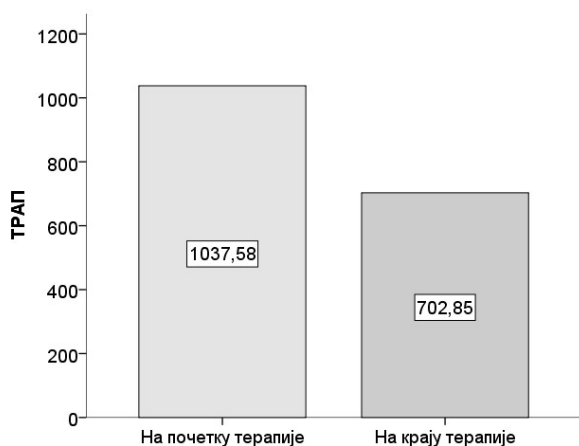
Свеукупно, резултати указују да терапија превасходно утиче на функционални аспект тромбоцита (агрегацију), док квантитативни и морфолошки параметри остају стабилни.



Графикон 14. Приказ промене вредности АСПИ код пацијената из експерименталне групе на почетку и на крају терапије



Графикон 15. Приказ промене вредности АДП код пацијената из експерименталне групе на почетку и на крају терапије



Графикон 16. Приказ промене вредности ТРАП код пацијената из експерименталне групе на почетку и на крају терапије

Табела 21. Анализа значајности промена параметара тромбоцита и агрегације тромбоцита пре и после терапије у контролној групи

	Параметри теста значајности		Просечна вредност / медијана	
	Тест статистика	р вредност	Пре терапије	После 4 недеље
АСПИ	1,186	0,245	710,43	710,77
АДП	0,859	0,390	575,0	576,5
ТРАП	0,000	1,000	1095,27	1095,27

Резултати приказани у Табели 21 показују да у контролној групи није дошло до статистички значајних промена параметара тромбоцитне функције и агрегације током периода праћења.

Број тромбоцита, као и тромбоцитни индекси (MPV, PCT, PDW и MDW), остали су стабилни без значајних разлика између почетног и завршног мерења. Исто важи и за агрегацију тромбоцита након стимулације АСПИ, АДП и ТРАП агонистима, где није забележена статистички значајна промена, при чему су вредности ТРАП теста остале потпуно непромењене.

Свеукупно, добијени резултати указују на одсуство значајне динамике тромбоцитне функције у контролној групи, што потврђује стабилност ових параметара у условима без активне терапије.

У циљу процене утицаја терапије на инфламаторни и инфекциони статус испитаника, анализирани су промене вредности релевантних биомаркера између почетног и завршног мерења. Обухваћени су С-реактивни протеин (CRP) као показатељ системске инфламације, као и прокалцитонин као маркер системске инфекције. Додатно је анализиран и однос тромбоцита и лимфоцита (PLR). У складу са карактеристикама расподеле података, примењени су одговарајући тестови за везане узорке, а резултати су приказани кроз вредности тест статистике, ниво статистичке значајности, као и одговарајуће просечне вредности или медијане пре и после терапије. Подаци су представљени у Табели 22 за експерименталну групу и у Табели 23 за контролну групу.

Табела 22. Анализа значајности промена маркера инфламације и инфекције пре и после терапије у експерименталној групи

	Параметри теста значајности		Просечна вредност / медијана	
	Тест статистика	р вредност	Пре терапије	После терапије
ЦРП	1,220	0,222	3,7	3,4
Прокалцитонин	0,177	0,860	0,02	0,03
ПЛР	0,913	0,361	134,55	146

Резултати приказани у Табели 22 показују да у експерименталној групи након примене терапије није дошло до статистички значајних промена у анализираним инфламаторним маркерима.

Код С-реактивног протеина (CRP) забележено је благо смањење вредности, без статистичке значајности ($p = 0,222$), што указује на могућу, али непотврђену тенденцију редукције системске инфламације. Слично томе, прокалцитонин није показао значајне промене ($p = 0,860$), што указује на стабилне вредности током терапијског периода.

ПЛР такође није показао значајне промене.

Свеукупно, добијени резултати указују да примењена терапија није довела до значајних промена у инфламаторном и инфекционом статусу, иако се код појединих параметара уочавају незнатне тенденције без статистичке потврде.

Табела 23. Анализа значајности промена маркера инфламације и инфекције пре и после терапије у контролној групи

	Параметри теста значајности		Просечна вредност / медијана	
	Тест статистика	р вредност	Пре терапије	После 4 недеље
ЦРП	1,732	0,083	7,73	7,64
Прокалцитонин	0,000	1,000	0,03	0,04
ПЛР	0,545	0,586	151,99	154,86

Анализа инфламаторних и инфекционих маркера у контролној групи показала је да током посматраног периода није дошло до статистички значајних промена у вредностима С-реактивног протеина (CRP), и прокалцитонина, као ни у PLR.

Иако је код CRP-а уочен благи пад средње вредности, он није достигао ниво статистичке значајности ($p = 0,083$). Н док је прокалцитонин показао минималну варијацију без статистичке значајности ($p = 1,000$).

Свеукупно, резултати указују на стабилност системских инфламаторних и инфекционих биомаркера у контролној групи током периода праћења, у одсуству активне терапијске интервенције.

У циљу процене утицаја терапије на оксидативно-антиоксидативни статус испитаника, анализирани су промене вредности релевантних биомаркера између почетног и завршног мерења. Обухваћени су параметри који одражавају продукцију реактивних кисеоничних и азотних врста (O_2 и NO), маркери липидне пероксидације и оксидативног оштећења (TBARS и H_2O_2), као и кључни антиоксидативни системи, укључујући каталазу (CAT), супероксид-дисмутазу (SOD) и глутатион (GSH). У складу са карактеристикама расподеле података, примењени су одговарајући тестови за везане узорке, а резултати су приказани кроз вредности тест статистике, ниво статистичке значајности, као и одговарајуће просечне вредности или медијане пре и после терапије. Подаци су представљени у Табели 24 за експерименталну групу.

Табела 24. Анализа значајности промена параметара оксидативног стреса и антиоксидативног статуса пре и после терапије у експерименталној групи

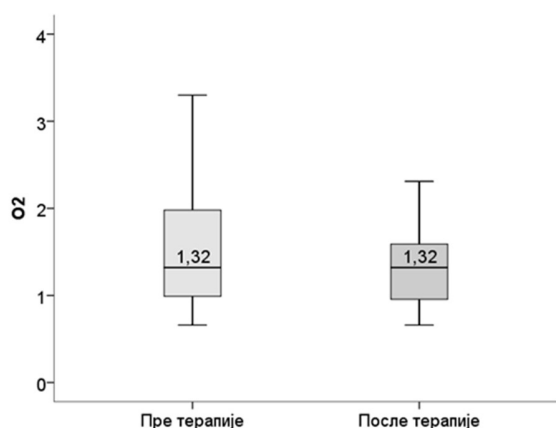
	Параметри теста значајности		Просечна вредност / медијана	
	Тест статистика	р вредност	Пре терапије	После терапије
O_2	2,167	0,030	1,32	1,32
NO	1,451	0,147	14,97	15,57
TBARS	3,635	0,000	2,16	2,51
H_2O_2	1,801	0,072	3,10	3,43
CAT	0,104	0,917	83,88	83,00
SOD	4,259	0,000	32,56	56,98
GSH	1,743	0,088	77468	79933

Анализа параметара оксидативно-антиоксидативног статуса у експерименталној групи показала је да након примене терапије постоје делимичне и селективне промене у појединим биомаркерима оксидативног стреса и антиоксидативне заштите.

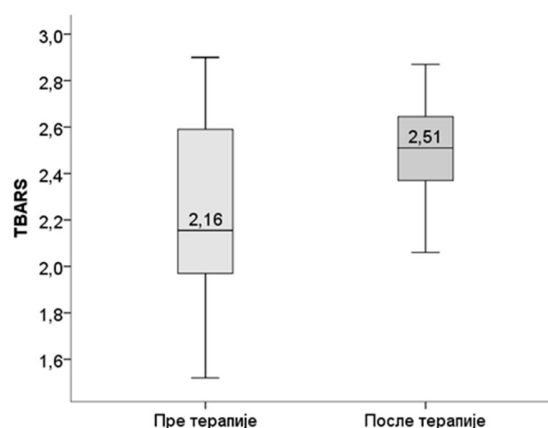
Код параметара који одражавају продукцију реактивних кисеоничних и азотних врста, вредности O_2 показале су статистички значајан пад вредности, док је NO показао благи пораст без статистичке значајности.

У оквиру маркера оксидативног оштећења, TBARS је показао статистички значајан пораст након терапије ($p < 0,001$), док је H_2O_2 показао тенденцију пораста без статистичке значајности. Са друге стране, у систему антиоксидативне заштите забележен је изражен и статистички значајан пораст активности супероксид-дисмутазе (SOD), што указује на појачану антиоксидативну реакцију организма. Активност каталазе није показала значајне промене, док је глутатион (GSH) показао тенденцију благог пораста без статистичке значајности.

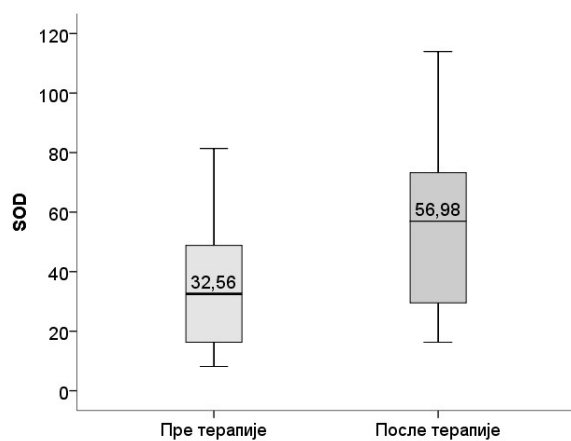
Свеукупно, резултати указују на делимичну модулацију оксидативно-антиоксидативне равнотеже у експерименталној групи, са израженијим променама у антиоксидативном систему у односу на маркере оксидативног оштећења.



Графикон 17. Приказ промене вредности O_2 код пацијената из експерименталне групе на почетку и на крају терапије



Графикон 18. Приказ промене вредности TBARS код пацијената из експерименталне групе на почетку и на крају терапије



Графикон 19. Приказ промене вредности SOD код пацијената из експерименталне групе на почетку и на крају терапије

4.5 Анализа резултата у експерименталној и контролној групи пре и после терапије

У циљу процене разлика између експерименталне и контролне групе, спроведена је упоредна статистичка анализа свих испитиваних параметара пре и након примене терапије. Анализа је обухватила клиничке, хематолошке, биохемијске и оксидативно-антиоксидативне показатеље, у складу са претходно дефинисаним груписањем променљивих. Међугрупна поређења извршена су у оба временска пресека, са циљем утврђивања постојања почетних разлика, као и потенцијалних разлика након терапијске интервенције. За анализу разлика између група примењени су одговарајући статистички тестови, односно Студентов t-тест за независне узорке или Ман-Витнијев U тест, у зависности од карактеристика расподеле података. На овај начин омогућена је свеобухватна процена ефеката терапије кроз анализу међугрупних разлика свих испитиваних параметара.

У циљу процене почетних разлика између експерименталне и контролне групе, спроведена је упоредна статистичка анализа клиничких исхода пре примене терапије. Анализирани су параметри величине улкуса и интензитета бола процењеног Визуелном аналогном скалом (ВАС). У зависности од карактеристика расподеле података, примењени су одговарајући статистички тестови за независне узорке. Резултати су приказани кроз вредности тест статистике, ниво статистичке значајности, као и одговарајуће средње вредности или медијане за обе групе. Подаци су представљени у Табели 25 за резултате пре терапије и у Табели 26 за резултате након терапије.

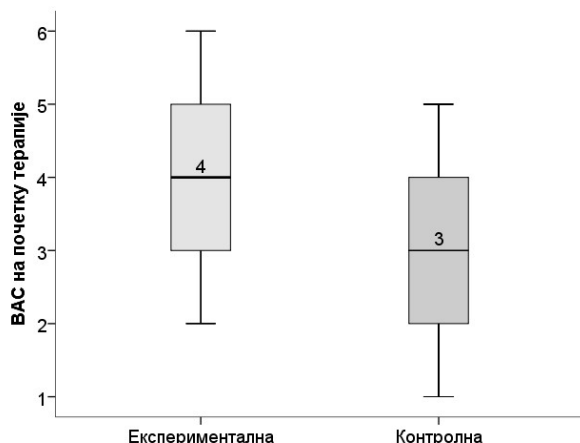
Табела 25. Анализа значајности разлика клиничких исхода (величина улкуса и ВАС) између експерименталне и контролне групе пре терапије

	Параметри теста значајности		Просечна вредност / медијана	
	Тест статистика	р вредност	Експеримент	Контрола
Величина улкуса	0,083	0,934	9,32	8,24
ВАС	2,708	0,007	4	3

Резултати упоредне анализе клиничких исхода између експерименталне и контролне групе пре примене терапије показују да у погледу величине улкуса није постојала статистички значајна разлика између група ($p = 0,934$). Просечне вредности величине улкуса биле су сличне у обе групе, што указује на почетну хомогеност испитаника у односу на овај параметар и добру упоредивост група у погледу степена локалног ткивног оштећења.

Са друге стране, за интензитет бола процењен Визуелном аналогном скалом (ВАС) уочена је статистички значајна разлика између група ($p = 0,007$), при чему је експериментална група имала вишу медијану вредности у односу на контролну групу. Овај налаз указује да су испитаници у експерименталној групи на почетку испитивања

имали израженији субјективни осећај бола, што представља почетну неуједначеност група у односу на овај клинички параметар и треба га узети у обзир приликом интерпретације терапијских ефеката у каснијој анализи.



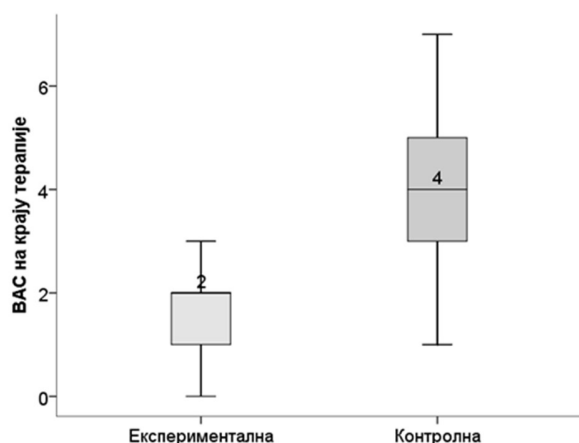
Графикон 20. Приказ интензитета бола код пацијената из експерименталне и контролне групе на почетку терапије

Табела 26. Анализа значајности разлика клиничких исхода (величина улкуса и ВАС) између експерименталне и контролне групе након терапије

	Параметри теста значајности		Просечна вредност / медијана	
	Тест статистика	р вредност	Експеримент	Контрола
Величина улкуса	0,147	0,883	8,92	8,20
ВАС	6,550	0,000	2	4

Резултати упоредне анализе клиничких исхода између експерименталне и контролне групе након завршене терапије показују да у погледу величине улкуса није постојала статистички значајна разлика између група ($p = 0,883$). Просечне вредности величине улкуса након терапије биле су сличне у обе групе, што указује да није доказана статистички значајна разлика у овом параметру између испитиваних група.

Супротно томе, за интензитет бола процењен Визуелном аналогном скалом (ВАС) уочена је статистички високо значајна разлика између група ($p < 0,001$), при чему је експериментална група имала значајно ниже вредности у односу на контролну групу. Овај налаз указује на израженије смањење интензитета бола након терапије у експерименталној групи и представља значајан клинички ефекат примењене терапије.



Графикон 21. Приказ интензитета бола код пацијената из експерименталне и контролне групе на крају терапије

У циљу процене почетне хематолошке упоредивости експерименталне и контролне групе, спроведена је статистичка анализа параметара леукограма, еритроцитне и тромбоцитне серије пре примене терапије. Обухваћени су укупни број леукоцита и њихове субпопулације, као и основни параметри еритроцитне линије, укључујући број еритроцита, концентрацију хемоглобина и еритроцитне индексе. Анализирани су и параметри тромбоцитне серије и тромбоцитних индекса. У зависности од карактеристика расподеле података, примењени су одговарајући тестови за независне узорке. Резултати су приказани кроз вредности тест статистике, ниво статистичке значајности, као и одговарајуће средње вредности или медијане за обе групе. Подаци су представљени у Табели 27 за резултате пре терапије и у Табели 28 за резултате након терапије.

Табела 27. Анализа почетне упоредивости хематолошких параметара (леукограм, еритроцитна и тромбоцитна серија) између експерименталне и контролне групе пре терапије

	Параметри теста значајности		Просечна вредност / медијана	
	Тест статистика	р вредност	Експеримент	Контрола
Леукоцити	1,346	0,182	7,79	7,14
Неутрофили	1,016	0,309	4,6	4,39
Лимфоцити	0,046	0,963	1,8	1,74
Моноцити	0,329	0,742	0,6	0,6
Еозинофили	0,813	0,416	0,2	0,2
Базофили	0,107	0,915	0,03	0,04
Еритроцити	1,863	0,066	4,36	4,12

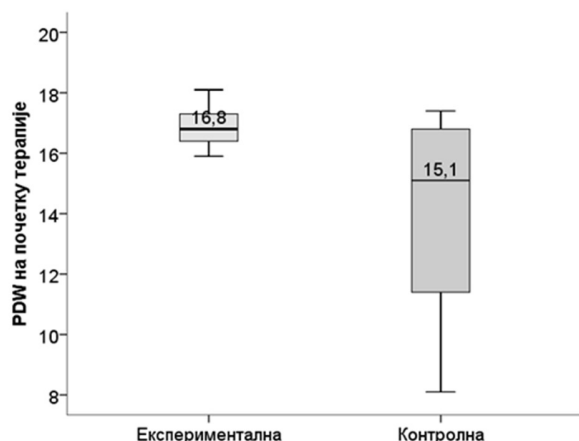
Хемоглобин	1,821	0,069	134	119,5
МЦВ	0,805	0,421	89,6	91,15
МЦХ	0,382	0,703	30,3	30,15
МЦХЦ	0,985	0,325	338	334,5
РДВ	1,348	0,178	14,3	14,35
Тромбоцити	0,708	0,479	252	258
МПВ	0,558	0,579	9,07	9,22
ПЦТ	1,127	0,260	0,23	0,23
ПДВ	3,388	0,001	16,8	15,1
МДВ	3,753	0,000	19,9	17

Резултати анализе почетне хематолошке упоредивости између експерименталне и контролне групе показују да пре примене терапије није постојала статистички значајна разлика у већини параметара леукограма и еритроцитне серије. Вредности укупних леукоцита и њихових субпопулација (неутрофили, лимфоцити, моноцити, еозинофили и базофили) биле су уједначене између група, без статистички значајних разлика, што указује на добру почетну хематолошку упоредивост испитаника.

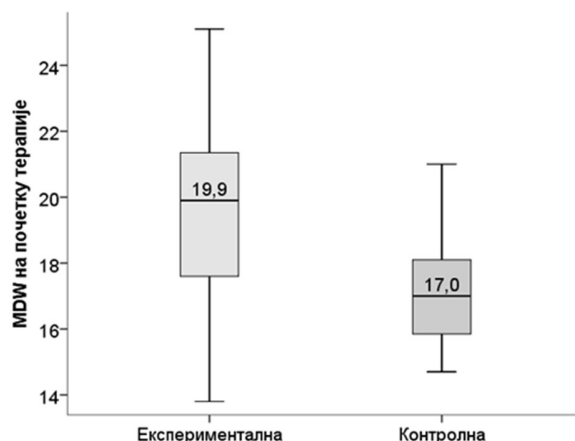
Слично томе, параметри еритроцитне серије, укључујући број еритроцита, концентрацију хемоглобина, еритроцитне индексе (MCV, MCH, MCHC), као и RDW, нису показали статистички значајне разлике између група. Иако су за поједине параметре, као што су број еритроцита и вредности хемоглобина, уочене тенденције ка нешто вишим вредностима у експерименталној групи, ове разлике нису достигле ниво статистичке значајности.

Такође, већина параметара тромбоцитне серије није показала статистички значајне разлике између група. Међутим, код параметара PDW и MDW уочене су статистички значајне разлике између експерименталне и контролне групе ($p = 0,001$ и $p < 0,001$). Више вредности PDW у експерименталној групи указују на већу варијабилност величине тромбоцита, док разлике у MDW параметру указују на почетну неуједначеност у дистрибуцији волумена моноцита између група. Ове налазе треба имати у виду приликом интерпретације ефеката терапије.

