



Pomorski Uniwersytet Medyczny
w Szczecinie
Wydział Nauk o Zdrowiu

Hanna Zbroja

Znaczenie suchych kąpeli ozonowych w poprawie czynników ryzyka oraz jakości życia
pacjentów z chorobą tętnic obwodowych

The importance of dry ozone baths in improving risk factors and quality of life in patients
with peripheral arterial disease

Rozprawa doktorska w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu

Dyscyplina nauk o zdrowiu

Promotor: prof. dr hab. n. zdr. Anna Lubkowska

Pracę wykonano w: Katedra i Zakład Diagnostyki Funkcjonalnej i Medycyny Fizykalnej

Szczecin, 2021

Spis treści

I.	Wstęp.....	4
1.	Choroba tętnic obwodowych (PAD)	4
1.1.	Epidemiologia choroby tętnic obwodowych.....	4
1.2.	Czynniki ryzyka choroby tętnic obwodowych	6
1.3.	Rozwój choroby tętnic obwodowych	17
1.4.	Objawy choroby tętnic obwodowych.....	18
1.5.	Diagnostyka choroby tętnic obwodowych	21
1.6.	Leczenie	24
1.7.	Następstwa kliniczne	40
2.	Wybrane zabiegi fizykalne w PAD - kąpiele kwasowęglowe i w mieszan- ce tlenowo-ozonowej.....	43
3.	Ozonoterapia.....	44
3.1.	Wprowadzenie	44
3.2.	Medyczne zastosowanie ozonu	46
3.3.	Rodzaje ozonoterapii.....	47
4.	Terapia dwutlenkiem węgla.....	49
II.	Cele badania	55
III.	Metodologia	56
1.	Metodologia i przebieg badań	56
2.	Zastosowane pomiary i testy.....	58
3.	Analiza statystyczna	62
IV.	Wyniki.....	63
1.	Charakterystyka badanych	63
2.	Czynniki ryzyka choroby tętnic obwodowych	64
3.	Wpływ terapii na wybrane wskaźniki ryzyka PAD	66
4.	Zależności pomiędzy ABI a wybranymi wskaźnikami ryzyka PAD.....	72
V.	Omówienie wyników i dyskusja.....	79
1.	Ocena grupy badanej w relacji do ogólnej populacji pacjentów z PAD	79
2.	Wpływ ozonoterapii na ABI i czynniki ryzyka PAD.....	87
3.	Jakość życia badanych	94
4.	Sprawność ruchowa i aktywność fizyczna badanych.....	101
5.	Ocena zależności ze wskaźnikiem kostka-ramię.....	106
5.1.	Glukoza.....	106
5.2.	HDL-cholesterol.....	108

5.3.	Skurczowe i rozkurczowe ciśnienie tętnicze.....	110
5.4.	Całkowita aktywność fizyczna, umiarkowany wysiłek, sprawność fizyczną, czas spędzony siedząc	112
5.5.	Dieta	117
VI.	Wnioski	128
	Piśmiennictwo	129
	Streszczenie	184
	Spis tabel	188
	Spis rycin	189

I. Wstęp

1. Choroba tętnic obwodowych (PAD)

Choroba tętnic obwodowych (PAD, ang. peripheral artery disease) staje się coraz większym problemem dzisiejszych czasów. Jest to trzecia najczęstsza choroba układu krążenia, tuż po zaburzeniach wieńcowych naczyń krwionośnych oraz udarze mózgu. Choroba tętnic obwodowych stanowi grupę jednostek chorobowych odnoszących się do przewlekłego zwężenia tętnic i charakteryzuje się różnym stopniem ciężkości przebiegu klinicznego, jest formą niewydolności tętnic. Pojęcie to nie obejmuje krążenia wieńcowego oraz mózgowego. Choroba tętnic kończyn dolnych (LEAD, ang. lower extremity artery disease) to jedna z najczęstszych chorób tętnic obwodowych. Choroba tętnic obwodowych jest powodowana miażdżycą, kiedy to blaszka miażdżycowa powoduje zwężenie lub niedrożność tętnic. Choroba tętnic obwodowych jest najczęściej definiowana jako wskaźnik kostka-ramię (ABI, ang. ankle brachial index) o wartości $\leq 0,9$. Objawy PAD mogą być bardzo różne, ponieważ zależą od lokalizacji choroby. W wyniku choroby dochodzi do licznych zaburzeń, dotyczących głównie funkcji chodu, a także do obniżenia wytrzymałości i tolerancji wysiłkowej. Przyczynia się również do obniżenia aktywności ruchowej i jakości życia, koreluje ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia zawału mięśnia sercowego i udaru mózgu (Jones i wsp., 2013).