Свеукупно, добијени резултати указују да су експериментална и контролна група биле у великој мери упоредиве у погледу већине испитиваних хематолошких параметара пре почетка терапије, уз присуство разлика у појединим тромбоцитним и моноцитним индексима.



Графикон 22. Приказ вредности PDW код пацијената из експерименталне и контролне групе на почетку терапије



Графикон 23. Приказ вредности MDW код пацијената из експерименталне и контролне групе на почетку терапије

Табела 28. Анализа хематолошких параметара (леукограм, еритроцитна и тромбоцитна серија) између експерименталне и контролне групе након терапије

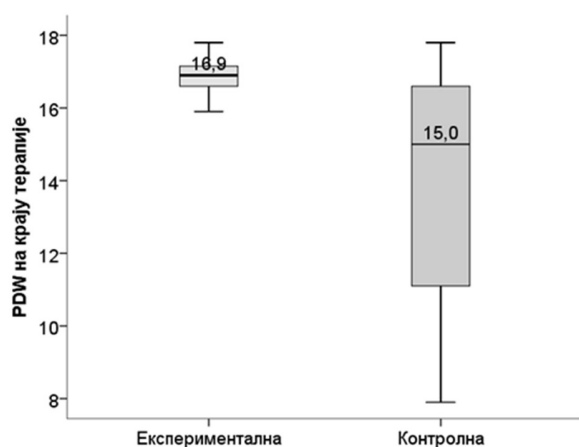
	Параметри теста значајности		Просечна вредност / медијана	
	Тест статистика	р вредност	Експеримент	Контрола
Леукоцити	0,774	0,441	7,73	7,39
Неутрофили	1,201	0,230	5,1	4,25
Лимфоцити	0,792	0,428	1,9	1,74
Моноцити	0,858	0,391	0,5	0,57
Еозинофили	1,710	0,087	0,1	0,2
Базофили	0,040	0,968	0,00	0,03
Еритроцити	0,915	0,363	4,16	4,02
Хемоглобин	1,547	0,122	132	123,5
МЦВ	0,722	0,470	89,5	91,25
МЦХ	0,423	0,672	30,4	30,10
МЦХЦ	0,373	0,709	336	334,5
РДВ	1,936	0,053	14,6	14,35
Тромбоцити	0,193	0,847	252	243
МПВ	0,985	0,328	8,90	9,16
ПЦТ	1,172	0,241	0,22	0,24
ПДВ	4,684	0,000	16,9	15,0
МДВ	4,557	0,000	19,25	16,5

На основу резултата приказаних у Табели 28, може се уочити да након спроведене терапије није дошло до статистички значајних разлика између експерименталне и контролне групе у већини испитиваних хематолошких параметара. Вредности леукоцита, као и њихових субпопулација (неутрофила, лимфоцита, моноцита, еозинофила и базофила), показују уједначеност између група, без статистички значајних разлика ($p > 0,05$), што указује на компарабилан леукограм након терапије.

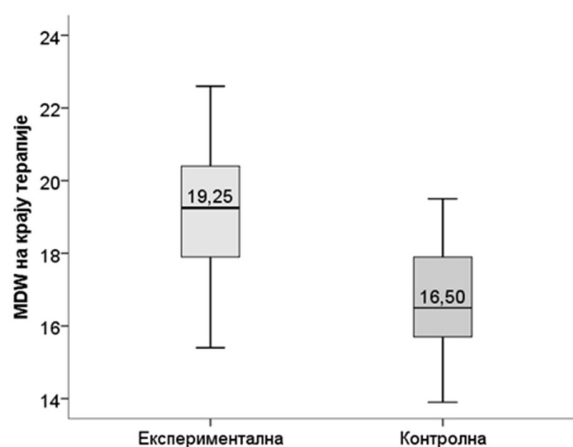
Слично томе, параметри еритроцитне серије, укључујући број еритроцита, концентрацију хемоглобина и еритроцитне индексе (MCV, MCH, MCHC и RDW), такође нису показали статистички значајне разлике између група. Иако је за RDW забележена гранична вредност статистичке значајности ($p = 0,053$), она није достигла праг статистичке значајности, што указује само на тенденцију ка разлици без јасне статистичке потврде.

Већина параметара тромбоцитне серије такође није показала статистички значајне разлике између група након терапије. Међутим, за индексе PDW и MDW и даље су забележене високо статистички значајне разлике ($p < 0,001$), при чему су вредности у експерименталној групи биле више у односу на контролну. Овај налаз указује на перзистирање разлика у варијабилности величине тромбоцита и дистрибуцији волумена моноцита између група и након терапијског периода.

Укупно посматрано, резултати указују да су експериментална и контролна група након терапије остале у великој мери хематолошки упоредиве, без значајних међугрупних разлика у већини параметара леукограма, еритроцитне и тромбоцитне серије.



Графикон 24. Приказ вредности PDW код пацијената из експерименталне и контролне групе на крају терапије



Графикон 25. Приказ вредности MDW код пацијената из експерименталне и контролне групе на крају терапије

У циљу процене упоредивости експерименталне и контролне групе у погледу параметара функције јетре, метаболичког профила, бубрежне функције и електролитног статуса, спроведена је статистичка анализа пре и након завршетка терапијског периода. Обухваћени су маркери хепатичне функције, укључујући укупни и директни билирубин и трансаминазе (AST и ALT), параметри липидног статуса (укупни холестерол,

триглицериди, HDL, LDL, non-HDL и ремнант холестерол), параметри гликорегулације, као и показатељи бубрежне функције и електролитног статуса. У зависности од карактеристика расподеле података, примењени су одговарајући тестови за независне узорке. Резултати су приказани кроз вредности тест статистике, ниво статистичке значајности, као и одговарајуће средње вредности или медијане за обе групе. Подаци су представљени у Табели 29 за резултате пре терапије и у Табели 30 за резултате након терапије.

Табела 29. Анализа параметара функције јетре, метаболичког профила, бубрежне функције и електролитног статуса – поређење експерименталне и контролне групе пре терапије

	Параметри теста значајности		Просечна вредност / медијана	
	Тест статистика	р вредност	Експеримент	Контрола
Укупни билирубин	0,253	0,800	9,1	8,15
Директни билирубин	3,501	0,000	3	1,6
АСТ	1,313	0,189	18	19,5
АЛТ	0,267	0,789	18	16,5
Холестерол	0,966	0,334	5,14	5,10
Триглицериди	1,421	0,155	1,52	1,84
ХДЛ	0,110	0,912	1,15	1,08
ЛДЛ	3,705	0,000	3,20	2,30
НОНХДЛ	2,993	0,003	3,92	2,92
Ремнант холестерол	1,109	0,268	0,87	0,84
Глукоза	0,416	0,678	6,05	6,15
Уреа	0,239	0,811	6,4	6,35
Креатинин	2,626	0,009	72	85
Мокраћна киселина	0,275	0,784	351,13	345,00
ЕГФ одрасли	2,242	0,028	91,45	77,23
Калијум	1,883	0,060	4,6	4,42
Натријум	0,399	0,690	139	139
Калцијум	1,288	0,201	2,39	2,43
проБНП	0,143	0,887	220	242

Резултати приказани у Табели 29 указују да су експериментална и контролна група пре примене терапије биле у великој мери упоредиве у погледу већине испитиваних параметара функције јетре и метаболичког профила. За укупни билирубин, трансаминазе (AST и ALT), триглицериде, HDL, ремнант холестерол и глукозу није утврђена

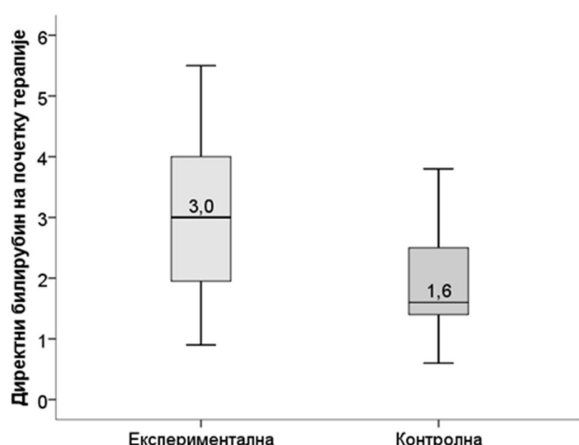
статистички значајна разлика између група ($p > 0,05$), што указује на добру почетну упоредивост у овим параметрима.

Међутим, статистички значајне разлике утврђене су за директни билирубин, LDL и non-HDL холестерол ($p < 0,05$). У експерименталној групи забележене су више вредности директног билирубина, LDL и non-HDL холестерола у односу на контролну групу, што указује на постојање почетне неуједначености у појединим аспектима липидног профила и параметрима хепатичне функције.

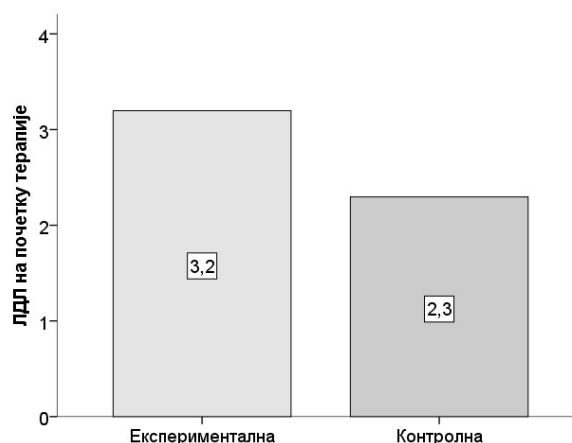
У погледу параметара бубрежне функције и електролитног статуса, за већину испитиваних параметара, укључујући уреу, мокраћну киселину, калијум, натријум и калцијум, није утврђена статистички значајна разлика између група ($p > 0,05$), што указује на њихову почетну упоредивост.

Са друге стране, статистички значајне разлике утврђене су за креатинин и процењену гломеруларну филтрацију (eGFR) ($p < 0,05$). У експерименталној групи забележене су ниже вредности креатинина и више вредности eGFR у односу на контролну групу, што указује на бољу почетну бубрежну функцију у експерименталној групи.

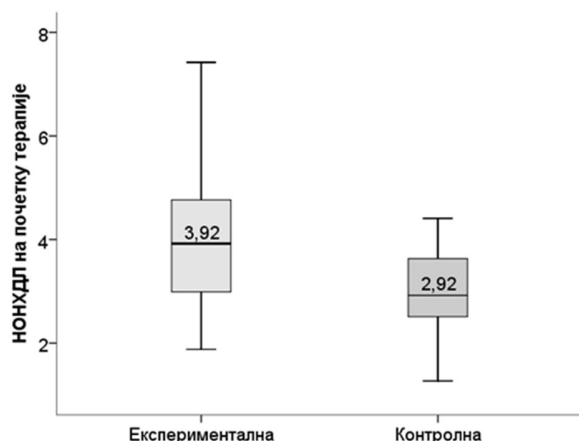
Укупно посматрано, иако су групе у већини параметара биле упоредиве, уочене разлике у појединим параметрима липидног профила, билирубина и бубрежне функције указују на делимичну почетну хетерогеност, што треба узети у обзир приликом интерпретације ефеката терапије.



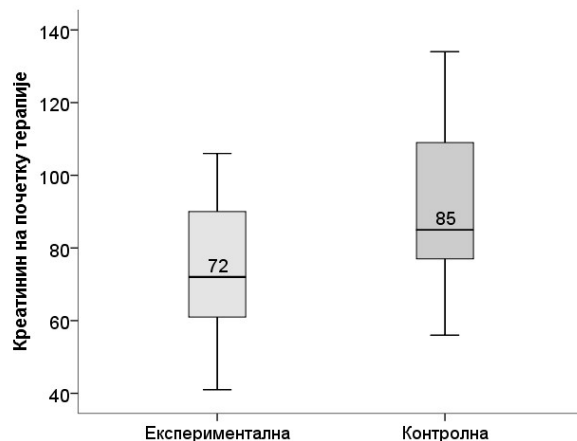
Графикон 26. Приказ вредности директних билирубина код пацијената из експерименталне и контролне групе на почетку терапије



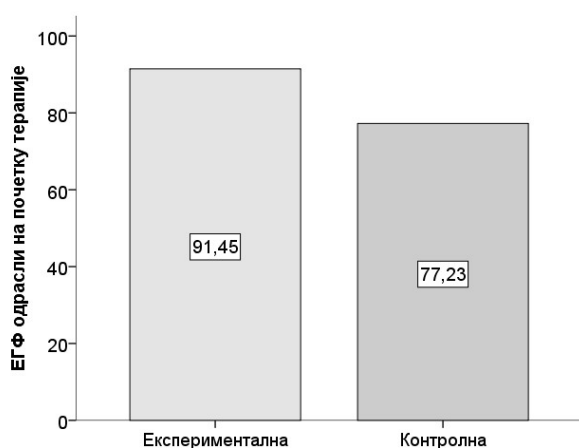
Графикон 27. Приказ вредности ЛДЛ код пацијената из експерименталне и контролне групе на почетку терапије



Графикон 28. Приказ вредности НОНХДЛ код пацијената из експерименталне и контролне групе на почетку терапије



Графикон 29. Приказ вредности креатинина код пацијената из експерименталне и контролне групе на почетку терапије



Графикон 30. Приказ вредности ЕГФ код пацијената из експерименталне и контролне групе на почетку терапије

Табела 30. Анализа параметара функције јетре, метаболичког профила, бубрежне функције и електролитног статуса – поређење експерименталне и контролне групе након терапије

	Параметри теста значајности		Просечна вредност / медијана	
	Тест статистика	р вредност	Експеримент	Контрола
Укупни билирубин	1,324	0,185	9,9	8,25
Директни билирубин	4,766	0,000	3,1	1,6
АСТ	1,742	0,082	18	20

АЛТ	0,041	0,967	17	17
Холестерол	1,219	0,223	5,18	5,12
Триглицериди	2,083	0,037	1,40	1,82
ХДЛ	0,602	0,547	1,15	1,12
ЛДЛ	4,085	0,000	3,22	2,30
НОНХДЛ	3,026	0,002	4,09	2,89
Ремнант холестерол	0,474	0,636	0,90	0,82
Глукоза	0,299	0,765	5,85	6,06
Уреа	0,800	0,424	6,3	6,50
Креатинин	2,530	0,011	74	86
Мокраћна киселина	0,804	0,424	365,94	347,97
ЕГФ одрасли	1,715	0,090	88,85	77,70
Калијум	0,842	0,400	4,64	4,45
Натријум	1,180	0,238	140	139
Калцијум	1,639	0,105	2,39	2,44
проБНП	0,078	0,938	258	241

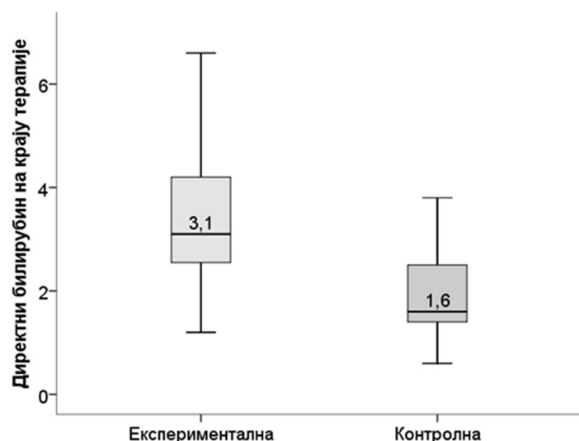
Резултати приказани у Табели 30 показују да након спроведене терапије већина испитиваних параметара функције јетре и метаболичког профила није показала статистички значајне разлике између експерименталне и контролне групе. За укупни билирубин, AST, ALT, укупни холестерол, HDL, ремнант холестерол и глукозу није утврђена статистички значајна разлика ($p > 0,05$), што указује на релативну уједначеност ових параметара након терапијског периода.

Међутим, статистички значајне разлике уочене су за директни билирубин, LDL, non-HDL холестерол и триглицериде ($p < 0,05$). У експерименталној групи забележене су више вредности директног билирубина, LDL и non-HDL холестерола у односу на контролну групу, док су вредности триглицерида биле ниже. Ови налази указују на постојање међугрупних разлика у појединим параметрима липидног профила и билирубина након терапије.

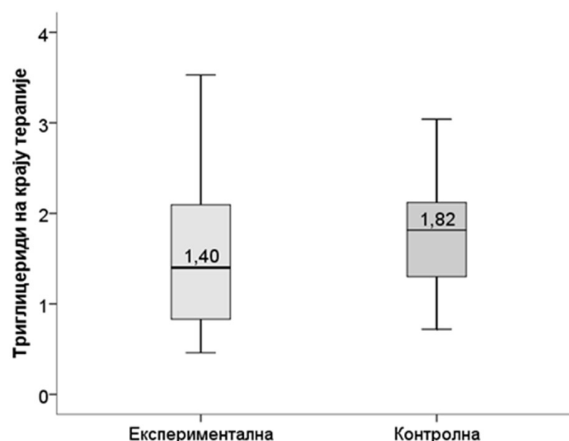
У погледу параметара бубрежне функције и електролитног статуса, већина испитиваних параметара није показала статистички значајне разлике између група. За уреу, мокраћну киселину, калијум, натријум, калцијум и eGFR није утврђена статистички значајна разлика ($p > 0,05$), иако је за eGFR уочена тенденција ка разлици ($p = 0,090$).

С друге стране, креатинин је остао статистички значајно различит између група ($p = 0,011$), при чему су више вредности забележене у контролној групи у односу на експерименталну.

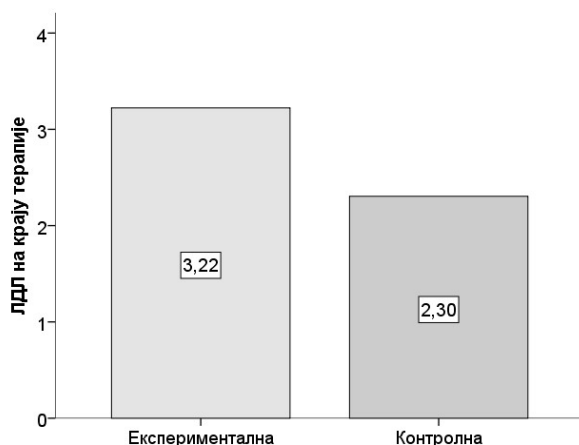
Укупно посматрано, резултати указују да након терапије већина параметара функције јетре, бубрежне функције и електролитног статуса није показала значајне међугрупне разлике, док су разлике задржане у појединим параметрима липидног профила, билирубина и креатинина.



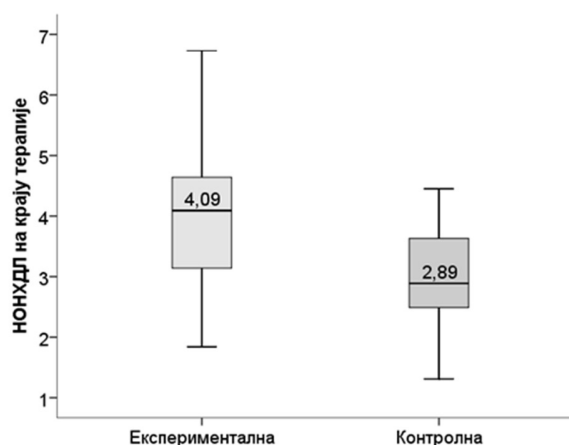
Графикон 31. Приказ вредности директних билирубина код пацијената из експерименталне и контролне групе на крају терапије



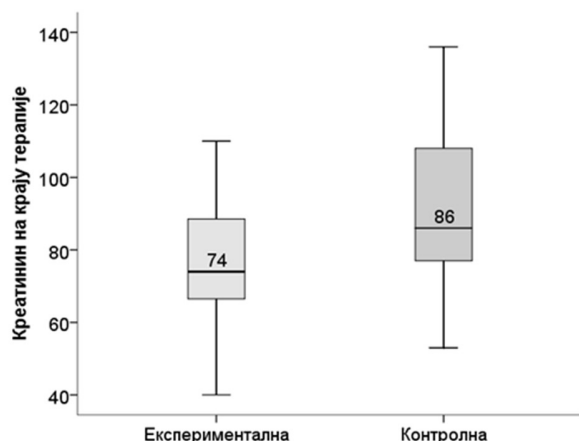
Графикон 32. Приказ вредности триглицерида код пацијената из експерименталне и контролне групе на крају терапије



Графикон 33. Приказ вредности ЛДЛ код пацијената из експерименталне и контролне групе на крају терапије



Графикон 34. Приказ вредности НОНХДЛ код пацијената из експерименталне и контролне групе на крају терапије



Графикон 35. Приказ вредности креатинина код пацијената из експерименталне и контролне групе на крају терапије

У циљу процене почетне упоредивости експерименталне и контролне групе у погледу тромбоцитне функције и агрегабилности, спроведена је статистичка анализа параметара тромбоцитне агрегабилности пре примене терапије. Обухваћени су показатељи агрегабилности након стимулације различитим агонистима (АСПИ, АДП и ТРАП). У зависности од карактеристика расподеле података, примењени су одговарајући тестови за независне узорке. Резултати су приказани кроз вредности тест статистике, ниво статистичке значајности, као и одговарајуће средње вредности или медијане за обе групе. Подаци су представљени у Табели 31 за резултате пре терапије и у Табели 32 за резултате након терапије.

Табела 31. Анализа почетне упоредивости параметара тромбоцитне агрегабилности између експерименталне и контролне групе пре терапије

	Параметри теста значајности		Просечна вредност / медијана	
	Тест статистика	р вредност	Експеримент	Контрола
АСПИ	0,000	1,000	651	654
АДП	1,022	0,307	725	575
ТРАП	0,743	0,460	1037,58	1095,27

Резултати приказани у Табели 31 показују да пре примене терапије није постојала статистички значајна разлика између експерименталне и контролне групе у погледу параметара тромбоцитне агрегабилности након стимулације различитим агонистима (АСПИ, АДП и ТРАП) ($p > 0,05$).

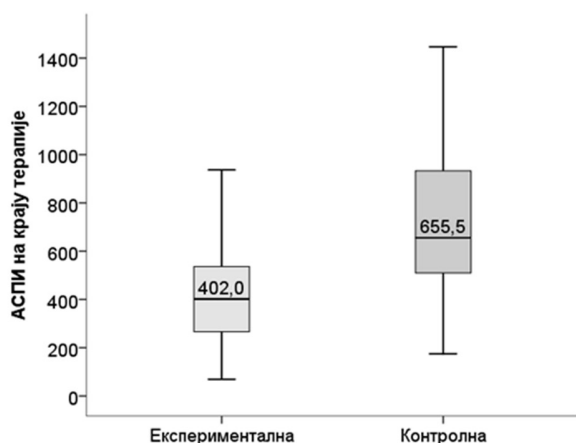
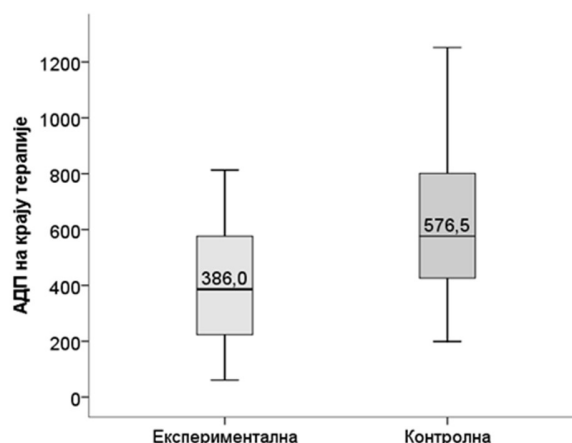
Иако су уочене извесне нумеричке разлике у средњим вредностима параметара агрегабилности, оне нису достигле ниво статистичке значајности, што указује да су групе биле упоредиве у погледу функционалне тромбоцитне реактивности пре почетка терапије.

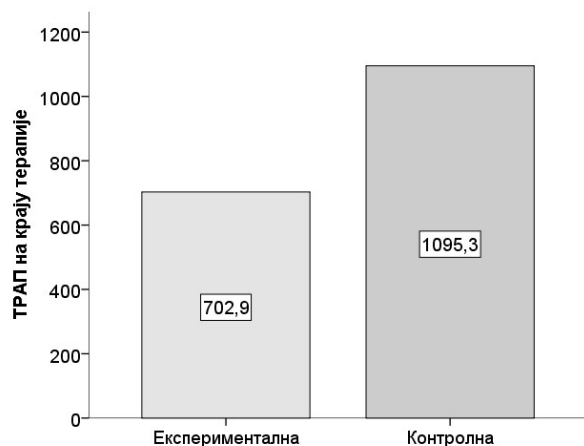
Табела 32. Анализа параметара тромбоцитне агрегабилности између експерименталне и контролне групе након терапије

	Параметри теста значајности		Просечна вредност / медијана	
	Тест статистика	р вредност	Експеримент	Контрола
АСПИ	4,028	0,000	402	655,5
АДП	2,943	0,003	368	576,5
ТРАП	4,583	0,000	702,85	1095,27

Резултати приказани у Табели 32 указују да су након спроведене терапије уочене статистички значајне разлике између експерименталне и контролне групе у свим испитиваним параметрима тромбоцитне агрегабилности (АСПИ, АДП и ТРАП) ($p < 0,05$).

Вредности агрегабилности биле су ниже у експерименталној групи у односу на контролну, што указује на мању тромбоцитну реактивност након терапијског периода. Ови налази сугеришу да је терапијска интервенција била повезана са променама функционалних карактеристика тромбоцита у експерименталној групи.

**Графикон 36.** Приказ вредности АСПИ код пацијената из експерименталне и контролне групе на крају терапије**Графикон 37.** Приказ вредности АДП код пацијената из експерименталне и контролне групе на крају терапије



Графикон 38. Приказ вредности ТРАП код пацијената из експерименталне и контролне групе на крају терапије

У циљу процене упоредивости експерименталне и контролне групе у погледу инфламаторног и инфекционог статуса, спроведена је статистичка анализа маркера инфламације пре и након завршетка терапијског периода. Обухваћени су С-реактивни протеин (ЦРП) као показатељ системске инфламације, прокалцитонин као индикатор бактеријске инфекције, као и PLR (platelet-to-lymphocyte ratio) као индекс системског инфламаторног одговора. У зависности од карактеристика расподеле података, примењени су одговарајући тестови за независне узорке. Резултати су приказани кроз вредности тест статистике, ниво статистичке значајности, као и одговарајуће средње вредности или медијане за обе групе. Подаци су представљени у Табели 33 за резултате пре терапије и у Табели 34 за резултате након терапије.

Табела 33. Анализа маркера инфламације – поређење експерименталне и контролне групе пре терапије

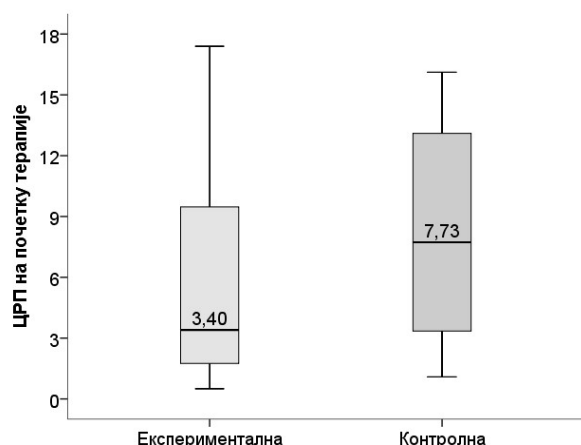
	Параметри теста значајности		Просечна вредност / медијана	
	Тест статистика	р вредност	Експеримент	Контрола
ЦРП	1,991	0,046	3,4	7,73
Прокалцитонин	0,991	0,322	0,024	0,030
ПЛР	0,897	0,370	134,55	151,99

Резултати приказани у Табели 33 указују на постојање делимичних разлика између експерименталне и контролне групе у погледу инфламаторних и инфекционих маркера пре примене терапије. За прокалцитонин и PLR није утврђена статистички значајна

разлика између група ($p > 0,05$), што указује на њихову почетну упоредивост у погледу системског инфламаторног статуса.

Изузетак представља С-реактивни протеин (ЦРП), код кога је утврђена статистички значајна разлика ($p = 0,046$), при чему су више вредности забележене у контролној групи у односу на експерименталну. Овај налаз указује на присуство израженијег системског инфламаторног одговора у контролној групи већ пре почетка терапије.

Укупно посматрано, резултати указују да су групе у највећој мери биле упоредиве по инфламаторном и инфекцијоном профилу, уз изузетак ЦРП-а, што треба узети у обзир приликом интерпретације терапијских ефеката.



Графикон 39. Приказ вредности ЦРП код пацијената из експерименталне и контролне групе на почетку терапије

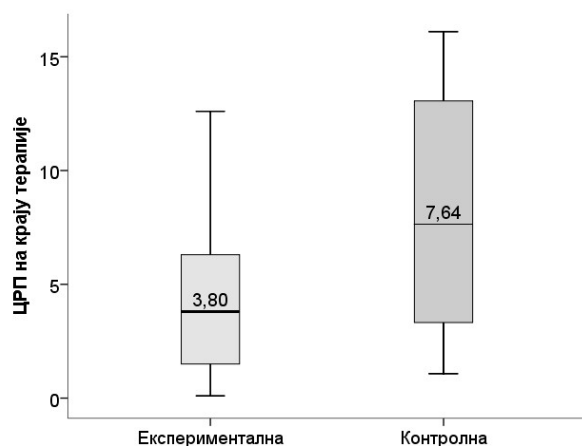
Табела 34. Анализа маркера инфламације – поређење експерименталне и контролне групе након терапије

	Параметри теста значајности		Просечна вредност / медијана	
	Тест статистика	р вредност	Експеримент	Контрола
ЦРП	2,658	0,008	3,8	7,64
Прокалцитонин	1,668	0,095	0,020	0,035
ПЛР	0,897	0,370	146	154,86

Резултати приказани у Табели 34 показују да након спроведене терапије постоје разлике између експерименталне и контролне групе у погледу појединих инфламаторних маркера. Статистички значајна разлика утврђена је за С-реактивни протеин (ЦРП), при чему су ниже вредности забележене у експерименталној групи у односу на контролну ($p = 0,008$). Овај налаз указује на постојање разлике у степену системске инфламације између група након терапијског периода.

За прокалцитонин и ПЛР није утврђена статистички значајна разлика између група ($p = 0,095$), иако се уочава тенденција ка нижим вредностима у експерименталној групи.

Укупно посматрано, резултати указују да је након терапије уочена разлика у вредностима ЦРП-а између експерименталне и контролне групе, док за остале испитиване маркере није потврђена статистички значајна међугрупна разлика.



Графикон 40. Приказ вредности ЦРП код пацијената из експерименталне и контролне групе на крају терапије

4.6 Метод генерализованих процењивачких једначина

Модел генерализованих процењивачких једначина (ГЕЕ) је коришћен ради процене ефекта ХБО терапије на параметре тромбоцитне агрегације током времена, уз истовремену контролу потенцијалних збуњујућих фактора, укључујући антиагрегациону терапију, присуство дијабетеса, пушачки статус и вредности ЦРП-а. Посебна пажња усмерена је на интеракцију између групе и времена, како би се испитало да ли се промена параметара тромбоцитне агрегације током праћења разликује између експерименталне и контролне групе.

На основу ове анализе приказане су процене параметара модела, процењене маргиналне средине и дескриптивни показатељи за АСПИ, АДП и ТРАП параметре тромбоцитне агрегације.

4.6.1 АСПИ

У циљу испитивања утицаја ХБО терапије на параметре тромбоцитне агрегације током времена, примењен је модел генерализованих процењивачких једначина, који је погодан за анализу поновљених мерења и корелираних података. Анализа је спроведена уз контролу релевантних коваријата, укључујући антиагрегациону терапију, присуство дијабетеса, пушачки статус и вредности ЦРП-а. У оквиру модела анализирани су главни ефекти групе и времена, као и њихова интеракција, са циљем процене да ли се промене параметара тромбоцитне агрегације током праћења разликују између експерименталне и контролне групе. Резултати ове анализе приказани су у Табелама 35-37.

Табела 35. Процена параметара ГЕЕ модела за АСПИ-индуковану агрегацију тромбоцита

Параметар	В	Стандардна грешка	95% Wald интервал поверења		Тест хипотеза		
			Доња граница	Горња граница	Wald Chi-Square	df	p
Константа	375,269	58,0817	261,431	489,107	41,745	1	0,000
Група	246,942	66,1935	117,205	376,679	13,917	1	0,000
Време	290,141	42,8676	206,122	374,160	45,810	1	0,000
Терапија	45,361	63,4430	-78,985	169,707	0,511	1	0,475
Дијабетес	9,324	61,2597	-110,743	129,391	0,023	1	0,879
Пушење	112,732	57,1970	0,628	224,836	3,885	1	0,049
ЦРП	0,765	2,3316	-3,805	5,335	0,108	1	0,743
Група * Време	-290,498	42,8836	-374,549	-206,448	45,889	1	0,000
Скала	104449						

Табела 36. Процењене маргиналне средине АСПИ вредности према групи и времену у ГЕЕ моделу

Група	Време	Просечна вредност	Стандардна грешка	95% Wald интервал поверења	
				Доња граница	Горња граница
Контролна	Пре	712,6973	293,75423	136,9496	1288,4450
	После	713,0546	293,80964	137,1983	1288,9109
ХБО терапија	Пре	756,2536	309,46809	149,7073	1362,8000
	После	466,1125	300,07437	-122,0224	1054,2475

Табела 37. Дескриптивни показатељи АСПИ вредности према групи и времену

		Просечна вредност ± стандардно одступање	Медијана
АСПИ	Контролна	710,60±291,58	654,5
	ХБО терапија	600,12±370,25	522,5
	Пре	733,39±349,74	651
	После	544,84±320,83	457

Анализа применом генерализованих процењивачких једначина, уз корекцију за антиагрегациону терапију, дијабетес, пушење и ЦРП, показала је статистички значајну интеракцију између групе и времена ($\beta = -290,5$; 95% CI $-374,5$ до $-206,4$; $p < 0,001$), што указује на значајно веће смањење АСПИ вредности у експерименталној групи у поређењу са контролном групом. Процењене маргиналне средине показују изражен пад АСПИ вредности у експерименталној групи након интервенције, док у контролној групи није уочена значајна промена.

ХБО терапија је повезана са статистички значајним и клинички релевантним смањењем АСПИ вредности у односу на контролну групу, независно од антиагрегационе терапије, дијабетеса, пушења и ЦРП-а.

4.6.2 АДП

У циљу процене ефекта ХБО терапије на АДП-индуковану агрегацију тромбоцита током времена, примењен је модел генерализованих процењивачких једначина (GEE), који омогућава анализу поновљених мерења и узима у обзир корелацију података унутар истих испитаника. У модел су, поред фактора групе и времена, укључене и релевантне коваријате – антиагрегациона терапија, присуство дијабетеса, пушачки статус и вредности ЦРП-а. Посебно је анализирана интеракција између групе и времена, како би се испитало да ли се промена АДП вредности током праћења разликује између експерименталне и контролне групе. Резултати ове анализе приказани су у Табелама 38-40.

Табела 38. Процена параметара ГЕЕ модела за АДП-индуковану агрегацију тромбоцита

Параметар	В	Стандардна грешка	95% Wald интервал поверења		Тест хипотеза		
			Доња граница	Горња граница	Wald Chi-Square	df	p
Константа	380,931	79,5277	225,060	536,802	22,943	1	0,000
Група	152,250	70,9392	13,212	291,289	4,606	1	0,032
Време	243,248	37,4463	169,854	316,641	42,197	1	0,000
Терапија	-50,153	67,6456	-182,736	82,430	0,550	1	0,458
Дијабетес	26,936	70,4173	-111,079	164,951	0,146	1	0,702
Пушење	147,468	64,7337	20,592	274,343	5,190	1	0,023
ЦРП	2,117	3,3285	-4,407	8,641	0,405	1	0,525
Група * Време	-243,581	37,4437	-316,969	-170,192	42,318	1	0,000
Скала	107990						

Табела 39. Процењене маргиналне средине АДП вредности према групи и времену у ГЕЕ моделу

Група	Време	Просечна вредност	Стандардна грешка	95% Wald интервал поверења	
				Доња граница	Горња граница
Контролна	Пре	614,7253	424,06050	-216,4180	1445,8686
	После	615,0583	424,11292	-216,1877	1446,3044
ХБО терапија	Пре	706,0556	437,56955	-151,5649	1563,6762
	После	462,8080	441,73957	-402,9856	1328,6017

Табела 40. Дескриптивни показатељи АДП вредности према групи и времену

		Просечна вредност ± стандардно одступање	Медијана
АДП	Контролна	638,40±303,81	575,5
	ХБО терапија	592,09±303,81	516,5
	Пре	688,38±335,81	667
	После	528,49±339,72	477

Анализа применом генерализованих процењивачких једначина показала је статистички значајну интеракцију између групе и времена за АДП ($\beta = -243,6$; 95% CI $-317,0$ до $-170,2$; $p < 0,001$), што указује на значајно веће смањење АДП вредности у експерименталној групи у поређењу са контролном групом, независно од антиагрегационе

терапије, дијабетеса, пушења и ЦРП-а. Процењене маргиналне средине показују изражен пад АДП вредности у експерименталној групи након интервенције, док у контролној групи није забележена значајна промена.

ХБО терапија је повезана са статистички значајним и клинички релевантним смањењем АДП-индуковане агрегације тромбоцита у односу на контролну групу.

4.6.3 ТРАП

У циљу процене ефекта ХБО терапије на ТРАП-индуковану агрегацију тромбоцита током времена, примењен је модел генерализованих процењивачких једначина, погодан за анализу поновљених мерења и корелисаних података унутар истих испитаника. У модел су укључени фактори групе и времена, као и релевантне коваријате – антиагрегациона терапија, присуство дијабетеса, пушачки статус и вредности ЦРП-а. Анализирана је и интеракција између групе и времена, са циљем испитивања да ли се промене ТРАП вредности током периода праћења разликују између експерименталне и контролне групе. Резултати ове анализе приказани су у Табелама 41-43.

Табела 41. Процена параметри ГЕЕ модела за ТРАП-индуковану агрегацију тромбоцита

Параметар	В	Стандардна грешка	95% Wald интервал поверења		Тест хипотеза		
			Доња граница	Горња граница	Wald Chi-Square	df	p
Константа	609,319	86,7035	439,383	779,254	49,387	1	0,000
Група	373,882	75,2609	226,373	521,391	24,679	1	0,000
Време	330,852	46,6667	239,387	422,317	50,263	1	0,000
Терапија	-69,281	69,9007	-206,284	67,722	0,982	1	0,322
Дијабетес	30,169	70,8256	-108,647	168,985	0,181	1	0,670
Пушење	168,291	69,8023	31,481	305,101	5,813	1	0,016
ЦРП	2,057	2,7018	-3,238	7,352	0,580	1	0,446
Група * Време	-330,916	46,6829	-422,413	-239,419	50,248	1	0,000
Скала	125130						

Табела 42. Процењене маргиналне средине ТРАП вредности према групи и времену у ГЕЕ моделу

Група	Време	Просечна вредност	Стандардна грешка	95% Wald интервал поверења	
				Доња граница	Горња граница
Контролна	Пре	1066,9167	349,62548	381,6633	1752,1700
	После	1066,9811	349,64950	381,6807	1752,2815
ХБО терапија	Пре	1023,9509	355,68861	326,8141	1721,0878
	После	693,0992	351,71667	3,7472	1382,4512

Табела 43. Дескриптивни показатељи ТРАП вредности према групи и времену

		Просечна вредност ± стандардно одступање	Медијана
ТРАП	Контролна	1095,27±307,70	1123
	ХБО терапија	870,22±417,79	857
	Пре	1057,94±341,25	1092
	После	841,35±419,79	856

Анализа применом генерализованих процењивачких једначина показала је статистички значајну интеракцију између групе и времена за ТРАП-индуковану агрегацију тромбоцита ($\beta = -330,9$; 95% CI $-422,4$ до $-239,4$; $p < 0,001$), што указује на значајно веће смањење ТРАП вредности у експерименталној групи у поређењу са контролном групом, независно од антиагрегационе терапије, дијабетеса, пушења и ЦРП-а. Процењене маргиналне средине указују на изражен пад ТРАП вредности у експерименталној групи након интервенције, док у контролној групи није уочена значајна промена.

ХБО терапија је повезана са снажним, статистички високо значајним смањењем ТРАП-индуковане тромбоцитне агрегације у односу на контролну групу.