Choroba tętnic obwodowych może mieć bezobjawową postać, jednak wielu chorych doświadcza chromania przestankowego (IC, ang. intermittent claudication), czyli bólu mięśni kończyn dolnych podczas marszu (Crawford i wsp., 2016). Według klasyfikacji Fontaine'a chromanie przestankowe jest objawem drugiego stopnia miażdżycy zarostowej tętnic kończyn dolnych. Krytyczne niedokrwienie kończyny występuje, gdy zmniejszenie przepływu krwi jest na tyle poważne, że powoduje ból podczas odpoczynku, bądź powoduje zanik tkanek (owrzodzenie lub gangrenę). Choroba tętnic obwodowych jest na tyle niebezpieczna, że 10–15% pacjentów z chromaniem przestankowym umiera w przeciągu pięciu lat od diagnozy (Morley i wsp., 2018). Dlatego też już na wstępnym etapie procesu chorobowego niezbędne jest wypracowanie efektywnego schematu postępowania, które powinno rozpoczynać się od identyfikacji, a następnie redukcji czynników ryzyka rozwoju choroby tętnic obwodowych.

1.1. Epidemiologia choroby tętnic obwodowych

Szacuje się, że choroba tętnic obwodowych dotyczy 202 milionów osób na świecie (Fowkes i wsp., 2013). Częstość jej występowania jest na poziomie 3–10%, a u osób powyżej 70. roku życia na poziomie 14–29%. Choroba ta częściej występuje u mężczyzn.

W rozwiniętych krajach Europy Zachodniej miażdżycę tętnic obwodowych występuje u 12–20% populacji chorych powyżej 60 r.ż. Szacuje się, że w Europie oraz USA choruje na nią około 27 milionów ludzi, co stanowi 12–20% kobiet i mężczyzn w przedziale wiekowym między 55 a 65 r.ż. PAD stanowi 25,6% wszystkich chorób sercowo-naczyniowych oraz 1,7% całkowitego globalnego obciążenia chorobami (Bauersachs i wsp., 2019). Około 141 milionów pacjentów z PAD żyje w krajach o niskim lub średnim dochodzie narodowym na mieszkańca. W niedawno opublikowanym przeglądzie danych epidemiologicznych w Europie zwrócono uwagę na wyniki sugerujące zależność występowania PAD z czynnikami społeczno-ekonomicznymi: z separacją/rozwozem, bezrobociem oraz niższym poziomem wykształcenia (Olinic i wsp., 2018). W badaniach populacji świata wykazano znaczący wzrost występowania PAD w latach 1990 do 2010. Ten wzrost dotyczy zarówno wszystkich regionów świata, jak i wszystkich grup wiekowych. W roku 1990 wskaźnik zgonów na 100 000 osób był na poziomie 0,05 dla wieku 44–44 lat i 16,63 dla wieku powyżej 80 lat (Sampson i wsp., 2014). Natomiast w roku 2010 liczby te odpowiednio wzrosły do 0,07 i 28,71. Dramatyczny wzrost częstości występowania PAD jest również zauważalny biorąc pod uwagę mniejszy przedział czasowy. Porównując rok 2010 do roku 2000, wzrost występowania PAD sięga 23,5% (Fowkes i wsp., 2013). Najwyższy wskaźnik długości życia skorygowanej niesprawnością (DALY, ang. disability-adjusted life years) odnotowywany jest w Australii, Zachodniej Europie i Północnej Ameryce i jest równy odpowiednio 40,46 (95% przedział ufności (CI, ang. confidence intervals) 26,46–64,61), 47,88 (95% CI 34,09–67,11), oraz 40,41 (95% CI 26,73–66,25) (Sampson i wsp., 2014). Patrząc na upływ czasu, wzrost wskaźnika DALY jest większy w krajach rozwijających się niż w krajach rozwiniętych.