Табела 44. Налази микробиолошких анализа код испитиваних пацијената

Микробиолошки налаз	Испитивана група n=30	%	Контролна група n=60	%
Стерилан брис	5	16,7%	13	21,7%
<i>Staphylococcus aureus</i>	7	23,3%	12	20,0%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4	13,3%	8	13,3%
<i>Proteus mirabilis</i>	3	10,0%	6	10,0%
<i>Escherichia coli</i>	2	6,7%	5	8,3%
<i>Enterococcus spp.</i>	2	6,7%	4	6,7%
<i>Klebsiella spp.</i>	1	3,3%	3	5,0%
<i>Streptococcus spp.</i>	1	3,3%	3	5,0%
<i>Morganella morganii</i>	1	3,3%	2	3,3%
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0	0,0%	1	1,7%
Мешовита флора / анаеробне бактерије	4	13,3%	3	5,0%
Укупно	30	100,0%	60	100,0%

5 Дискусија

Главни циљ наше студије је био да утврдимо како хипербарична оксигенација делује на локалне параметре на улкусу, али и какве системске ефекте има код пацијената у узанредовалом стадијуму ПАБ. Периферна артеријска оклузивна болест и улкуси који настају у њеном току представљају велики изазов у свакодневној клиничкој пракси. Улкус је последица дуготрајног поремећаја циркулације, слабије оксигенације ткива и смањене способности организма да покрене нормалан процес зарастања. Због тога су ове ране често упорне, споро зарастају и значајно нарушавају квалитет живота пацијената. Ово је разлог зашто је тема нашег истраживања у које је било укључено укупно 90 пацијената, актуелна. Пацијенти са ПАОД често се лече дуго, што показује и наша студија где је просечно трајање улкусне промене је 10.39 месеци. Свако побољшање, чак и када је постепено, може имати велики значај. Смањење величине улкуса, ублажавање бола или повољне промене у биолошким маркерима могу указивати на то да терапија делује не само локално, већ и на шире механизме који учествују у току болести.

У нашем узорку, након четири недеље ХБО терапије, праћене су промене у величини улкуса, интензитету бола, агрегацији тромбоцита и параметрима оксидативног стреса. Овакав дизајн омогућио је да се терапијски ефекат не процењује само на основу локалног изгледа ране, већ и на основу промена које могу указивати на системски одговор организма. Ово нам омогућава да ефекат ХБО терапије сагледамо шире. Не само кроз питање да ли се рана смањује, већ и кроз питање шта се дешава у организму током тог процеса. Ово је посебно важно јер је зарастање ране код пацијената са ПАОД сложен процес. На њега утичу циркулација, стање крвних судова, инфламација, тромбоцитна активност и оксидативни стрес.

ХБО терапија се заснива на повећању парцијалног притиска кисеоника у ткивима, што код хроничних исхемијских рана може имати значајну улогу у покретању репаративних процеса. Ипак, резултати досадашњих истраживања нису увек потпуно уједначени, нарочито код пацијената са комплексном васкуларном болешћу. Управо због тога су потребна додатна истраживања. Наша студија где су пацијенти били изложени притиску кисеоника од 2-2.5 АТА у току 20 експозиција, покушава да допринесе бољем разумевању ефеката ХБО терапије код пацијената са ПАБ. Предност овог рада је и у томе што се не ослања само на један показатељ успеха терапије. У клиничкој пракси пацијента не занима само број или површина улкуса. Важно је и да ли га мање боли, да ли рана показује знаке зарастања, да ли постоји бољи локални одговор и да ли терапија може имати повољан утицај на процесе који стоје у позадини болести.

Тема је зато релевантна и са клиничког и са истраживачког становишта. Она се бави проблемом који је чест, тежак за лечење и веома значајан за свакодневни живот пацијената.

Имајући у виду наведено, резултати наше студије могу допринети бољем разумевању места ХБО терапије у лечењу пацијената са ПАБ и хроничним улцерацијама. Посебно је важно то што су ефекти терапије процењивани кроз више аспеката, чиме се добија реалнији увид у њен потенцијални клинички значај.

5.1 Демографски подаци

Када се погледају демографски подаци ове студије, у нашем узорку преовлађују мушкарци, 68,3% у експерименталној и 73,3% у контролној групи. Просечна старост је око 65 година. Ови подаци се уклапају са досадашњим подацима када су у питању пацијенти са периферном артеријском болешћу и критичном исхемијом екстремитета. Новији радови показују да су пацијенти углавном старији, чешће мушкарци, па се и наши подаци лако уклапају у тај оквир (136,137).

Што се тиче шећерне болести, она је присутна код више од половине наших болесника, 55,0% у експерименталној и 63,3% у контролној групи. Ово је јако важан податак, јер се управо код ових пацијената јављају улкуси који су тежи, спорије зарастају а могућности реваскуларизације су често ограничене (43,73). Такође, сложенија дистрибуција атеросклеротских промена, која је често дифузна, или ограничена на круралне артерије, доприноси лошијим исходима лечења. Литература доследно показује да је критична исхемија екстремитета, код особа са дијабетесом, посебно захтевна клиничка слика, са већим ризиком од неповољног тока болести и ампутације (138,139).

Када су у питању саме улкусне промене, види се да наши пацијенти нису имали мале ни краткотрајне улцерације. Просечна величина улкуса била је $9,69 \pm 7,22 \text{ cm}^2$ у експерименталној и $10,31 \pm 7,85 \text{ cm}^2$ у контролној групи, а просечно трајање $11,15 \pm 12,37$ и $10,00 \pm 6,37$ месеци. И ранији и новији радови показују да су површина ране и њено трајање међу најједноставнијим, али и најкориснијим показатељима колико ће зарастање бити споро или неизвесно (140,141). Податак да улкуси трају месецима указује на то да су ови пацијенти већ на почетку лечења били значајно оптерећени болешћу.

Подаци које смо добили о претходној реваскуларизацији такође доста говоре о тежини болести у нашем узорку. У експерименталној групи 33,3% пацијената је већ имало отворену хирургију, 36,7% ендоваскуларно лечење, а 30,0% није имало опцију за реваскуларизацију. У контролној групи те вредности су 30,0%, 43,3% и 26,7%. Ово говори да је велики део болесника већ прошао кроз неку врсту васкуларног лечења, а да је отприлике трећина била у категорији - без могућности за реваскуларизацију. И то се уклапа у оно што литература описује тј да реваскуларизација остаје основа лечења када је

могућа, док су пацијенти без опције за реваскуларизацију једна од најтежих група за даље лечење са високим ризиком од губитка екстремитета (142–144).

Примена медикаментне терапија такође показује да је ово реална клиничка популација, а не „идеална” студијска група. Статине је користило само 51,7% болесника у експерименталној и 53,3% у контролној групи, док чак 30,0% пацијената у обе групе није имало антиромбоцитну терапију. Аспирин је био најчешћи појединачни лек, 46,7% и 33,3%, док је комбинација аспирина и клопидогрела била присутна код 16,7% и 36,7% болесника. То треба имати на уму када се буду тумачили исходи лечења, јер савремене смернице и водичи јасно стављају антиромбоцитну терапију и статине као прву терапијску линију приликом лечења ПАД (1). Ови подаци о употеби, односно неупотеби лекова могу можда да објасне с једне стране здравствену просвећеност ове популације, а са друге стране могу да се можда тумаче у смислу дугорочне проходности стентова и или графтова код претходно реваскуларизованих пацијената.

Када се све сабере, наши пацијенти доста личе на оно што литература описује код узрапредовале ПАД: старији су, углавном мушкарци, често имају дијабетес, носе велике и дуготрајне улкусе, а велики део њих већ има историју реваскуларизације или уопште нема услова за њу. Због тога је важно да се ефекат ХБО терапије посматра у правом контексту. Она овде није примењена код пацијената са лакшом клиничком сликом, већ код болесника код којих се и иначе очекује споро зарастање и висок ризик од неповољног исхода лечења. Ради се о изузетно тешким, често поливакуларним пацијентима, са придруженим коморбидитетима (21,113).

5.2 Утицај ХБО терапије на агрегацију тромбоцита

У нашем истраживању забележили смо статистички значајно смањење тромбоцитне агрегабилности након примене хипербаричне оксигенотерапије. Агрегацију тромбоцита смо мерили Multiplate анализатором кроз ASPI, ADP и TRAP тестове. За статистичку обраду смо користили модел помоћу кога смо узели у обзир и кориговали утицај стандардне антиагрегационе терапије коју су пацијенти већ користили. Поред тога, као збуњујуће варијабле смо користили и пушење, дијабетес и ниво ЦРП-а. Такође, додатно је спроведена анализа осетљивости у подгрупи пацијената са АСПИ > 1,4, како би се проценила стабилност добијених резултата. Овакав налаз је јако важан, јер су болесници са периферном артеријском оклузивном болешћу хронично изложени атеротромботском ризику, а код њих је често и поред примене аспирина и/или P2Y12 инхибитора присутна резидуална тромбоцитна реактивност.

Савремени систематски прегледни радови посвећени тестирању тромбоцита код популације са ПАБ указују да „резистенција“ на антиагрегациону терапију није ретка појава и да може бити повезана са неповољнијим клиничким исходима, укључујући већу потребу за поновном реваскуларизацијом и већи ризик од губитка екстремитета (81,82).

Имајући то у виду, употреба Multiplate анализатора у нашем раду представља методолошку предност јер нам импедансна агрегометрија у пуној крви омогућава да се тромбоцитна функција процењује у условима који су ближи реалној хемодинамској и биолошкој средини него код изолованих експерименталних система. За разлику од светлосне агрегометрије, која процењује агрегацију тромбоцита у плазми богатој тромбоцитима на основу пораста трансмисије светлости, Multiplate мери агрегацију у пуној крви тако што региструје пораст електричне импедансе услед адхезије и агрегације тромбоцита на електродама. (145–147). Ово је важно зато што код ПАБ тромбоцитна реактивност није независан феномен, већ део ширег патофизиолошког механизма који укључује ендотелну дисфункцију, хроничну инфламацију, оксидативни стрес и хемореолошке поремећаје. Зато је у оваквој популацији боље користити метод који мери агрегацију у пуној крви, односно метод који чува интерреакцију тромбоцита са факторима плазме, еритроцитима и леукоцитима. Прегледни радови који су испитивали агрегацију тромбоцита код пацијената са ПАБ додатно наглашавају да, иако не постоји потпуни консензус о идеалном тесту, методе као што је Multiplate имају место у процени резидуалне реактивности и потенцијалног терапијског одговора. Такође се наводи да је интерпретација ових резултата увек потребна уз сагледавање клиничког аспекта пацијента(67,82).

Наш налаз да је ХБОТ повезана са падом ASPI, ADP и TRAP одговора, не треба сматрати неочекиваном појавом, али ни коначним доказом одређеног механизма. Старија литература о утицају хипербаричне оксигенације на тромбоците дуго је била неуједначена са закључцима. У неким експерименталним условима, посебно *in vitro* и на изолованим тромбоцитима здравих добровољаца, акутна хипероксија доводила је до пораста агрегације или ослобађања тромбоцитних протеина. Shaw и сарадници су ово тумачили у раду из 2009. године као потенцијално проагрегационо дејство хипероксије (148). Насупрот томе, у старијим *in vivo* моделима и појединим анималним студијама описан је и супротан смер промене, односно пад ADP- и колагеном индуковане агрегације после излагању ХБО терапији (149). Овакви, неусаглашени налази, не морају да значе да је ефекат ХБОТ-а на тромбоците непредвидив. Пре би се могло рећи да одговор тромбоцита на ову терапију зависи од више фактора. Важну улогу у томе има сам профил испитаника. Није исто да ли се испитују здраве особе или пацијенти са хроничним обољењем. Такође, значајно је да ли се посматра реакција након једне експозиције или после више узастопних третмана. На добијене резултате може утицати и избор методе, односно да ли се анализа спроводи на изолованим тромбоцитима или у пуној крви. Поред тога, треба имати у виду и почетно стање организма. Степен инфламације, израженост оксидативног стреса и присуство ендотелне дисфункције могу значајно да одреде начин на који тромбоцити реагују на ХБОТ. Због тога се разлике међу студијама могу разумети као последица различитог клиничког и биолошког контекста, а не као доказ несталног или нејасног деловања саме терапије.

Управо се овде се наши резултати уклапају у шири патофизиолошки оквир хроничне периферне исхемије. Код болесника са ПАБ тромбоцити нису „нормални“ тромбоцити изложени кисеонику у експерименталној посуди. Они су део хронично

измењеног васкуларног окружења у коме су присутни хипоксија, локална и системска инфламација, ендотелно оштећење и поремећена микроциркулација (55,150,151). У таквим условима је сасвим могуће да контролисана хипербарична оксигенација не доводи до појачане активације, већ напротив, до ублажавања оних стимулуса који одржавају хроничну тромбоцитну хиперреактивност. Овакво тумачење је у складу са налазима студије спроведене код пацијената са дијабетесом типа 2, у којој је примена ХБОТ-а била праћена смањењем појединих параметара колагеном индуковане агрегације тромбоцита. Аутори су ове резултате посматрали као могући повољан ефекат ХБОТ-а на тромбоцитну хиперреактивност у условима хроничног метаболичког поремећаја (152). Иако тај рад није спроведен код пацијената са ПАБ, ова два стања деле сличну патофизиолошку основу, јер су у оба присутни коморбидни услови који погодују ендотелној дисфункцији, појачаном оксидативном стресу и повећаној тромбоцитној реактивности.

Могући механизми оваквог дејства ХБОТ су вероватно вишеструки. Најпре, повећање парцијалног притиска кисеоника у плазми може ублажити ткивну хипоксију а то смањује локалне стимулусе за активацију ендотела и секундарну тромбоцитну реактивност. Друго, ХБОТ утиче на микроциркулацију, што је од посебног значаја у ПАБ, где клиничка слика не зависи само од макроваскуларне оклузије него и од стања дисталне перфузије (105,153). Поред директног утицаја на оксигенацију ткива, ХБОТ се у новијој литератури све више посматра као терапија која може да делује и преко сложенијих биолошких механизма. Ти механизми укључују промене у редокс равнотежи, NO сигнализацији, ангиогенези и одговору ткива на исхемијско-реперфузиону повреду. Сви ови процеси могу, бар делимично, да утичу и на однос између ендотела и тромбоцита. Због тога се промене у агрегацији тромбоцита након ХБОТ-а не морају тумачити изоловано, већ у ширем васкуларном и метаболичком контексту (154). Када се ови механизми посматрају као целина, пад агрегабилности који смо уочили у нашем раду делује биолошки сасвим вероватно, нарочито код пацијената који су већ примали стандардну антиагрегациону терапију.

Значај овог налаза постаје још већи када се доведе у везу са литературом која показује да су тромбоцити код болесника са ПАБ хронично активирани у већој мери него код здравих испитаника. Рад Cassar-а и сарадника показао је да је тромбоцитна активација појачана код пацијената са периферном артеријском болешћу у односу на контроле (155). Касније студије и прегледни радови су додатно проширили ову слику и показали да резидуална реактивност током терапије антиагрегационим лековима, може да има прогностички значај. Ово је нарочито показано после ендоваскуларне реваскуларизације екстремитета (82,156). Посматрано у том контексту, наши резултати указују на то да ХБОТ, као допуна стандардној терапији, може да утиче на тромбоцитну хиперреактивност, један од важних патофизиолошких механизма ПАБ.

Ипак, у тумачењу ових резултата треба бити опрезан. Наше истраживање не показује да пад ASPI, ADP и TRAP вредности значи и мањи број тромботских догађаја, мањи ризик од рестенозе стента или графта или боље дугорочно очување екстремитета. За такве закључке биле би неопходне веће студије и дуже праћење болесника, како би се лабораторијске промене могле поуздано повезати са клиничким исходима. Ипак, оно што наши резултати отварају као важно питање јесте могућност да се ХБОТ код ПАБ не

посматра само као локална допунска терапија за хроничну рану, већ и као приступ који би могао да утиче на биологију саме болести.

5.3 Утицај ХБО терапије на зарастање (величину) улкуса

Један од клинички важних аспеката нашег истраживања била је и процена улкусне промене. У нашем раду није показано статистички значајно смањење величине улкуса у посматраном периоду, али је код више пацијената локални клинички налаз ипак деловао боље. То је важно нагласити, јер одсуство статистички значајне разлике у површини ране не значи и одсуство терапијског ефекта. Велики утицај на само зарастање има и адекватно превијање локални третман ране. Код хроничних исхемијских улкуса, нарочито у оквиру ПАБ и дијабетеса, морфолошки одговор ране често није могуће у потпуности видети само на основу једног параметра, као што је на пример површина. Ово је знатно више изражено када се мерења врше у релативном кратком верменском периоду. У клиничкој процени ране побољшање се не мора увек прво испољити кроз јасно смањење њене површине. Понекад се повољан ток зарастања раније уочава кроз промену изгледа саме ране и околног ткива. То може подразумевати мање фибринских наслага, слабију секрецију, здравије и виталније ивице, појаву израженијег гранулационог ткива, као и смиривање инфламације у регији улкуса.(157–159) Због тога изостанак статистички значајног смањења површине улкуса у кратком периоду праћења не искључује могућност стварног клиничког побољшања (160).

Ови наши налази се слажу и са многим досадашњим истраживањим у овој области. Систематски преглед и мета-анализа Brouwer и сарадника, из 2020. године, који су се посебно бавили дијабетесним улкусима удруженим са артеријском инсуфицијенцијом, показали су да ХБОТ може бити повезана са мањим ризиком од великих ампутација. Такође су закључили и да је ефекат на само зарастање ране остао недовољно јасан. Разлог за овакав закључак може да буде и то што су различите студије користиле различите критеријуме и различите начине мерења величине, па су резултати остали неуједначени (98). Ово је важно имати у виду при тумачењу наших резултата. ХБОТ се вероватно не може посматрати као метода лечења која у кратком року доводи до наглог смањења сваке хроничне ране. Реалније је да претпоставимо да код одређених, добро одабраних пацијената, ХБО доприноси побољшању локалних услова у рани. Овде се најпре мисли на оксигенацију, стање микроциркулације, редокс статус односно окружење, инфламаторни статус као и гранулације. Ипак, такво побољшање иако постоји, не мора одмах да се одрази и на статистички значајно смањење површине улкуса. Овај став је још више могућ уколико се упоређују мерења која су извршена у кратком временском периоду.

Код ових пацијената и сама динамика ране је врло специфична. Улкуси који су дуже присутни, већи, дубљи и клинички тежи често захтевају дужи период да би показали морфолошки значајан одговор него што је обухваћено нашим протоколом (141,160,161). Одсуство статистички значајног смањења површине улкуса у нашем раду, не треба тумачити као доказ да ХБОТ није имала никакав утицај. Боље би било рећи да није доказано значајно смањење величине ране, али да су клинички знаци локалног побољшања указивали на могући позитиван ефекат на понашање улкуса. Клинички бољи

локални налаз сугерише да је правац промене био добар, али да обим узорка, дужина праћења или хетерогеност самих рана нису омогућили да се та промена покаже као статистички значајна у анализи величине улкуса. На сликама 3 и 4, приказани су репрезентативни примери локалног побољшања ране пре и после ХБО терапије. Такође треба имати у виду да зарастање хроничне исхемијске ране зависи од више фактора - не само од локалне оксигенације, већ и од инфекције, гликорегулације, притиска на рану, опште нутритивне подршке и бројних коморбидитета, како се и наводи у литератури (109,162,163).



С

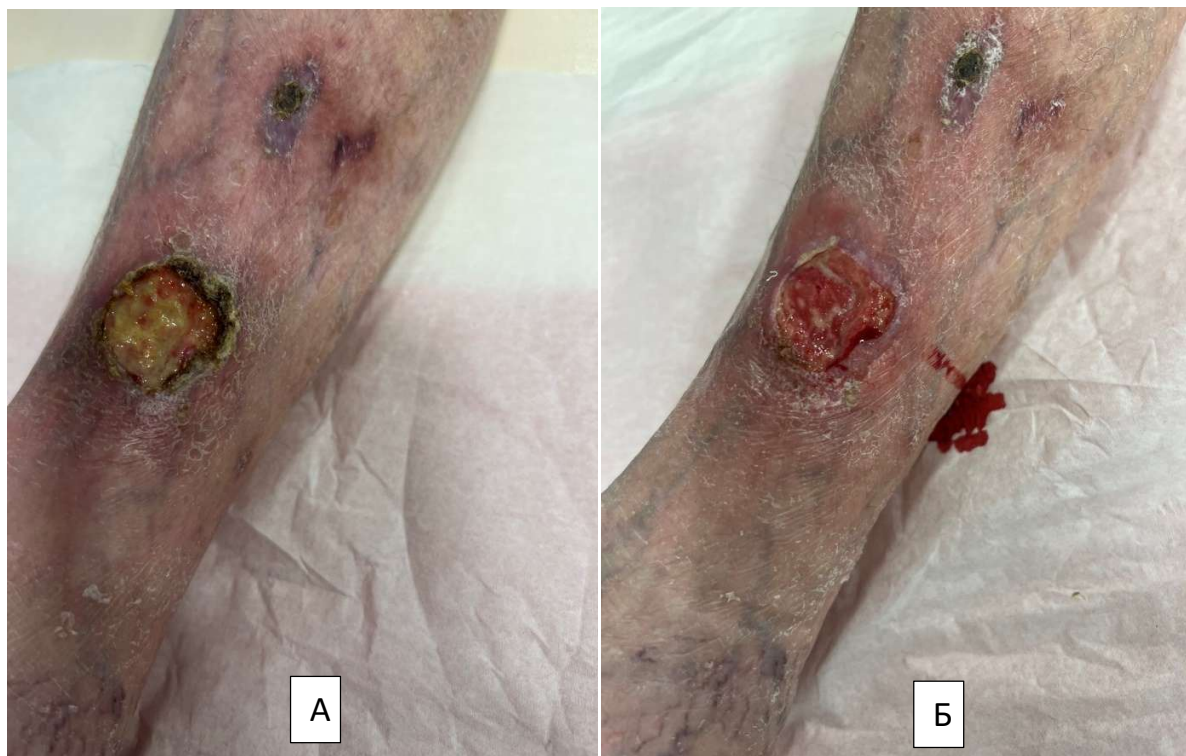
лика
број 3:
Репре
зентат
ивни
приме
р
клини
чког
побољ
шања
локал
ног
налаза
на
улкус

ној промени пре и после ХБО терапије А-пре, Б - после

Још један аргумент који иде у прилог оваквом тумачењу јесте чињеница да литература о ХБОТ све више указује на то да њен ефекат на рану није тако једноставан. У клиничким и транслаторним студијама описано је да ХБОТ може да утиче на оксидативни стрес, али и да повољно делује на експресију фактора раста и локалне услове за репарацију (104,164). Ово је разлог, зашто би у будућим истраживањима било важно укључити и друге клиничке исходе у смислу зарастања ране. То подразумева процену гранулационог ткива, локалне секреције, након тога фото-документација са стандардизованим скорингом, време до потпуне епителизације, као и потреба за мањим или већим хируршким интервенцијама. То би могло можда са већом сигурношћу да нам да став о томе како ХБО терапија у ствари делује на улкусе. Ако се ХБОТ процењује само кроз краткорочну промену површине улкуса, постоји могућност да се њен стварни клинички значај не сагледа у потпуности.

Микробиолошки налази брисева рана код пацијената са периферном артеријском оклузивном болешћу лечених хипербаричном оксигенотерапијом показују да је бактеријска колонизација/инфекција рана била присутна код већине испитаника у обе групе. Стерилан брис је забележен код 16,7% пацијената у испитиваној групи и код 21,7% у контролној групи, што указује да су ране чешће биле микробиолошки позитивне него стерилне. Најчешће изоловани микроорганизам у испитиваној групи био је *Staphylococcus aureus* са учесталošћу од 23,3%, док је у контролној групи заступљен са 20,0%. Овај налаз је очекиван, имајући у виду да је *S. aureus* један од најчешћих узрочника инфекција коже и меких ткива. Значајно место заузима и *Pseudomonas aeruginosa*, који је у обе групе изолован у истом проценту од 13,3%, што може указивати на присуство хроничних, теже зарастајућих рана. Учесталост изолације *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*, *Enterococcus* spp., *Klebsiella* spp. и других бактерија била је релативно слична у обе групе, без изражених разлика. Мешовита флора и анаеробне бактерије биле су чешће присутне у испитиваној групи, 13,3%, у односу на контролну групу, 5,0%, што може указивати на комплекснију микробиолошку слику рана код пацијената који су били подвргнути НВО терапији.

У целини, резултати показују да се микробиолошки спектар изолованих узрочника у испитиваној и контролној групи значајно не разликује, али да су код пацијената лечених хипербаричном оксигенотерапијом нешто чешће присутне мешовите инфекције. Ови налази указују на потребу редовног микробиолошког праћења рана, посебно код пацијената са PAOD, јер смањена перфузија може допринети већем ризику од инфекције и споријем зарастању.



Слика број 4: Репрезентативни пример клиничког побољшања локалног налаза на улкусној промени пре и после ХБО терапије А-пре, Б - после

Иако је микробиолошки налаз у нашој студији, иницијално планиран као потенцијална збуњујућа варијабла приликом мерења површине улкуса, због хетерогености изолованих микроорганизама и релативно малог укупног броја испитаника није било могуће спровести поуздану мултиваријантну анализу. Наиме, код испитаника је изоловано више различитих бактеријских врста, са неуједначеном учесталošћу појединачних изолата, док је код дела пацијената брис био стерилан. Оваква расподела довела би до формирања малих подгрупа, што би значајно смањило статистичку снагу и поузданост процене независног ефекта микробиолошког налаза на ток зарастања ране.

Због тога је микробиолошки налаз приказан дескриптивно и упоређен између група, али није укључен као коваријанта у финални статистички модел.

Када се све узме у обзир, у посматраном периоду није доказано статистички значајно смањење величине улкуса, али су клинички уочене промене локалног налаза биле добре. То клинички указује да ХБОТ може имати ефекат на биолошко понашање хроничне ране и да би дужи период праћења и већи број пацијената можда омогућили јасније квантитативно потврђивање, или дефинитивно оспоравање, ефеката ХБО терапије.

А до тада, ово питање, ако се осврћемо на досадашњу литературу, остаје без јасног одговора.

5.4 Утицај ХБО терапије на бол

Поред промене лабораторијских параметара, у нашем раду смо забележили и значајно смањење бола, мерено ВАС скалом, након примене ХБОТ. Тај налаз може има реалан клинички значај, јер код пацијената са узнатредовалом периферном артеријском оклузивном болешћу, бол није споредан симптом, већ једна од главних тегоба које пацијент наводи. Он је директно повезан са исхемијом у миру, поремећајем микроциркулације, хроничном инфламацијом, често и са присуством улкусне промене, па утиче не само на субјективни доживљај тегоба већ и на покретљивост, сан, психолошко стање и укупни квалитет живота (165,166). У том смислу, смањење ВАС-а у нашем истраживању може се посматрати, већ као клинички релевантан показатељ да је дошло до бар делимичног ублажавања патофизиолошких механизма који одржавају хронични исхемијски бол.

Иако литература о аналгетском ефекту ХБОТ није заснована популацији ПАБ, у последњих неколико година све је више доказа да ХБОТ може довести до смањења бола у различитим хроничним стањима. То не значи да резултате из других области треба аутоматски преносити оболеле од перифрени артеријске болести, али ти радови су нам важни јер подржавају биолошку вероватноћу да ХБОТ заиста може имати аналгетски ефекат, што је у складу са нашим резултатима. На пример, код пацијената са фибромијалгијом систематски преглед и мета-анализа из 2023. године указали су да ХБОТ може довести до смањења бола, умора, побољшања сна и укупног функционалног статуса, иако је хетерогеност ових студија остала значајна (167,168). Слично томе, рандомизована студија код пацијената са фибромијалгијом након трауматске повреде мозга показала је да је ХБОТ била повезана са побољшањем тегоба у смислу болова и квалитета живота (169). Иако су те популације различите од наших пацијената, заједничко им је то што су у питању хронична стања у којима бол није само последица једног механичког фактора, већ резултат сложене интеракције ткивне хипоксије, инфламације, метаболичког стреса и промене неуроваскуларне регулације.

У нашој популацији бол је највероватније био доминантно исхемијског и инфламаторног порекла. Код хроничне периферне исхемије бол се развија у условима нарушене оксигенације ткива. Услед пада кисеоника у ткиву, долази до појаве ацидозе, микроваскуларне дисфункције и хроничног инфламаторног одговора. Када су присутне улкусне промене и инфекција, тај спој се додатно усложњава болним одговором на периферији (165,170). Из тог разлога, терапија која побољшава локалну оксигенацију и мења микроциркулаторно окружење може да има биолошку основу да доведе и до аналгетског ефекта. Зато смањење ВАС-а у нашем раду не треба посматрати само као

субјективни осећај мањег бола, већ и као могући знак да је у исхемичном ткиву дошло до одређене биолошке промене у смислу побољшања.

Овакво тумачење додатно подржавају и радови из области пост-COVID синдрома. У рандомизованој студији код пацијената са пост-COVID стањем, ХБОТ је довела до побољшања неурокогнитивних функција и симптома, између осталог и бола, што су аутори повезали са побољшањем церебралне перфузије, неуропластичности и смањењем дисфункције енергетског метаболизма (171). Новији подаци о дугорочнијим исходима ХБОТ код пацијената код којих је COVID дуго трајао, иду у сличном правцу, указујући на могућност побољшања квалитета живота, психијатријских симптома и бола (172). Иако овде такође није реч о ПАБ, ови радови су корисни јер показују да ХБОТ може утицати на хроничне симптоме бола

Код наших пацијената је, међутим, највероватније доминантна била периферна, а не централна компонента аналгетског ефекта. Повећан парцијални притисак кисеоника у плазми током ХБОТ може да побољша дифузију кисеоника у исхемична ткива, смањи ткивну хипоксију и повољно утиче на микроциркулационо окружење. Поред тога, ХБОТ може да модулише инфламаторне и redox путеве, што потенцијално доприноси смањењу стимулуса који одржавају бол у хронично исхемичном ткиву (173).

Не треба запоставити ни наш резултат да смањење ВАС-а није било изолован налаз. Оно се појавило паралелно са смањењем тромбоцитне агрегабилности и без знакова системске инфламаторне реакције. Та комбинација резултата повећава вероватноћу да се ради о клиничком ефекту. Када се у једној студији истовремено бележи пад бола, повољан помак у тромбоцитној функцији и одсуство пораста инфламаторних маркера, могуће је да је дошло до реалног патофизиолошког побољшања у субјективном мерењу. За потврду ових тврдњи, наравно потребне су веће рандомизоване студије.

5.5 ХБО терапија и инфламација

Наредни сегмент нашег истраживања односи се на инфламаторни одговор организма приликом излагања ХБО терапији. У нашем раду ХБОТ није довела до пораста Ц-реактивног протеина нити односа тромбоцита и лимфоцита. Ово може указивати да ХБО терапија, по протоколу који смо ми применили, није била повезана са проинфламаторном одговором организма код пацијената са ПАБ. То може да буде важан налаз, јер се теоријски могло претпоставити, на основу неких студија, да контролисана хипероксија којој је изложена одређена група људи, а преко пораста оксидативног стимулуса, може да изазове и пролазан пораст маркера запаљења (174). Наши резултати то не подржавају. Они се боље уклапају у концепт ХБОТ као имуно-модулаторне, а не проинфламаторне терапије (174).

Иако ЦРП и PLR нису најспецифичнији могући а и једини маркери инфламације, њихова стабилност није без значаја. Из литературе знамо је да је ЦРП добар показатељ системске инфламације и код кардиоваскуларних болести има шире значење од инфекције. (176). PLR се, с друге стране, све чешће користи као приступачан и клинички практичан индиректни маркер инфламаторно-тромботског ризика. У различитим хроничним кардиоваскуларним и системским болестима виши PLR је повезиван са тежим клиничким током и већим степеном инфламације (177,178). Зато, одсуство пораста ова два параметра после ХБОТ додатно подржава безбедносни профил протокола који смо применили. Наши налази се уклапају и са резултатима новијим клиничким радовима и у хроничним ранама друге етиологије, пре свега код дијабетесног стопала. У студији Ersan и сарадника из 2024. године, ХБОТ је била повезана са повољним променама појединих хематолошких и биохемијских параметара, укључујући и CRP, што су аутори тумачили као могући одраз смањене инфламације током лечења хроничних рана (179,180). Овај рад је користан за поређење са нашим резултатима, јер показује да ХБОТ у хронично упаљеним и метаболички компромитованим ткивима не мора изазивати системски инфламаторни одговор. Напротив, код одређених пацијената, може бити праћена стабилизацијом инфламаторних параметара.

Слични резултати, описани су и у студијама које су се такође бавиле биомаркерима зарастања код пацијената са улкусом који су оболели од дијабетеса. У раду Сарó и сарадника показано је да је ХБОТ била повезана са смањењем оксидативног стреса и инфламаторног одговора и повећањем фактора раста захваљујући којим долази до репарације ткива (104). Овакав налаз је важан не само зато што указује на могући локални биолошки ефекат, већ и зато што показује да је одговор на ХБОТ вероватно шири од просте промене једног лабораторијског параметра. Он обухвата утицај на више повезаних путева - инфламаторних, оксидативних и репаративних.

Генерално посматрано, тумачење, као и сам инфламаторни одговор на ХБОТ није увек тако једноставан и униформан. У једној новијој претходној студији код пацијената са

дијабетесним улкусима показано је да ХБОТ може да доведе до сложенијих промена у генској експресији појединих медијатора инфламације. Неки путеви су били појачани, неки ослабљени, док је клинички исход био повољан. Аутори су то тумачили као „фино подешавање“ инфламаторног одговора, а не као просто појачање или супресију инфламације (181,182).

Подаци из других хроничних инфламаторних болести такође показују сличне резултате. Код пацијената са Кроновом болешћу, примена ХБОТ је показала пад CRP-а и IL-6. Такође, дошло је побољшања цревне хомеостазе и модулације цревне флоре (183). Иако ови пацијенти немају везе са пацијентима који болују од ПАБ, то показује чињеницу да ХБОТ у различитим хроничним инфламаторним стањима не делује као стимуланс системске упале. Више може да се посматра као терапијска метода која мења инфламацију у позитивном смеру.

Одсуство пораста CRP-а и PLR-а не треба да нас наведе на закључак да је инфламаторни одговор био потпуно непромењен, већ пре да није дошло до системске проинфламаторне реакције. Могуће је да су се на локалном нивоу дешавале суптилније промене које наши маркери нису могли у потпуности да обухвате.

5.6 Утицај ХБО терапије на оксидациони стрес

Најкомплекснији део за тумачење резултата у нашем истраживању односи се на резултате оксидационог стреса. Ово је једним делом очекивано јер се ХБОТ заснива на контролисаној хипероксији. Када се организам изложи таквим условима, очекивано је да ће неки од параметара оксидационог стреса реаговати. То значи да краткотрајни пораст појединих прооксидативних сигнала не мора аутоматски значити штетно дејство, већ може бити део адаптивног механизма који активира антиоксидативне и цитопротективне путеве. Овакви ставови су све више заступљени у савременој хипербаричној медицини. Рад Thom-а још раније је указао да је оксидативни стрес суштински део биолошког дејства ХБОТ, али то не мора да значи искључиво негативан ефекат, већ да служи као покретач низа ефеката који могу бити терапијски значајни (184).

Наши резултати показују да је код пацијената са ПАБ након ХБО терапије дошло до пада супероксид анјон радикала, уз истовремени значајан пораст SOD и TBARS, док H₂O₂, NO₂⁻, CAT и GSH нису показали статистички значајне разлике. Оваква комбинација налаза може да се тумачи као делимично модулисан *redox* одговор, а не као једносмерна прооксидативна или антиоксидативна промена. Савремена литература све јасније показује да у ПАБ оксидативни стрес није споредна појава него један од основних патофизиолошких механизма. Оксидациони стрес делује тако што оштећује ендотел, ремети NO сигнализацију и ремети микроваскуларно окружење. Allen и сарадници су у раду из 2024. године нагласили да ПАБ треба посматрати као *redox*-поремећај исто

онолико колико и као хемодинамски поремећај у смислу стенозе артерија (62). Због тога, реално је очекивати да код пацијената са ПАБ који се изложе ХБО терапији, контролисана хиперооксија покрене сложен редокс одговор. Познато је да је ПАБ сам по себи стање повишеног оксидативног стреса, са појачаном продукцијом реактивних кисеоничних врста и поремећеном антиоксидативном одбраном, што доприноси васкуларној и мишићној дисфункцији (55,57).

Пад супероксид анјон радикала у нашем истраживању, може да се посматра позитивним налазом. Разлог за такво мишљење је јер је супероксид један од кључних ROS молекула који учествује у развоју ендотелне дисфункције. Он делује тако што смањује биорасположивост азот-моноксида и тако погоршава вазодилатацију. Ово је посебно важно у нашој популацији са ПАБ, где је оксидациони стрес врло повезан са инсуфицијенцијом артеријског система (55,185).

Истовремени пораст SOD добро се уклапа у пад супероксид анјон радикала, јер SOD представља прву линију ензимске антиоксидативне заштите. SOD катализује промену супероксида у водоник-пероксид и кисеоник. Због тога повећање активности или концентрације SOD после НВО може указивати на покретање антиоксидативне одбране, односно на ефикасније уклањање супероксида (186,187). Такав механизам је у складу са радовима који показују да НВО може да индукује експресију антиоксидативних гена, а не делује искључиво као штетан прооксиданс (68,188). Такође, постоје радови који показују да код пацијената са ПАБ долази до пораста SOD након примене клопидогрела (189). То нам указује да су маркери оксидативног стреса у овој популацији јако осетљиви.

Овакво тумачење се поклапа са подацима да поновљене експозиције ХБО терапији не мора увек да доведу до системског оксидативног стреса. Оне могу покренути контролисан адаптивни одговор. Код здравих добровољаца показано је да поновљена ХБО терапија, није изазвала системски оксидативни стрес ни системски инфламаторни одговор, што сугерише да хипероксија у контролисаним условима не мора нужно имати штетан редокс ефекат (68,190).

С друге стране, значајан пораст TBARS у нашој студији указује да је, упркос паду супероксида, дошло до појачане липидне пероксидације. То не мора да се посматра контрадикторно претходним налазима. ХБО може истовремено да активира антиоксидативне механизме и да у одређеној мери повећа оксидативно оптерећење мембранских липида. Ово је нарочито изражено у ткивима која су хронично изложена исхемији. Другим речима, могуће је да је код наших пацијената дошло до мешовитог редокс одговора: смањења једног високо реактивног ROS молекула, али и истовремене појаве секундарних производа оксидативног оштећења липида (68,191) Неке клиничке контролисане студије, показују резултате супротне од оних које смо ми добили. У раду из 2024. године, уочено је да је ниво TBARS био повишен код пацијената са дијабетесним стопалом и пре и након излагања ХБО терапији, без значајне разлике између ова два тренутка (192). Због тога је могуће да ефекти ХБО терапије на липидну пероксидацију нису увек исти. Они могу да зависе од почетног редокс статуса ткива, степена хроничне исхемије и основне болести, због чега се у различитим клиничким условима могу регистровати и различити обрасци промене TBARS.

Чињеница да H_2O_2 није показао статистички значајну промену може се објаснити равнотежом између његовог настанка и уклањања. Ако је пораст SOD убрзао претварање супероксида у водоник-пероксид, али су истовремено били активни механизми за даљу детоксикацију пероксида, укупна концентрација H_2O_2 могла је да остане релативно стабилна (193,194). Ниво H_2O_2 у нашем истраживању није се значајно мењао, али то не значи да он нема улогу. Разлог за то да није било значајне промене, може да буде или горе наведен механизам неутралисања или да су, са друге стране, његове промене можда врло суптилне и тешко ухватљиве методама које смо ми користили. Зато су потребна даља истраживања са прецизнијим техникама како би се његов значај боље разјаснио (193).

Што се тиче каталазе и GSH, у нашем истраживању су забележени слични резултати као и за пероксид. Такав налаз може да се тумачи као одсуство израженијег померања антиоксидативне одбране у крви, упркос томе што је оксидативни стрес важан део саме патофизиологије периферне артеријске болести. Другим речима, ХБО у нашим условима није довео до мерљивог одговора ова два параметра, што не мора значи да терапија није имала биолошки ефекат, већ пре да каталаза и GSH нису били довољно осетљиви маркери за промене које су се евентуално десиле у овој популацији. (57) Наши резултати се слажу са резултатима из појединих радова. Dennog и сарадници су показали да након излагања хипербаричном кисеонику активност каталазе и ниво редукованог глутатиона нису били значајно промењени, што говори да одговор антиоксидативног система на ХБО није увек јасно видљив. Слично томе, у новијем раду код пацијената са дијабетесним стопалом након ХБО терапије анализирани редокс параметри током студије нису показали значајне промене, иако су каталаза била виша у односу на здраве контроле (192,195).

Налаз да NO_2 није значајно промењен такође је биолошки прихватљив. У ПАБ је хомеостаза NO већ нарушена као последица оксидативног стреса. Подаци из клиничке студије пацијената са васкулопатијом лечених ХБО показују да се серумски нивои NO код већине испитиваних група нису значајно мењали након терапије. То може да нам укаже да системски нитритни маркери могу остати без значајних промена чак и када дође до промена у другим сегментима редокс и васкуларног одговора (55,196).

Наши резултати укупно указују да ХБО терапија код пацијената са ПАБ доводи до различитих промена у редокс процесу у зависности од параметра који се посматра. Пад супероксид анјон радикала уз пораст SOD говори у прилог активацији антиоксидативне одбране, док истовремени пораст TBARS указује да оксидациони стрес и даље може бити присутан у условима хроничне исхемије. Поред тога, уочили смо да није било значајних промена у H_2O_2 , NO_2^- , каталазе и GSH. То може да нам каже да одговор на ХБО терапију није генерализован, него зависи од више фактора. Због тога се може закључити да ХБО код ових пацијената вероватно делује као модулатор редокс равнотеже, без јасног прооксидативног ефекта, имајући у виду већи значај налаза супероксид анјон радикала и SOD у односу на TBARS гледајући редокс процес уопште.