W literaturze przedmiotu dane epidemiologiczne PAD często opierają się na częstości występowania chromania przestankowego. W wieku około 60 lat roczne wskaźniki występowania chromania przestankowego wahają się od niskiej wartości 0,2% na Islandii (Ingolfsson i wsp., 1994) do wysokiej wartości 0,86% w Izraelu (Bowlin i wsp., 1994). Roczna zapadalność na IC wzrasta z <0,4 na 1 000 u mężczyzn w wieku od 35 do 45 lat do 6 na 1 000 mężczyzn w wieku powyżej 65 lat (Kannel i McGee, 1985). Ciekawe wyniki pokazuje badanie wśród populacji islandzkiej (Ingolfsson i wsp., 1994). Autorzy wykazali, że występowanie IC wśród mężczyzn spadło na przestrzeni lat 1970–1984, gdyż wskaźniki dla mężczyzn w wieku 50 lat spadły z 1,7 na 1 000 w 1970 do 0,6 na 1 000 w 1984 roku, a dla mężczyzn w wieku 70 lat z 6,0 do 2,0. Obserwacja ta może zostać wytłumaczona przez znacznie mniej popularne palenie tytoniu oraz zmniejszenie poziomu cholesterolu we krwi.

Najczęściej występującą formą PAD jest choroba tętnic kończyn dolnych. W kończynach górnych choroba tętnic obwodowych rzadko występuje, gdyż jedynie 3-4% populacji ogólnej ma zdiagnozowaną tę formę PAD (Shadman i wsp., 2004). Warto zauważyć, że u 15-20% osób z już występującą LEAD występuje także choroba tętnic kończyn górnych. Badania wykazały, że stan śródbłonna naczyniowego tętnic kończyny górnej wykazuje korelację z częstością występowania LEAD, rozwojem tej choroby, a co najważniejsze ryzykiem śmierci spowodowanej chorobami układu krążenia (Gallino i wsp., 2014). Poza chorobą tętnic kończyn dolnych oraz górnych, pojęcie PAD obejmuje również miażdżycę tętnic szyjnych. Pośród bezobjawowych pacjentów, miażdżyca tętnic szyjnych jest przyczyną prawie 25% udarów mózgu. Natomiast ryzyko wystąpienia udaru wzrasta aż do 43% u pacjentów z objawową postacią miażdżycy tętnic szyjnych (Szymański, 2014). Wzrost częstości występowania LEAD obserwuje się również w Polsce. W latach 1970-99 występowanie utrzymywało się na poziomie 100 osób na 100 000 mieszkańców (Dorobisz i wsp., 2005). Jednak jedynie przez dwa lata (2000-2002) zaobserwowano wzrost do 131 zachorowań na 100 000 mieszkańców. W Polsce co roku dochodzi do około 40 000 hospitalizacji z powodu PAD kończyn dolnych i niestety do ponad 9 000 amputacji związanych z tą chorobą.

1.2. Czynniki ryzyka choroby tętnic obwodowych

Piśmiennictwo naukowe szczegółowo opisuje czynniki ryzyka choroby tętnic obwodowych. Wśród nich wymienia się te, które dotyczą wszystkich innych chorób układu sercowo-naczyniowego. Do najważniejszych należą: wiek, płeć, palenie tytoniu, cukrzyca, nadciśnienie tętnicze, dyslipidemia, hipercholesterolemia, niewydolność nerek, nadciśnienie tętnicze oraz przewlekły stan zapalny (Dormandy i Rutherford, 2000). Czynniki ryzyka choroby tętnic obwodowych wykazują znacznie silniejszą kolację z faktyczną zachorowalnością w porównaniu z czynnikami ryzyka innych chorób układu sercowo-naczyniowego, są one obecne u 80% pacjentów z chorobą niedokrwienną serca, podczas gdy w przypadku PAD pacjentów liczba ta sięga 95% (Khot i wsp., 2003).