Клиничке импликације

Клинички значај наших резултата може се сагледати из више углова. У целини, они указују да код одређених пацијената са ПАБ, хипербарична оксигенотерапија (ХБОТ) може имати ефекте који превазилазе уски оквир деловања на само зарастање улкусне промене. Ако је ХБОТ повезана са смањењем бола и смањеном агрегацијом тромбоцита, без индукције системске инфламације, бар на основу маркера који су праћени у нашој студији, онда њена улога може бити шира него што се традиционално претпоставља. То, наравно, не значи да ХБОТ треба посматрати као замену за реваскуларизацију, антиагрегациону терапију, статине или контролу фактора ризика. Њена вредност вероватно лежи у адјувантној улози, односно у томе што може да утиче на поједине патофизиолошке механизме који нису у потпуности обухваћени стандардном терапијом.

Друга важна клиничка импликација односи се на бол. Код хроничне периферне исхемије смањење бола није само питање комфора, већ директно утиче на функционални статус пацијента, покретљивост, сан, психичко оптерећење и способност да поднесе ток болести и лечење. Ако ХБОТ има аналгетски ефекат, то представља важан аргумент за њену примену, чак и када у кратком року нема изразитог побољшања свих макроваскуларних или морфолошких параметара ране. У клиничкој пракси, посебно код пацијената са хроничним исхемијским болом и улкусима, то може значајно утицати на свакодневно функционисање и квалитет живота.

Важна клиничка импликација односи се и на зарастање ране. Иако није утврђен статистички значајан ефекат ХБОТ-а у погледу смањења површине ране, након терапије је ипак уочен клинички напредак. Он се огледао у повољнијем локалном налазу, бољем изгледу ране и знацима напретка у процесу зарастања. То указује да одсуство статистички значајне разлике не искључује клиничку корист за пацијента

5.7 Ограничења студије и правци будућих истраживања

Иако су ови резултати охрабрујућим, неопходно је задржати научну резерву. Прво, наша студија није дизајнирана да докаже дефинитивни механизам деловања ХБОТ на тромбоците, инфламацију или редокс статус. Ми смо запазили асоцијације и њихову унутрашњу конзистентност, али то само по себи не омогућава коначан узрочно-последични закључак. Друго, временски оквир од четири недеље, праћења вероватно је био довољан да региструје промене код динамичнијих параметара, као што су бол или тромбоцитна функција, али не и да покаже промене код стабилнијих показатеља као што је дугорочни ефекат на зарастање. Треће, када је у питању смањење агрегације тромбоцита, иако смо кориговали утицај стандардне антиагрегационе терапије, присуство дијабетеса, ЦРП и пушачки статус, није могуће у потпуности искључити утицај других клиничких чинилаца, као што су регулисаност дијабетеса, претходне реваскуларизације, дужина трајања хроничне исхемије или фармакогенетика.

Додатно, наша студија није била осмишљена тако да прати јасне клиничке исходе, као што су велике ампутације, дугорочна проходност након реваскуларизације, тромбоза графта или стента и велики кардиоваскуларни догађаји. Зато се на основу уоченог пада тромбоцитне агрегабилности не може директно закључити да ХБОТ доводи и до бољег дугорочног клиничког исхода. Потребне су веће проспективне студије у којима би се истовремено пратили тромбоцитна функција, редокс и инфламаторни биомаркери, васкуларни и микроваскуларни параметри, као и исходи на екстремитету. Тек таква истраживања могла би поузданије да покажу да ли ХБОТ код пацијената са ПАБ има независан антитромботски ефекат који има јасан клинички значај.

Упркос наведеним ограничењима, сматрамо да добијени резултати оправдавају даља истраживања. Наши налази указују на то да ХБОТ код пацијената са ПАБ може бити повезана са смањењем бола и одређеним лабораторијским променама које могу упућивати на смањење тромбоцитне хиперреактивности. Имајући у виду да се ПАБ данас све чешће разматра не само као последица локалног сужења артеријског лумена, већ и као системска атеротромботска и инфламаторна болест, овакви налази могу бити значајни за боље разумевање потенцијалних ефеката ХБОТ у овој популацији пацијената.

6 Закључак

1. Иако није утврђено статистички значајно смањење површине ране након ХБОТ, уочен је евидентан клинички напредак у виду повољнијег локалног налаза, бољег изгледа ране и знакова побољшања у процесу зарастања
2. ХБОТ је повезана са смањењем агрегације тромбоцита, што указује на могући повољан утицај ове терапије на хемостатске механизме и микроциркулацију код пацијената са ПАБ.
3. ХБОТ код пацијената са ПАБ доводи до позитивне модулације редокс равнотеже, која се огледа у смањењу продукције најтоксичнијих про-оксиданаса и порасту активности антиоксидационих ензима, чиме се превенирају даља субћелијска оксидациона оштећења.
4. На основу праћених инфламаторних маркера примена ХБОТ-а није довела до индукције системске инфламације, што указује на релативну безбедност ове процедуре у погледу инфламаторног одговора код пацијената са ПАБ.
5. ХБОТ је повезана са смањењем бола код пацијената са хроничном периферном исхемијом, што има значајне клиничке импликације јер може побољшати покретљивост, сан, функционални статус и квалитет живота пацијената.

7. Библиографија

1. Gornik HL, Aronow HD, Goodney PP, Arya S, Brewster LP, Byrd L, et al. 2024 ACC/AHA/AACVPR/APMA/ABC/SCAI/SVM/SVN/SVS/SIR/VESS Guideline for the Management of Lower Extremity Peripheral Artery Disease: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Joint Committee on Clinical Practice Guidelines. *Circulation* [Internet]. 2024 Jun 11;149(24):e1313–410. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/38743805>
2. Song P, Rudan D, Zhu Y, Fowkes FJI, Rahimi K, Fowkes FGR, et al. Articles Global , regional , and national prevalence and risk factors for peripheral artery disease in 2015 : an updated systematic review and analysis. *Lancet Glob Heal* [Internet]. 2019;7(8):e1020–30. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S2214-109X\(19\)30255-4](http://dx.doi.org/10.1016/S2214-109X(19)30255-4)
3. Criqui MH, Matsushita K, Aboyans V, Hess CN, Hicks CW, Kwan TW, et al. Lower Extremity Peripheral Artery Disease: Contemporary Epidemiology, Management Gaps, and Future Directions: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation*. 2021 Aug;144(9):e171–91.
4. Aday AW, Matsushita K. Epidemiology of Peripheral Artery Disease and Polyvascular Disease. *Circ Res*. 2021 Jun;128(12):1818–32.
5. Agnelli G, Belch JJF, Baumgartner I, Giovass P, Hoffmann U. Morbidity and mortality associated with atherosclerotic peripheral artery disease: A systematic review. *Atherosclerosis*. 2020 Jan;293:94–100.
6. Athavale A, Fukaya E, Leeper NJ. Peripheral Artery Disease: Molecular Mechanisms and Novel Therapies. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2024 Jun;44(6):1165–70.
7. Libby P, Buring JE, Badimon L, Hansson GK, Deanfield J, Bittencourt MS, et al. Atherosclerosis. *Nat Rev Dis Prim*. 2019 Aug;5(1):56.
8. Shamaki GR, Markson F, Soji-Ayoade D, Agwuegbo CC, Bamgbose MO, Tamunoinemi B-M. Peripheral Artery Disease: A Comprehensive Updated Review. *Curr Probl Cardiol*. 2022 Nov;47(11):101082.
9. Wilburn D, Miserlis D, Fletcher E, Papoutsis E, Ismaeel A, Bradley C, et al. Skeletal muscle desmin alterations following revascularization in peripheral artery disease claudicants. *Sci Rep*. 2024 Jun;14(1):12609.

10. Wilburn D, Fletcher E, Papoutsis E, Bohannon WT, Haynatzki G, Zechmann B, et al. Ultrastructural alterations and mitochondrial dysfunction in skeletal muscle of peripheral artery disease patients: implications for early therapeutic interventions. *EXCLI J*. 2024;23:1208–25.
11. Behrooz L, Abumoawad A, Rizvi SHM, Hamburg NM. A modern day perspective on smoking in peripheral artery disease. *Front Cardiovasc Med*. 2023;10:1154708.
12. Xu Y, Pouncey AL, Zhou Z, Woodward M, Harris K. Smoking as a risk factor for lower extremity peripheral artery disease in women compared to men: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2024;19(4):e0300963.
13. Parmar MP, Kaur M, Bhavanam S, Mulaka GSR, Ishfaq L, Vempati R, et al. A Systematic Review of the Effects of Smoking on the Cardiovascular System and General Health. *Cureus*. 2023 Apr;15(4):e38073.
14. Bechara N, Hng T-M, Gunton JE. The association between tobacco smoking and systolic toe pressures in active foot ulceration. *Sci Rep*. 2024 Apr;14(1):8550.
15. Patel SK, Surowiec SM. Intermittent Claudication. In *Treasure Island (FL)*; 2026.
16. Nordanstig J, Behrendt C-A, Baumgartner I, Belch J, Bäck M, Fitridge R, et al. Editor's Choice -- European Society for Vascular Surgery (ESVS) 2024 Clinical Practice Guidelines on the Management of Asymptomatic Lower Limb Peripheral Arterial Disease and Intermittent Claudication. *Eur J Vasc Endovasc Surg Off J Eur Soc Vasc Surg*. 2024 Jan;67(1):9–96.
17. Bethel M, Annex BH. Peripheral arterial disease: A small and large vessel problem. *Am Hear J plus Cardiol Res Pract*. 2023 Apr;28:100291.
18. Conte MS, Bradbury AW, Kolh P, White J V, Dick F, Fitridge R, et al. Global Vascular Guidelines on the Management of Chronic Limb-Threatening Ischemia. *Eur J Vasc Endovasc Surg Off J Eur Soc Vasc Surg*. 2019 Jul;58(1S):S1-S109.e33.
19. Nordanstig J, Behrendt CA, Bradbury AW, de Borst GJ, Fowkes F, Golledge J, et al. Peripheral arterial disease (PAD) - A challenging manifestation of atherosclerosis. *Prev Med (Baltim)*. 2023 Jun;171:107489.
20. Thangada ND, McDermott MM. Exercise Therapy for Peripheral Artery Disease. *Curr Cardiol Rep*. 2024 May;26(5):405–12.
21. Daher G, Upadhyay S, Li J. Chronic Limb-Threatening Ischemia: A Comprehensive Review Paper. *Interv Cardiol Clin*. 2025 Apr;14(2):257–72.
22. Ghirardini F, Martini R. Current Opinion on Diagnosis of Peripheral Artery Disease in Diabetic Patients. *Medicina (Kaunas)*. 2024 Jul;60(7).
23. Cerqueira L de O, Duarte EG, Barros AL de S, Cerqueira JR, de Araújo WJB. Wifi classification: the Society for Vascular Surgery lower extremity threatened limb classification system, a literature review. *J Vasc Bras*. 2020 May;19:e20190070.

24. Alameddine D, Satam K, Slade MD, Cardella J, Aboian E, Guzman RJ, et al. Validation of the Wifl classification in the Vascular Quality Initiative database. *J Vasc Surg.* 2025 Aug;82(2):549-558.e2.
25. Hata Y, Iida O, Asai M, Masuda M, Okamoto S, Ishihara T, et al. Risk Stratification for 2-Year Mortality in Patients with Chronic Limb-Threatening Ischemia Undergoing Endovascular Therapy. *J Atheroscler Thromb.* 2021 May;28(5):477–82.
26. Chuter V, Schaper N, Hinchliffe R, Mills J, Azuma N, Behrendt C-A, et al. Performance of non-invasive bedside vascular testing in the prediction of wound healing or amputation among people with foot ulcers in diabetes: A systematic review. *Diabetes Metab Res Rev.* 2024 Mar;40(3):e3701.
27. Agrawal S, Batta SA, Kamath D, Thomas GA, Boregowda P, Adhyapak SM, et al. Statin Usage in Peripheral Arterial Disease Patients. *J Assoc Physicians India.* 2024 Jun;72(6):54–6.
28. Soyoye DO, Abiodun OO, Ikem RT, Kolawole BA, Akintomide AO. Diabetes and peripheral artery disease: A review. *World J Diabetes.* 2021 Jun;12(6):827–38.
29. Dalla Paola L, Faglia E. Treatment of diabetic foot ulcer: an overview strategies for clinical approach. *Curr Diabetes Rev.* 2006 Nov;2(4):431–47.
30. Bonaca MP, Hamburg NM, Creager MA. Contemporary Medical Management of Peripheral Artery Disease. *Circ Res.* 2021 Jun;128(12):1868–84.
31. Marso SP, Hiatt WR. Peripheral arterial disease in patients with diabetes. *J Am Coll Cardiol.* 2006 Mar;47(5):921–9.
32. Verma S, Leiter LA, Mangla KK, Nielsen NF, Hansen Y, Bonaca MP. Epidemiology and Burden of Peripheral Artery Disease in People With Type 2 Diabetes: A Systematic Literature Review. *Diabetes Ther Res Treat Educ diabetes Relat Disord.* 2024 Sep;15(9):1893–961.
33. Agarwal AK, Singh M, Arya V, Garg U, Singh VP, Jain V. Prevalence of peripheral arterial disease in type 2 diabetes mellitus and its correlation with coronary artery disease and its risk factors. *J Assoc Physicians India.* 2012 Jul;60:28–32.
34. Deng L, Du C, Liu L, Wang Y, Gu H, Armstrong DG, et al. Forecasting the Global Burden of Peripheral Artery Disease from 2021 to 2050: A Population-Based Study. *Res (Washington, DC).* 2025;8:702.
35. Yang S-L, Zhu L-Y, Han R, Sun L-L, Li J-X, Dou J-T. Pathophysiology of peripheral arterial disease in diabetes mellitus. *J Diabetes.* 2017 Feb;9(2):133–40.
36. Petrie JR, Guzik TJ, Touyz RM. Diabetes, Hypertension, and Cardiovascular Disease: Clinical Insights and Vascular Mechanisms. *Can J Cardiol.* 2018 May;34(5):575–84.
37. Pechlivani N, Ajjan RA. Thrombosis and Vascular Inflammation in Diabetes: Mechanisms and Potential Therapeutic Targets. *Front Cardiovasc Med.* 2018;5:1.

38. Koivunen V, Juonala M, Mikkola K, Hakovirta H. Chronic limb threatening ischemia and diabetes mellitus: the severity of tibial atherosclerosis and outcome after infrapopliteal revascularization. *Scand J Surg SJS Off organ Finnish Surg Soc Scand Surg Soc*. 2021 Dec;110(4):472–82.
39. Nickinson ATO, Bridgwood B, Houghton JSM, Nduwayo S, Pepper C, Payne T, et al. A systematic review investigating the identification, causes, and outcomes of delays in the management of chronic limb-threatening ischemia and diabetic foot ulceration. *J Vasc Surg*. 2020 Feb;71(2):669-681.e2.
40. Achim A, Stanek A, Homorodean C, Spinu M, Onea HL, Lazăr L, et al. Approaches to Peripheral Artery Disease in Diabetes: Are There Any Differences? *Int J Environ Res Public Health*. 2022 Aug;19(16).
41. Takahara M. Diabetes mellitus and peripheral artery disease. *Diabetol Int*. 2025 Jan;16(1):7–12.
42. Diehm N, Rohrer S, Baumgartner I, Keo H, Do D, Kalka C. Distribution pattern of infrageniculate arterial obstructions in patients with diabetes mellitus and renal insufficiency - implications for revascularization. *Vasa*. 2008 Aug;37(3):265–73.
43. Hinchliffe RJ, Forsythe RO, Apelqvist J, Boyko EJ, Fitridge R, Hong JP, et al. Guidelines on diagnosis, prognosis, and management of peripheral artery disease in patients with foot ulcers and diabetes (IWGDF 2019 update). *Diabetes Metab Res Rev*. 2020 Mar;36 Suppl 1:e3276.
44. Batty M, Bennett MR, Yu E. The Role of Oxidative Stress in Atherosclerosis. *Cells*. 2022 Nov;11(23).
45. Jomova K, Raptova R, Alomar SY, Alwasel SH, Nepovimova E, Kuca K, et al. Reactive oxygen species, toxicity, oxidative stress, and antioxidants: chronic diseases and aging. *Arch Toxicol*. 2023 Oct;97(10):2499–574.
46. Chaudhary P, Janmeda P, Docea AO, Yeskaliyeva B, Abdull Razis AF, Modu B, et al. Oxidative stress, free radicals and antioxidants: potential crosstalk in the pathophysiology of human diseases. *Front Chem*. 2023;11:1158198.
47. Ngo V, Duennwald ML. Nrf2 and Oxidative Stress: A General Overview of Mechanisms and Implications in Human Disease. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*. 2022 Nov;11(12).
48. Poznyak A V, Grechko A V, Orekhova VA, Khotina V, Ivanova EA, Orekhov AN. NADPH Oxidases and Their Role in Atherosclerosis. *Biomedicines*. 2020 Jul;8(7).
49. Fulton DJR, Barman SA. Clarity on the Isoform-Specific Roles of NADPH Oxidases and NADPH Oxidase-4 in Atherosclerosis. Vol. 36, *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. United States; 2016. p. 579–81.
50. Frijhoff J, Winyard PG, Zarkovic N, Davies SS, Stocker R, Cheng D, et al. Clinical Relevance of Biomarkers of Oxidative Stress. *Antioxid Redox Signal*. 2015 Nov;23(14):1144–70.

51. Fort-Gallifa I, García-Heredia A, Hernández-Aguilera A, Simó JM, Sepúlveda J, Martín-Paredero V, et al. Biochemical indices of oxidative stress and inflammation in the evaluation of peripheral artery disease. *Free Radic Biol Med*. 2016 Aug;97:568–76.
52. Schahab N, Mansuroglu S, Schaefer C, Fimmers R, Nickenig G, Tiyerili V. Prognostic value of myeloperoxidase in patients with peripheral artery disease. *Vascular*. 2021 Jun;29(3):363–71.
53. Sanda GM, Toma L, Barbalata T, Moraru OE, Niculescu LS, Sima A V, et al. Clusterin, paraoxonase 1, and myeloperoxidase alterations induce high-density lipoproteins dysfunction and contribute to peripheral artery disease; aggravation by type 2 diabetes mellitus. *Biofactors*. 2022 Mar;48(2):454–68.
54. Steven S, Daiber A, Dopheide JF, Münzel T, Espinola-Klein C. Peripheral artery disease, redox signaling, oxidative stress - Basic and clinical aspects. *Redox Biol*. 2017 Aug;12:787–97.
55. Ismaeel A, Brumberg RS, Kirk JS, Papoutsi E, Farmer PJ, Bohannon WT, et al. Oxidative Stress and Arterial Dysfunction in Peripheral Artery Disease. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*. 2018 Oct;7(10).
56. Signorelli SS, Scuto S, Marino E, Xourafa A, Gaudio A. Oxidative Stress in Peripheral Arterial Disease (PAD) Mechanism and Biomarkers. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*. 2019 Sep;8(9).
57. Koutakis P, Ismaeel A, Farmer P, Purcell S, Smith RS, Eidson JL, et al. Oxidative stress and antioxidant treatment in patients with peripheral artery disease. *Physiol Rep*. 2018 Apr;6(7):e13650.
58. Weiss DJ, Casale GP, Koutakis P, Nella AA, Swanson SA, Zhu Z, et al. Oxidative damage and myofiber degeneration in the gastrocnemius of patients with peripheral arterial disease. *J Transl Med*. 2013 Sep;11:230.
59. Koutakis P, Hernandez H, Miserlis D, Thompson JR, Papoutsi E, Mietus CJ, et al. Oxidative damage in the gastrocnemius predicts long-term survival in patients with peripheral artery disease. *npj aging*. 2024 Apr;10(1):21.
60. Bigagli E, Lodovici M. Circulating Oxidative Stress Biomarkers in Clinical Studies on Type 2 Diabetes and Its Complications. *Oxid Med Cell Longev*. 2019;2019:5953685.
61. Popescu AI, Rata AL, Barac S, Popescu R, Onofrei RR, Vlad C, et al. Narrative Review of Biological Markers in Chronic Limb-Threatening Ischemia. *Biomedicines*. 2024 Apr;12(4).
62. Allen MF, Park S-Y, Kwak Y-S. Oxidative stress and vascular dysfunction: Potential therapeutic targets and therapies in peripheral artery disease. *Microvasc Res*. 2024 Sep;155:104713.
63. Nonaka K, Kume N, Urata Y, Seto S, Kohno T, Honda S, et al. Serum levels of S-glutathionylated proteins as a risk-marker for arteriosclerosis obliterans. *Circ J*. 2007