W badaniach populacyjnych wykazano, że mężczyźni z większą liczbą czynników ryzyka PAD są starsi, mają wyższy wskaźnik masy ciała (BMI, ang. body mass index), rzadziej wykonują ćwiczenia fizyczne, częściej zażywają aspirynę (Joosten i wsp., 2012). Wykazano również, że skorygowana pod względem wieku częstotliwość występowania PAD na 100 000 osobolat to 6 przypadków wśród mężczyzn z brakiem czynników ryzyka, 18 przypadków z tylko jednym czynnikiem ryzyka, 39 przypadków z dwoma czynnikami ryzyka,

76 przypadków z trzema czynnikami ryzyka i aż 139 przypadków wśród mężczyzn z czterema czynnikami ryzyka. W momencie diagnozy PAD aż 96% przypadków posiada przynajmniej jeden czynnik ryzyka. Natomiast wielowymiarowy skorygowany współczynnik ryzyka dla każdego dodatkowego czynnika ryzyka wynosi 2,07 (95% CI 1,89–2,26) w porównaniu z brakiem czynników ryzyka. Współwystępowanie czterech czynników powoduje znaczne zwiększenie prawdopodobieństwa wystąpienia PAD. Jak wykazano w obszernym prospektywnym badaniu kohortowym, mężczyźni, którzy palą oraz są obciążeni nadciśnieniem, hipercholesterolemią, jak i cukrzycą typu II, posiadają o 77% wyższe ryzyko wystąpienia PAD (Joosten i wsp., 2012). Wyniki badania Joosten i wsp. (2012) ukazały, że występowanie tylko jednego, któregośkolwiek z czynników ryzyka, jest równoznaczne z ryzykiem absolutnym na poziomie 0,18 na 1 000 osób. Warto zauważyć, że modyfikowalne czynniki ryzyka zdają się potwierdzać zwiększone prawdopodobieństwo wystąpienia PAD w relatywnie krótkim czasie po ich zdiagnozowaniu.

Poza powyżej wymienionymi czynnikami ryzyka rozwoju choroby tętnic obwodowych, wśród pacjentów z PAD można zauważyć również inne zależności. Badania Multi-Ethnic Study on Atherosclerosis wykazały wpływ edukacji na występowanie PAD. Wskaźnik kostka-ramię jest znacząco wyższy dla osób z wykształceniem wyższym w porównaniu z osobami z wykształceniem podstawowym (współczynnik korelacji (r)=0,021; 95% CI 0,008–0,033) (Aboyans i wsp., 2007). Pomimo, że obserwowany w ostatnich dekadach nagły wzrost częstości występowania choroby tętnic obwodowych dotyczy wszystkich regionów świata, znacznie wyższy wzrost odnotowano w krajach o niskim i średnim dochodzie. Do regionów krajów rozwijających się, w których wzrost zachorowań na PAD był największy, zaliczyć należy Karaiby, Europę Środkową, Południową Afrykę Subsaharyjską, Tropikalną Amerykę Łacińską i Azję Wschodnią (Sampson i wsp., 2014).

1.2.1. Rasa

Badanie National Health and Nutrition Examination Survey wykazało, że występowanie ABI o wartości poniżej 0,9 jest częstsze u rasy negroidalnej pochodzenia nie latynoskiego (7,8%) w porównaniu z rasą kaukaską (4,4%) (Selvin i Erlinger, 2004). Inne źródła również potwierdzają zwiększone ryzyko PAD wśród rasy negroidalnej. Populacja Systolic Hypertension in the Elderly Program, a więc populacja seniorów z nadciśnieniem tętniczym, wykazała występowanie PAD na poziomie 38% wśród mężczyzn rasy negroidalnej, a 25% wśród mężczyzn rasy kaukaskiej oraz 41% wśród kobiet rasy negroidalnej i 23% wśród kobiet rasy kaukaskiej (Newman i wsp., 1993). Natomiast Joosten

i wsp., (2012) podaje iloraz szans wystąpienia PAD dla rasy negroidalnej 2,83 (95% CI 1,48–5,42). Populacja Multi-Ethnic Study on Atherosclerosis wskazuje korelację współczynnika ABI na poziomie -0,019 dla rasy negroidalnej (Aboyans i wsp., 2007). Patrząc dokładnie na występowanie PAD wśród różnych grup etnicznych populacji Stanów Zjednoczonych można zauważyć, że u Afroamerykanów notuje się najwyższe występowanie choroby (Allison i wsp., 2007). Umiarkowaną częstotliwość zachorowań zaobserwowano wśród amerykańskich Indian i Latynosów płci męskiej oraz mężczyzn rasy kaukaskiej, natomiast najniższa częstotliwość występuje wśród amerykańskich Azjatów płci męskiej. Ciekawą obserwacją jest fakt wyższego występowania PAD wśród amerykańskich Indian płci żeńskiej w porównaniu do amerykańskich Indian płci męskiej dla praktycznie każdej grupy wiekowej. W populacji Stanów Zjednoczonych będącej powyżej 39 roku życia choroba tętnic obwodowych występuje wśród 5,5% Amerykanów rasy kaukaskiej, 11,6% Afroamerykanów, 2,1% Latynosów, 2,6% amerykańskich Azjatów.

1.2.2. Płeć

Różnice międzypłciowe dotyczą podstawowo wieku, w jakim choroba tętnic obwodowych jest diagnozowana. U kobiet PAD jest diagnozowana o średnio 10-20 lat później niż u mężczyzn (George i wsp., 2015), choć różnice w zapadalności i chorobowości na PAD są mniej wyraźne niż w przypadku innych chorób układu krążenia (Hooi i wsp., 2001). Niemniej jednak objawowa, jak i bezobjawowa PAD dotyka częściej mężczyzn niż kobiet, stosunek mężczyzn do kobiet kształtuje się około 2:1, a w przypadku zaawansowanych stadiów choroby sięga nawet 3:1 (Sampson i wsp., 2014). Różnica pomiędzy kobietami a mężczyznami w częstości występowania PAD zmniejsza się w wieku postmenopauzalnym i postandropauzalnym, kiedy to zachorowalność jest podobna (Mangiafico i wsp., 2006). Wśród kobiet, występowanie chromania przestankowego jest rzadsze niż wśród mężczyzn. Wraz z wiekiem, różnice w częstości występowania IC także maleją. W badaniu Edinburgh Artery Study wśród osób w wieku od 55 do 74 lat odnotowano jedynie 1,6% wyższe występowanie IC u mężczyzn niż u kobiet (Leng i wsp., 1996).

Czynnik płci można tłumaczyć właściwościami estrogenów, który wykazuje liczne działania ochronne na naczynia krwionośne (Schultz i wsp., 2011). Najważniejszymi w tym kontekście wydają się: stymulowanie rozkurczu naczyń krwionośnych, działanie antyoksydacyjne, zmniejszenie indukowanego przez cytokiny zapalenia, a więc tym samym promowanie regeneracji po uszkodzeniu naczyń krwionośnych. Ponadto estrogen obniża

stężenie LDL-cholesterolu (ang. low density lipoprotein cholesterol) i podnosi HDL-cholesterolu (ang. high density lipoprotein cholesterol) (Srivaratharajah i Abramson, 2018).

Co ciekawe pomimo znacznie częstszego występowania PAD wśród mężczyzn, to wśród kobiet obserwuje się szybszy wzrost globalnego występowania PAD oraz znacząco większą niepełnosprawność będącą konsekwencją chorób tętniczych oraz śmiertelność spowodowaną PAD (Sampson i wsp., 2014). W badaniu kohortowym stwierdzono 2,5-krotnie wyższą niedrożność udowo-podkolanową u kobiet w porównaniu z mężczyznami (Ortmann i wsp., 2012). Podobnie w badaniu populacyjnym w Szwecji ciężkie niedokrwienie występowało częściej wśród kobiet niż wśród mężczyzn (Sigvant i wsp., 2007). Ta przewaga występowała we wszystkich grupach wiekowych. Wyższa u kobiet niepełnosprawność będąca konsekwencją PAD objawia się między innymi jako niższa prędkość chodu, mniejszy całkowity dystans możliwy do przejścia oraz obniżona sprawność fizyczna ogólna (McDermott i wsp., 2003).