- Jan;71(1):100–5.
64. Li X, Guo D, Zhou W, Hu Y, Zhou H, Chen Y. Oxidative Stress and Inflammation Markers Associated with Multiple Peripheral Artery Occlusions in Elderly Patients. *Angiology*. 2023 May;74(5):472–87.
 65. Keramat S, Sharebani H, Patel M, Fazeli B, Stanek A. The Potential Role of Antioxidants in the Treatment of Peripheral Arterial Disease: A Systematic Review. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*. 2022 Oct;11(11).
 66. Martinez Bravo G, Annarapu G, Carmona E, Nawarskas J, Clark R, Novelli E, et al. Platelets in Thrombosis and Atherosclerosis: A Double-Edged Sword. *Am J Pathol*. 2024 Sep;194(9):1608–21.
 67. Zhang Y, Chou JW, Huang W-T, Derry K, Humber D. Platelet reactivity testing in peripheral artery disease. *Am J Heal Pharm AJHP Off J Am Soc Heal Pharm*. 2022 Aug;79(16):1312–22.
 68. De Wolde SD, Hulskes RH, Weenink RP, Hollmann MW, Van Hulst RA. The Effects of Hyperbaric Oxygenation on Oxidative Stress, Inflammation and Angiogenesis. *Biomolecules*. 2021 Aug;11(8).
 69. Bonaca MP, Bauersachs RM, Anand SS, Debus ES, Nehler MR, Patel MR, et al. Rivaroxaban in Peripheral Artery Disease after Revascularization. *N Engl J Med*. 2020 May;382(21):1994–2004.
 70. Gimbrone MAJ, García-Cardena G. Endothelial Cell Dysfunction and the Pathobiology of Atherosclerosis. *Circ Res*. 2016 Feb;118(4):620–36.
 71. Massberg S, Schürzinger K, Lorenz M, Konrad I, Schulz C, Plesnila N, et al. Platelet adhesion via glycoprotein IIb integrin is critical for atheroprotection and focal cerebral ischemia: an in vivo study in mice lacking glycoprotein IIb. *Circulation*. 2005 Aug;112(8):1180–8.
 72. Nakashima Y, Raines EW, Plump AS, Breslow JL, Ross R. Upregulation of VCAM-1 and ICAM-1 at atherosclerosis-prone sites on the endothelium in the ApoE-deficient mouse. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1998 May;18(5):842–51.
 73. Schrottmaier WC, Mussbacher M, Salzmann M, Assinger A. Platelet-leukocyte interplay during vascular disease. *Atherosclerosis*. 2020 Aug;307:109–20.
 74. Dong ZM, Brown AA, Wagner DD. Prominent role of P-selectin in the development of advanced atherosclerosis in ApoE-deficient mice. *Circulation*. 2000 May;101(19):2290–5.
 75. Dann R, Hadi T, Montenont E, Boytard L, Alebrahim D, Feinstein J, et al. Platelet-Derived MRP-14 Induces Monocyte Activation in Patients With Symptomatic Peripheral Artery Disease. *J Am Coll Cardiol*. 2018 Jan;71(1):53–65.
 76. Joo S-J. Mechanisms of Platelet Activation and Integrin α IIb β 3. *Korean Circ J*. 2012

- May;42(5):295–301.
77. Ma Y-Q, Qin J, Plow EF. Platelet integrin $\alpha(\text{IIb})\beta(3)$: activation mechanisms. *J Thromb Haemost*. 2007 Jul;5(7):1345–52.
 78. Hiatt WR, Bonaca MP, Patel MR, Nehler MR, Debus ES, Anand SS, et al. Rivaroxaban and Aspirin in Peripheral Artery Disease Lower Extremity Revascularization: Impact of Concomitant Clopidogrel on Efficacy and Safety. *Circulation*. 2020 Dec;142(23):2219–30.
 79. Cleanthis M, Bhattacharya V, Smout J, Ashour H, Stansby G. Platelet monocyte aggregates and monocyte chemoattractant protein-1 are not inhibited by aspirin in critical limb ischaemia. *Eur J Vasc Endovasc Surg Off J Eur Soc Vasc Surg*. 2007 Jun;33(6):725–30.
 80. Poledniczek M, Neumayer C, Kopp CW, Schlager O, Gremmel T, Jozkowicz A, et al. Micro- and Macrovascular Effects of Inflammation in Peripheral Artery Disease- Pathophysiology and Translational Therapeutic Approaches. *Biomedicines*. 2023 Aug;11(8).
 81. Goncalves LN, van Velze V, Klok FA, Gal P, Vos RC, Hamming JF, et al. High on-treatment platelet reactivity in peripheral arterial disease: A systematic review. *Vascular*. 2024 Dec;32(6):1177–90.
 82. Kankaria A, Majumdar M, Lee S, Hall RP, Suarez Ferreira SP, Lee I, et al. Platelet function testing and clinical outcomes in peripheral arterial disease: Systematic review and narrative synthesis. *J Vasc Surg*. 2024 Jul;80(1):269–78.
 83. Sibbing D, Aradi D, Alexopoulos D, Ten Berg J, Bhatt DL, Bonello L, et al. Updated Expert Consensus Statement on Platelet Function and Genetic Testing for Guiding P2Y₁₂ Receptor Inhibitor Treatment in Percutaneous Coronary Intervention. *JACC Cardiovasc Interv*. 2019 Aug;12(16):1521–37.
 84. Tsigkou V, Siasos G, Rovos K, Tripyla N, Tousoulis D. Peripheral artery disease and antiplatelet treatment. *Curr Opin Pharmacol*. 2018 Apr;39:43–52.
 85. Savarese G, Reiner MF, Uijl A, D’Amario D, Agewall S, Atar D, et al. Antithrombotic therapy and major adverse limb events in patients with chronic lower extremity arterial disease: systematic review and meta-analysis from the European Society of Cardiology Working Group on Cardiovascular Pharmacotherapy in Collaboration w. *Eur Hear journal Cardiovasc Pharmacother*. 2020 Apr;6(2):86–93.
 86. Hiatt WR, Fowkes FGR, Heizer G, Berger JS, Baumgartner I, Held P, et al. Ticagrelor versus Clopidogrel in Symptomatic Peripheral Artery Disease. *N Engl J Med*. 2017 Jan;376(1):32–40.
 87. Sen S, Sen S. Therapeutic effects of hyperbaric oxygen: integrated review. *Med Gas Res*. 2021;11(1):30–3.
 88. Carney AY. Hyperbaric oxygen therapy: an introduction. *Crit Care Nurs Q*.

- 2013;36(3):274–9.
89. Samson M, Gottlieb M, Logue C, Popa D. Hyperbaric Oxygen Therapy: An Evidence-Based Primer for Emergency Physicians. *J Emerg Med*. 2025 Mar;70:35–44.
 90. Harlan NP, Ptak JA, Rees JR, Cowan DR, Fellows AM, Moses RA, et al. International Multicenter Registry for Hyperbaric Oxygen Therapy: Results through June 2021. *Undersea Hyperb Med J Undersea Hyperb Med Soc Inc*. 2022;49(3):275–87.
 91. Mitchell SJ, Bennett MH. Unestablished indications for hyperbaric oxygen therapy. *Diving Hyperb Med*. 2014 Dec;44(4):228–34.
 92. Hadanny A, Efrati S. The Hyperoxic-Hypoxic Paradox. *Biomolecules*. 2020 Jun;10(6).
 93. Růžicka J, Dejmek J, Bolek L, Beneš J, Kuncová J. Hyperbaric oxygen influences chronic wound healing - a cellular level review. *Physiol Res*. 2021 Dec;70(S3):S261–73.
 94. Peña-Villalobos I, Casanova-Maldonado I, Lois P, Prieto C, Pizarro C, Lattus J, et al. Hyperbaric Oxygen Increases Stem Cell Proliferation, Angiogenesis and Wound-Healing Ability of WJ-MSCs in Diabetic Mice. *Front Physiol*. 2018;9:995.
 95. Thom SR, Bhopale VM, Velazquez OC, Goldstein LJ, Thom LH, Buerk DG. Stem cell mobilization by hyperbaric oxygen. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2006 Apr;290(4):H1378–86.
 96. Gabb G, Robin ED. Hyperbaric oxygen. A therapy in search of diseases. *Chest*. 1987 Dec;92(6):1074–82.
 97. Lam G, Fontaine R, Ross FL, Chiu ES. Hyperbaric Oxygen Therapy: Exploring the Clinical Evidence. *Adv Skin Wound Care*. 2017 Apr;30(4):181–90.
 98. Brouwer RJ, Laliu RC, Hoencamp R, van Hulst RA, Ubbink DT. A systematic review and meta-analysis of hyperbaric oxygen therapy for diabetic foot ulcers with arterial insufficiency. *J Vasc Surg*. 2020 Feb;71(2):682–692.e1.
 99. Wenhui L, Changgeng F, Lei X, Baozhong Y, Guobin L, Weijing F. Hyperbaric oxygen therapy for chronic diabetic foot ulcers: An overview of systematic reviews. *Diabetes Res Clin Pract*. 2021 Jun;176:108862.
 100. Elraiyyah T, Tsapas A, Prutsky G, Domecq JP, Hasan R, Firwana B, et al. A systematic review and meta-analysis of adjunctive therapies in diabetic foot ulcers. *J Vasc Surg*. 2016 Feb;63(2 Suppl):46S–58S.e1–2.
 101. Vahabi A, Mert M, Erdem HA, Yıldırım Şimşir I, Taşbakan MI, Öztürk AM. Safe Use of Hyperbaric Oxygen Therapy in the Treatment of Diabetic Foot Ulcers: A Multidisciplinary Approach to Minimize Adverse Effects. *Interdiscip Perspect Infect Dis*. 2023;2023:9154038.
 102. Zhang Y, Zhou Y, Jia Y, Wang T, Meng D. Adverse effects of hyperbaric oxygen therapy: a systematic review and meta-analysis. *Front Med*. 2023;10:1160774.

103. Jokinen-Gordon H, Barry RC, Watson B, Covington DS. A Retrospective Analysis of Adverse Events in Hyperbaric Oxygen Therapy (2012-2015): Lessons Learned From 1.5 Million Treatments. *Adv Skin Wound Care*. 2017 Mar;30(3):125–9.
104. Capó X, Monserrat-Mesquida M, Quetglas-Llabrés M, Batle JM, Tur JA, Pons A, et al. Hyperbaric Oxygen Therapy Reduces Oxidative Stress and Inflammation, and Increases Growth Factors Favouring the Healing Process of Diabetic Wounds. *Int J Mol Sci*. 2023 Apr;24(8).
105. Forsythe RO, Brownrigg J, Hinchliffe RJ. Peripheral arterial disease and revascularization of the diabetic foot. *Diabetes Obes Metab*. 2015 May;17(5):435–44.
106. Catrina S-B, Zheng X. Disturbed hypoxic responses as a pathogenic mechanism of diabetic foot ulcers. *Diabetes Metab Res Rev*. 2016 Jan;32 Suppl 1:179–85.
107. Aldana PC, Khachemoune A. Diabetic Foot Ulcers: Appraising Standard of Care and Reviewing New Trends in Management. *Am J Clin Dermatol*. 2020 Apr;21(2):255–64.
108. Chen P, Vilorio NC, Dhatariya K, Jeffcoate W, Lobmann R, McIntosh C, et al. Guidelines on interventions to enhance healing of foot ulcers in people with diabetes (IWGDF 2023 update). *Diabetes Metab Res Rev*. 2024 Mar;40(3):e3644.
109. Bus SA, Armstrong DG, Crews RT, Gooday C, Jarl G, Kirketerp-Moller K, et al. Guidelines on offloading foot ulcers in persons with diabetes (IWGDF 2023 update). *Diabetes Metab Res Rev*. 2024 Mar;40(3):e3647.
110. Santema KTB, Stoekenbroek RM, Koelemay MJW, Reekers JA, van Dortmont LMC, Oomen A, et al. Hyperbaric Oxygen Therapy in the Treatment of Ischemic Lower-Extremity Ulcers in Patients With Diabetes: Results of the DAMO(2)CLES Multicenter Randomized Clinical Trial. *Diabetes Care*. 2018 Jan;41(1):112–9.
111. Perren S, Gatt A, Papanas N, Formosa C. Hyperbaric Oxygen Therapy in Ischaemic Foot Ulcers in Type 2 Diabetes: A Clinical Trial. *Open Cardiovasc Med J*. 2018;12:80–5.
112. Oley MH, Oley MC, Kepel BJ, Faruk M, Wagiu AMJ, Sukarno I, et al. Hyperbaric Oxygen Therapy for Diabetic Foot Ulcers Based on Wagner Grading: A Systematic Review and Meta-analysis. *Plast Reconstr surgery Glob open*. 2024 Mar;12(3):e5692.
113. Takagi G, Kirinoki-Ichikawa S, Tara S, Takagi I, Miyamoto M. Effectiveness of Repetitive Hyperbaric Oxygen Therapy for Chronic Limb-Threatening Ischemia. *J Nippon Med Sch*. 2024 Mar;91(1):66–73.
114. Sato Y, Urasawa K, Morishita T, Tan M, Hayakawa N, Tokuda T, et al. Combined Treatment With Hyperbaric Oxygen Therapy and Endovascular Therapy for Patients With Chronic Limb-Threatening Ischemia - Study Protocol for the HOTFOOT Multicenter Randomized Controlled Trial. *Circ reports*. 2021 Dec;3(12):737–41.
115. Hyperbaric Oxygen Therapy for the Treatment of Diabetic Foot Ulcers: A Health Technology Assessment. *Ont Health Technol Assess Ser*. 2017;17(5):1–142.

116. Chen P, Carville K, Swanson T, Lazzarini PA, Charles J, Cheney J, et al. Australian guideline on wound healing interventions to enhance healing of foot ulcers: part of the 2021 Australian evidence-based guidelines for diabetes-related foot disease. *J Foot Ankle Res.* 2022 May;15(1):40.
117. Eriksson E, Liu PY, Schultz GS, Martins-Green MM, Tanaka R, Weir D, et al. Chronic wounds: Treatment consensus. *Wound repair Regen Off Publ Wound Heal Soc [and] Eur Tissue Repair Soc.* 2022 Mar;30(2):156–71.
118. Guirguis-Blake JM, Evans C V, Redmond N, Lin JS. No Title. Rockville (MD); 2018.
119. Santema TB, Lenselink EA, Balm R, Ubbink DT. Comparing the Meggitt-Wagner and the University of Texas wound classification systems for diabetic foot ulcers : inter-observer analyses. :1137–41.
120. Chan KS, Lo ZJ. Wound assessment, imaging and monitoring systems in diabetic foot ulcers: A systematic review. *Int Wound J.* 2020 Dec;17(6):1909–23.
121. Jain KK. *Textbook of Hyperbaric Medicine*. 6th ed. Cham, Switzerland: Springer. 2017;
122. Panicia R, Antonucci E, Maggini N, Romano E, Gori AM, Marcucci R, et al. Assessment of platelet function on whole blood by multiple electrode aggregometry in high-risk patients with coronary artery disease receiving antiplatelet therapy. *Am J Clin Pathol.* 2009 Jun;131(6):834–42.
123. Dugan G, O'Donnell L, Hanbury DB, Cline JM, Caudell DL. Assessment of Multiplate platelet aggregometry using citrate, heparin or hirudin in Rhesus macaques. *Platelets.* 2015;26(8):730–5.
124. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem.* 1979 Jun;95(2):351–8.
125. Green LC, Wagner DA, Glogowski J, Skipper PL, Wishnok JS, Tannenbaum SR. Analysis of nitrate, nitrite, and [15N]nitrate in biological fluids. *Anal Biochem.* 1982 Oct;126(1):131–8.
126. Auclair, C.; Voisin E. . Nitrobluetetrazolium reduction. In *Handbook Methods for Oxygen Radical Research*; Greenwald, RA, Ed; CRC Press Boca Raton, FL, USA, 1985; pp 123–132.
127. Pick E, Keisari Y. A simple colorimetric method for the measurement of hydrogen peroxide produced by cells in culture. *J Immunol Methods.* 1980;38(1–2):161–70.
128. McCord JM, Fridovich I. The utility of superoxide dismutase in studying free radical reactions. I. Radicals generated by the interaction of sulfite, dimethyl sulfoxide, and oxygen. *J Biol Chem.* 1969 Nov;244(22):6056–63.
129. Beutler E. Catalase. In *Red Cell Metabolism, a Manual of Biochemical Methods*. Grune Strat New York, NY, USA, 1982; pp 105–106.

130. Beutler EG. Reduced glutathione (GSH). In *Red Cell Metabolism, a Manual of Biochemical Methods*. Grune Strat New York, NY, USA, 1975; pp 112–114.
131. Hawker GA, Mian S, Kendzerska T, French M. Measures of adult pain: Visual Analog Scale for Pain (VAS Pain), Numeric Rating Scale for Pain (NRS Pain), McGill Pain Questionnaire (MPQ), Short-Form McGill Pain Questionnaire (SF-MPQ), Chronic Pain Grade Scale (CPGS), Short Form-36 Bodily Pain Scale (S. Arthritis Care Res (Hoboken). 2011 Nov;63 Suppl 1:S240-52.
132. Price DD, McGrath PA, Rafii A, Buckingham B. The validation of visual analogue scales as ratio scale measures for chronic and experimental pain. *Pain*. 1983 Sep;17(1):45–56.
133. Vainas T, Stassen FRM, de Graaf R, Twiss ELL, Herngreen SB, Welten RJTJ, et al. C-reactive protein in peripheral arterial disease: relation to severity of the disease and to future cardiovascular events. *J Vasc Surg*. 2005 Aug;42(2):243–51.
134. Pasqui E, de Donato G, Giannace G, Panzano C, Alba G, Cappelli A, et al. The relation between neutrophil/lymphocyte and platelet/lymphocyte ratios with mortality and limb amputation after acute limb ischaemia. *Vascular*. 2022 Apr;30(2):267–75.
135. Kang H. Sample size determination and power analysis using the G*Power software. *J Educ Eval Health Prof*. 2021;18:17.
136. Kwong M, Rajasekar G, Utter GH, Nuño M, Mell MW. Updated estimates for the burden of chronic limb-threatening ischemia in the Medicare population. *J Vasc Surg*. 2023 Jun;77(6):1760–75.
137. Koksoy C, Torres Ruiz I, Pallister ZS, Gilani R, Mills JLS, Chung J. Progression of the contralateral limb in chronic limb-threatening ischemia. *J Vasc Surg*. 2025 Jun;81(6):1440–9.
138. Shatnawi NJ, Al-Zoubi NA, Al-Bakkar LA, Abu-Baker AM, Khader YS, Al-Omari M, et al. Chronic Limb-Threatening Ischemia in Patients with Type 2 Diabetes: Revascularization Index as a Predictor for Primary Endovascular Intervention Outcome. *Vasc Health Risk Manag*. 2023;19:495–504.
139. Ochoa Chaar CI, Malas M, Doros G, Schermerhorn M, Conte MS, Alameddine D, et al. The impact of diabetes mellitus on the outcomes of revascularization for chronic limb-threatening ischemia in the BEST-CLI trial. *J Vasc Surg*. 2025 Feb;81(2):376-385.e3.
140. Margolis DJ, Mitra N, Malay DS, Mirza ZK, Lantis JC, Lev-Tov HA, et al. Further evidence that wound size and duration are strong prognostic markers of diabetic foot ulcer healing. *Wound repair Regen Off Publ Wound Heal Soc [and] Eur Tissue Repair Soc*. 2022 Jul;30(4):487–90.
141. Margolis DJ, Allen-Taylor L, Hoffstad O, Berlin JA. Diabetic neuropathic foot ulcers: the association of wound size, wound duration, and wound grade on healing. *Diabetes Care*. 2002 Oct;25(10):1835–9.
142. Tarricone A, Gee A, de la Mata K, Rogers L, Wiley J, Lavery LA, et al. Outcomes for

- Patients With Chronic Limb-Threatening Ischemia After Direct and Indirect Endovascular and Surgical Revascularization: A Meta-Analysis and Systematic Review. *J Endovasc Ther an Off J Int Soc Endovasc Spec.* 2026 Feb;33(1):56–63.
143. Kim TI, Vartanian SS, Schneider PA. A Review and Proposed Classification System for the No-Option Patient With Chronic Limb-Threatening Ischemia. *J Endovasc Ther an Off J Int Soc Endovasc Spec.* 2021 Apr;28(2):183–93.
144. Ceccato D, Ragazzo S, Boscaro F, Avruscio G. Chronic limb-threatening ischemia with no revascularization option: Result from a multidisciplinary care model. Vol. 125, *European journal of internal medicine.* Netherlands; 2024. p. 137–8.
145. Cattaneo M. Light transmission aggregometry and ATP release for the diagnostic assessment of platelet function. *Semin Thromb Hemost.* 2009 Mar;35(2):158–67.
146. Femia EA, Scavone M, Lecchi A, Cattaneo M. Effect of platelet count on platelet aggregation measured with impedance aggregometry (Multiplate™ analyzer) and with light transmission aggregometry. Vol. 11, *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH.* England; 2013. p. 2193–6.
147. Al Ghaithi R, Drake S, Watson SP, Morgan N V, Harrison P. Comparison of multiple electrode aggregometry with lumi-aggregometry for the diagnosis of patients with mild bleeding disorders. *J Thromb Haemost.* 2017 Oct;15(10):2045–52.
148. Shaw FL, Winyard PG, Smerdon GR, Bryson PJ, Moody AJ, Eggleton P. Hyperbaric oxygen treatment induces platelet aggregation and protein release, without altering expression of activation molecules. *Clin Biochem.* 2009 Apr;42(6):467–76.
149. Ersöz G, Ocakçioğlu B, Baştuğ M, Fiçicilar H, Yavuzer S. Platelet aggregation and release function in hyperbaric oxygenation. *Undersea Hyperb Med J Undersea Hyperb Med Soc Inc.* 1998;25(4):229–32.
150. Park S-Y, Pekas EJ, Anderson CP, Kambis TN, Mishra PK, Schieber MN, et al. Impaired microcirculatory function, mitochondrial respiration, and oxygen utilization in skeletal muscle of claudicating patients with peripheral artery disease. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2022 May;322(5):H867–79.
151. Rajagopalan S, McKay I, Ford I, Bachoo P, Greaves M, Brittenden J. Platelet activation increases with the severity of peripheral arterial disease: implications for clinical management. *J Vasc Surg.* 2007 Sep;46(3):485–90.
152. Widiyanti P, Suryohudoyo P. The role of hyperbaric oxygen to platelet aggregation in noninsulin-dependent diabetes mellitus (NIDDM). *J Basic Clin Physiol Pharmacol.* 2021 Jun;32(4):617–21.
153. Stirban A, Lentrodt S, Nandreaan S, Pop A, Tschoepe D, Scherbaum WA. Functional changes in microcirculation during hyperbaric and normobaric oxygen therapy. *Undersea Hyperb Med J Undersea Hyperb Med Soc Inc.* 2009;36(5):381–90.
154. Ortega MA, Fraile-Martinez O, García-Montero C, Callejón-Peláez E, Sáez MA, Álvarez-

- Mon MA, et al. A General Overview on the Hyperbaric Oxygen Therapy: Applications, Mechanisms and Translational Opportunities. *Medicina (Kaunas)*. 2021 Aug;57(9).
155. Cassar K, Bachoo P, Ford I, Greaves M, Brittenden J. Platelet activation is increased in peripheral arterial disease. *J Vasc Surg*. 2003 Jul;38(1):99–103.
156. Grifoni E, Gori AM, Giusti B, Valenti R, Migliorini A, Basili S, et al. On-Treatment Platelet Reactivity is a Predictor of Adverse Events in Peripheral Artery Disease Patients Undergoing Percutaneous Angioplasty. *Eur J Vasc Endovasc Surg Off J Eur Soc Vasc Surg*. 2018 Oct;56(4):545–52.
157. Grey JE, Enoch S, Harding KG. Wound assessment. *BMJ*. 2006 Feb;332(7536):285–8.
158. Halim AS, Khoo TL, Saad AZM. Wound bed preparation from a clinical perspective. *Indian J Plast Surg Off Publ Assoc Plast Surg India*. 2012 May;45(2):193–202.
159. Rippon MG, Rogers AA, Ousey K, Atkin L, Williams K. The importance of periwound skin in wound healing: an overview of the evidence. *J Wound Care*. 2022 Aug;31(8):648–59.
160. Flanagan M. Improving accuracy of wound measurement in clinical practice. *Ostomy Wound Manage*. 2003 Oct;49(10):28–40.
161. Ince P, Abbas ZG, Lutale JK, Basit A, Ali SM, Chohan F, et al. Use of the SINBAD classification system and score in comparing outcome of foot ulcer management on three continents. *Diabetes Care*. 2008 May;31(5):964–7.
162. Molnar JA, Underdown MJ, Clark WA. Nutrition and Chronic Wounds. *Adv wound care*. 2014 Nov;3(11):663–81.
163. Castilla DM, Liu Z-J, Velazquez OC. Oxygen: Implications for Wound Healing. *Adv wound care*. 2012 Dec;1(6):225–30.
164. Huang X, Liang P, Jiang B, Zhang P, Yu W, Duan M, et al. Hyperbaric oxygen potentiates diabetic wound healing by promoting fibroblast cell proliferation and endothelial cell angiogenesis. *Life Sci*. 2020 Oct;259:118246.
165. Vemulapalli S, Patel MR, Jones WS. Limb ischemia: cardiovascular diagnosis and management from head to toe. *Curr Cardiol Rep*. 2015 Jul;17(7):611.
166. Klevsgård R, Hallberg IR, Risberg B, Thomsen MB. Quality of life associated with varying degrees of chronic lower limb ischaemia: comparison with a healthy sample. *Eur J Vasc Endovasc Surg Off J Eur Soc Vasc Surg*. 1999 Apr;17(4):319–25.
167. Chen X, You J, Ma H, Zhou M, Huang C. Efficacy and safety of hyperbaric oxygen therapy for fibromyalgia: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open*. 2023 Jan;13(1):e062322.
168. Cao C, Li Q, Zhang X, Varrassi G, Wang H. Effectiveness of Hyperbaric Oxygen for Fibromyalgia: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Clin Pract*. 2023

Apr;13(3):583–95.

169. Ablin JN, Lang E, Catalogna M, Aloush V, Hadanny A, Doenyas-Barak K, et al. Hyperbaric oxygen therapy compared to pharmacological intervention in fibromyalgia patients following traumatic brain injury: A randomized, controlled trial. *PLoS One*. 2023;18(3):e0282406.
170. Waldmann R. Proton-gated cation channels--neuronal acid sensors in the central and peripheral nervous system. *Adv Exp Med Biol*. 2001;502:293–304.
171. Zilberman-Itskovich S, Catalogna M, Sasson E, Elman-Shina K, Hadanny A, Lang E, et al. Hyperbaric oxygen therapy improves neurocognitive functions and symptoms of post-COVID condition: randomized controlled trial. *Sci Rep*. 2022 Jul;12(1):11252.
172. Hadanny A, Zilberman-Itskovich S, Catalogna M, Elman-Shina K, Lang E, Finci S, et al. Long term outcomes of hyperbaric oxygen therapy in post covid condition: longitudinal follow-up of a randomized controlled trial. *Sci Rep*. 2024 Feb;14(1):3604.
173. Van Meter KW. Hyperbaric oxygen therapy in the ATLS/ACLS resuscitative management of acutely ill or severely injured patients with severe anemia: a review. *Front Med*. 2024;11:1408816.
174. Leveque C, Mrakic-Sposta S, Lafère P, Vezzoli A, Germonpré P, Beer A, et al. Oxidative Stress Response's Kinetics after 60 Minutes at Different (30% or 100%) Normobaric Hyperoxia Exposures. *Int J Mol Sci*. 2022 Dec;24(1).
175. Al-Waili NS, Butler GJ. Effects of hyperbaric oxygen on inflammatory response to wound and trauma: possible mechanism of action. *ScientificWorldJournal*. 2006 Apr;6:425–41.
176. Ridker PM. A Test in Context: High-Sensitivity C-Reactive Protein. *J Am Coll Cardiol*. 2016 Feb;67(6):712–23.
177. Uzun F, Erturk M, Cakmak HA, Kalkan AK, Akturk IF, Yalcin AA, et al. Usefulness of the platelet-to-lymphocyte ratio in predicting long-term cardiovascular mortality in patients with peripheral arterial occlusive disease. *Postep w Kardiologii interwencyjnej = Adv Interv Cardiol*. 2017;13(1):32–8.
178. Gasparyan AY, Ayvazyan L, Mukanova U, Yessirkepov M, Kitas GD. The Platelet-to-Lymphocyte Ratio as an Inflammatory Marker in Rheumatic Diseases. *Ann Lab Med*. 2019 Jul;39(4):345–57.
179. Ercan E, Aydın G, Erdoğan B, Özçelik F. The effect of hyperbaric oxygen therapy on hematological indices and biochemical parameters in patients with diabetic foot. *Medicine (Baltimore)*. 2024 Mar;103(12):e37493.
180. Top C, Yildiz S, Oncül O, Qydedi T, Cevikbaş A, Soyogul UG, et al. Phagocytic activity of neutrophils improves over the course of therapy of diabetic foot infections. *J Infect*. 2007 Oct;55(4):369–73.
181. Pérez-Vielma NM, Valencia Gutiérrez MM, Sánchez Camacho JV, González Hernández

- JE, García ÁM, Ochoa C, et al. The effect of hyperbaric oxygen therapy on oxidative stress and inflammation in patients with diabetic foot ulcers: A preliminary study. *Heliyon*. 2024 Dec;10(23):e40586.
182. Vinkel J, Rib L, Buil A, Hedetoft M, Hyldegaard O. Key pathways and genes that are altered during treatment with hyperbaric oxygen in patients with sepsis due to necrotizing soft tissue infection (HBOmic study). *Eur J Med Res*. 2023 Nov;28(1):507.
183. Li Y, Sun R, Lai C, Liu K, Yang H, Peng Z, et al. Hyperbaric oxygen therapy ameliorates intestinal and systematic inflammation by modulating dysbiosis of the gut microbiota in Crohn's disease. *J Transl Med*. 2024 May;22(1):518.
184. Thom SR. Oxidative stress is fundamental to hyperbaric oxygen therapy. 2009;988–95.
185. Loffredo L, Pignatelli P, Cangemi R, Andreozzi P, Panico MA, Meloni V, et al. Imbalance between nitric oxide generation and oxidative stress in patients with peripheral arterial disease: effect of an antioxidant treatment. *J Vasc Surg*. 2006 Sep;44(3):525–30.
186. Jomova K, Alomar SY, Alwasel SH, Nepovimova E, Kuca K, Valko M. Several lines of antioxidant defense against oxidative stress: antioxidant enzymes, nanomaterials with multiple enzyme-mimicking activities, and low-molecular-weight antioxidants. *Arch Toxicol*. 2024 May;98(5):1323–67.
187. Perry JJP, Shin DS, Getzoff ED, Tainer JA. The structural biochemistry of the superoxide dismutases. *Biochim Biophys Acta*. 2010 Feb;1804(2):245–62.
188. Godman CA, Joshi R, Giardina C, Perdriest G, Hightower LE. Hyperbaric oxygen treatment induces antioxidant gene expression. *Ann N Y Acad Sci*. 2010 Jun;1197:178–83.
189. Fakhri YA, Al-Ani AW. Superoxide Dismutase and Clopidogrel: A Potential Role in Peripheral Arterial Disease Treatment. *Dokl Biochem Biophys*. 2024 Jun;516(1):83–92.
190. de Wolde SD, Hulskes RH, de Jonge SW, Hollmann MW, van Hulst RA, Weenink RP, et al. The Effect of Hyperbaric Oxygen Therapy on Markers of Oxidative Stress and the Immune Response in Healthy Volunteers. *Front Physiol*. 2022;13:826163.
191. Gasier HG, Fothergill DM. Oxidative stress, antioxidant defenses and nitric oxide production following hyperoxic exposures. *Undersea Hyperb Med J Undersea Hyperb Med Soc Inc*. 2013;40(2):125–34.
192. Sutkowy P, Paprocki J, Piechocki J, Woźniak A. The impact of hyperbaric oxygen therapy on the redox balance of patients with diabetic foot syndrome. *Free Radic Res*. 2024 Nov;58(11):723–32.
193. Sies H. Hydrogen peroxide as a central redox signaling molecule in physiological oxidative stress: Oxidative eustress. *Redox Biol*. 2017 Apr;11:613–9.
194. Weydert CJ, Cullen JJ. Measurement of superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in cultured cells and tissue. *Nat Protoc*. 2010 Jan;5(1):51–66.

195. Dennog C, Radermacher P, Barnett YA, Speit G. Antioxidant status in humans after exposure to hyperbaric oxygen. *Mutat Res.* 1999 Jul;428(1–2):83–9.
196. Dragic S, Momcicevic D, Zlojutro B, Jandric M, Kovacevic T, Djajić V, et al. Serum levels of nitric oxide and endothelin-1 in vasculopathy managed with hyperbaric oxygen therapy. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2020;75(2):233–41.

8. Списак скраћеница

ПАБ - периферна артеријска болест

NO - азот-моноксид (*nitric oxide*)

WIFI - класификација ране, исхемије и инфекције стопала (*Wound, Ischemia, foot Infection*)

АСПИ - *anle systolic pressure index*

TcPO₂ - транскутани парцијални притисак кисеоника (*transcutaneous oxygen pressure*)

СТА - компјутеризована томографска ангиографија (*computed tomography angiography*)

ДСА - дигитална субтракциона ангиографија (*digital subtraction angiography*)

AGEs - крајњи продукти узнапредовале гликације (*advanced glycation end products*)

ROS - реактивне врсте кисеоника (*reactive oxygen species*)

RNS - реактивне врсте азота (*reactive nitrogen species*)

Nrf2 - нуклеарни фактор еритроид 2-сродни фактор 2 (*nuclear factor erythroid 2-related factor 2*)

NADPH - никотинамид-аденин-динуклеотид-фосфат (*nicotinamide adenine dinucleotide phosphate*)

eNOS - ендотелна азот-моноксид синтаза (*endothelial nitric oxide synthase*)

eNOS - ендотелна азот-моноксид синтаза (*endothelial nitric oxide synthase*)

NOX4 - NADPH оксидаза 4 (*NADPH oxidase 4*)

PON1 - параоксоназа 1 (*paraoxonase I*)

MPO - мијелопероксидаза (*myeloperoxidase*)

PF4/CXCL4 - тромбоцитни фактор 4 / C-X-C мотив хемокин лиганд 4 (*platelet factor 4 / C-X-C motif chemokine ligand 4*)

RANTES/CCL5 - хемокин C-C мотив лиганд 5 (*regulated upon activation, normal T cell expressed and secreted / C-C motif chemokine ligand 5*)

MRP-14 - мијелоидни сродни протеин 14, познат и као S100A9 (*myeloid-related protein 14*)

COX-1 - циклооксигеназа 1 (*cyclooxygenase-1*)

ADP - аденозин-дифосфат (*adenosine diphosphate*)

HPR - висока реактивност тромбоцита (*high platelet reactivity*)

ХБОТ - хипербарична оксигенотерапија

АТА - атмосфера апсолутног притиска (*atmosphere absolute*)

УХМС – Удружење за подводну и хипербаричну медицину (*Undersea and Hyperbaric Medical Society*)

ХОБП - хронична опструктивна болест плућа

БМИ - индекс телесне масе (*body mass index*)

ПЦТ - прокалцитонин (*procalcitonin*)

АСТ - аспартат-аминотрансфераза (*aspartate aminotransferase*)

АЛТ - аланин-аминотрансфераза (*alanine aminotransferase*)

ТБАРС - супстанце реактивне са тиобарбитурном киселином (*thiobarbituric acid reactive substances*)

H₂O₂ - водоник-пероксид (*hydrogen peroxide*)

САТ - каталаза (*catalase*)

GSH - редуковани глутатион (*reduced glutathione*)

SOD - супероксид дисмутаза (*superoxide dismutase*)

ЦРП - С-реактивни протеин

ВАС - визуелно-аналогна скала

ASPI - тест агрегације тромбоцита индукован арахидонском киселином (*arachidonic acid-induced platelet aggregation test / ASPI test*)

ТРАП - пептид који активира тромбински рецептор (*thrombin receptor activating peptide*)

AUC - површина испод криве (*area under the curve*)

NBT - нитроблу тетразолијум тест (*nitroblue tetrazolium test*)

HRPO - пероксидаза из рена (*horseradish peroxidase*)

ПЛР - однос тромбоцита и лимфоцита (*platelet-to-lymphocyte ratio*)

Биографија

Драган Кнежевић је рођен 25.07.1984. године у Крагујевцу. Основну и средњу школу завршио је у Крагујевцу као одличан ђак. Факултет медицинских наука уписао је школске 2003./2004. године а завршио у новембру 2009. године са просечном оценом 9.44. Од 2009. до 2012. године радио је као волонтер у Центру за анестезију и реанимацију КЦ Крагујевац. Истовремено, у току 2011. и 2012. радио је у Хитној помоћи у Тополи. Од августа 2012. запослен у Центру за васкуларну хирургију, а у октобру 2012. уписао је специјализацију из васкуларне хирургије. У новембру 2017. године положио је специјалистички испит са оценом одличан и стекао звање специјалиста васкуларне хирургије. 2011. године уписао Докторске академске студије, смер Клиничка и експериментална хирургија, усмени докторски испит положио 28.06.2024. са оценом десет. Школске 2025/26 уписао је поново трећу годину Докторских академских студија. Просечна оцена на Докторским академским студијама 9. Запослен је као асистент на Катедри за хирургију, на Факултету медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу. У августу 2025. године одбранио рад уже специјализације из области Баромедицине. Аутор и коаутор више научних радова у домаћим и међународним часописима. Члан је Удружења кардиоваскуларних хирурга Србије, члан Европског удружења васкуларних хирурга. Учесник је више домаћих и међународних конгреса. Ожењен, отац двоје деце.

ИЗЈАВА АУТОРА О ОРИГИНАЛНОСТИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Изјављујем да докторска дисертација под насловом:

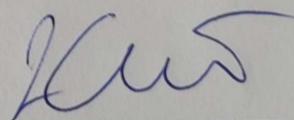
Ефекти хипербаричне оксигенотерапије на клиничке и лабораторијске параметре код пацијената са улкусом доњих екстремитета узрокованим периферном артеријском оклузивном болешћу

представља оригинално ауторско дело настало као резултат сопственог истраживачког рада.

Овом Изјавом такође потврђујем:

- да сам једини аутор наведене докторске дисертације,
- да у наведеној докторској дисертацији нисам извршио повреду ауторског нити другог права интелектуалне својине других лица,

У Крагујевцу , 2026. године,



потпис аутора

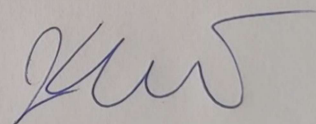
**ИЗЈАВА АУТОРА О ИСТОВЕТНОСТИ ШТАМПАНЕ И ЕЛЕКТРОНСКЕ ВЕРЗИЈЕ
ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ**

Изјављујем да су штампана и електронска верзија докторске дисертације под насловом:

*Ефекти хипербаричне оксигенотерапије на клиничке и лабораторијске
параметре код пацијената са улкусом доњих екстремитета узрокованим
периферном артеријском оклузивном болешћу*

истоветне.

У Крагујевцу, 2026. године,



потпис аутора

ИЗЈАВА АУТОРА О ИСКОРИШЋАВАЊУ ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ

Ја, _____ Драган Кнежевић _____,



дозвољавам



не дозвољавам

Универзитетској библиотеци у Крагујевцу да начини два трајна умножена примерка у електронској форми докторске дисертације под насловом:

Ефекти хипербаричне оксигенотерапије на клиничке и лабораторијске параметре код пацијената са улкусом доњих екстремитета узрокованим периферном артеријском оклузивном болешћу

и то у целини, као и да по један примерак тако умножене докторске дисертације учини трајно доступним јавности путем дигиталног репозиторијума Универзитета у Крагујевцу и централног репозиторијума надлежног министарства, тако да припадници јавности могу начинити трајне умножене примерке у електронској форми наведене докторске дисертације путем *преузимања*.

Овом Изјавом такође



дозвољавам

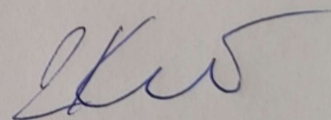
☐

не дозвољавам¹

припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од следећих *Creative Commons* лиценци:

- 1) Ауторство
- 2) Ауторство - делити под истим условима
- 3) Ауторство - без прерада
- 4) Ауторство - некомерцијално
- 5) Ауторство - некомерцијално - делити под истим условима
- 6) Ауторство - некомерцијално - без прерада²

У Крагујевцу, 2026. године,



потпис аутора

¹ Уколико аутор изабере да не дозволи припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од *Creative Commons* лиценци, то не искључује право припадника јавности да наведену докторску дисертацију користе у складу са одредбама Закона о ауторском и сродним правима.

² Молимо ауторе који су изабрали да дозволе припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од *Creative Commons* лиценци да заокруже једну од понуђених лиценци. Детаљан садржај наведених лиценци доступан је на: <http://creativecommons.org.rs/>