Powyższe obserwacje można wyjaśnić poprzez czynniki PAD specyficzne dla płci, takiej jak wyższe stężenie białka C reaktywnego u kobiet (CRP, ang. C-reactive protein), powikłania naczyniowe po ciąży (np. stan przedrzucawkowy) oraz stany chorobowe z wyższą częstością występowania u kobiet (niedoczynność tarczycy czy osteoporoza). Przykładowo w dużych badaniach prospektywnych i retrospektywnych wykazano związek między niekorzystnymi skutkami naczyniowymi podczas ciąży, w tym nadciśnieniem tętniczym w ciąży, a długoterminowym ryzykiem sercowo-naczyniowym (Ray i wsp., 2005, Nerenberg i wsp., 2014, Mongraw-Chaffin i wsp., 2010). Z kolei w badaniu The Cardiovascular Health after Maternal Placental Syndromes Trial wykazano, że zespoły łożyskowe matki (definiowane przez obecność któregośkolwiek z następujących: stan przedrzucawkowy, nadciśnienie ciążowe, oderwanie łożyska, zawał łożyska) 3-krotnie zwiększały ryzyko wystąpienia PAD (Ray i wsp., 2005). W badaniu kobiet w wieku poniżej 50 lat, leczonych z powodu miażdżycowo-zakrzepowej choroby niedokrwiennej naczyń krwionośnych wykazano, że wystąpienie więcej niż jednego powikłania ciąży (pośród poronienia, oderwania łożyska, przedwczesnego porodu, cukrzycy ciążowej, stanu przedrzucawkowego i nadciśnienia wywołanego ciążą) wiązało się z 13,7-krotnym wzrostem liczby przypadków miażdżycowo-zakrzepowej choroby niedokrwiennej naczyń krwionośnych (Ben-Ami i wsp., 2010).

Rozważając międzypłciowe różnice w częstości występowania PAD, warto zauważyć, że palenie tytoniu jest znacznie niebezpieczniejszym czynnikiem ryzyka dla mężczyzn, natomiast cukrzyca typu II oraz zaburzenia glikemii zwiększają prawdopodobieństwo

chromania przestankowego cztery razy bardziej u kobiet niż u mężczyzn (Higgins i Higgins, 2003). W wieloośrodkowym badaniu populacyjnym wykazano, że podwyższony poziom CRP prawie czterokrotnie bardziej zwiększał prawdopodobieństwo PAD u kobiet w porównaniu z mężczyznami (Bloemenkamp i wsp., 2002). Podobnie kobiety z przewlekłą niewydolnością nerek mają półtora razy większe ryzyko wystąpienia PAD niż mężczyźni z przewlekłą niewydolnością nerek (Wang i wsp., 2016a).

1.2.3. Wiek

Występowanie choroby tętnic obwodowych dramatycznie rośnie wraz z wiekiem. Choroba tętnic obwodowych występuje wśród 15–20% osób powyżej 70. roku życia, podczas gdy w przedziale wiekowym 50-59 lat jedynie wśród 2,5% populacji (Criqui i Aboyans, 2015). Liczba osób z PAD w wieku 70–74 w 2015 roku wyniosła 16,7 mln (Aday i Matsushita, 2021). Wśród osób młodszych choroba tętnic obwodowych jest bardzo rzadko spotykana. W badaniach National Health and Nutrition Examination Survey przeprowadzonych w USA w latach 1999-2000 wykazano, że w wieku powyżej 40 roku życia występowanie PAD wynosi 4,3%, a dla wieku powyżej 70 roku życia występowanie to wzrasta do 14,5% (Selvin i Erlinger, 2004). Natomiast średnia roczna chorobowość w USA w latach 2003–2008 wynosiła 10,7%, a średnia roczna zapadalność 2,4% (Nehler i wsp., 2014). Badanie przeprowadzone w Kanadzie wykazało podobne wartości występowania PAD – dla populacji badania kohortowego o średniej wieku 63,5 lat było to 8,1% (Hong i wsp., 2016). Z kolei w Niemczech, wśród 6 680 osób (średnia wieku 72,5 lat) PAD wykryto u 19,8% mężczyzn i 16,8% kobiet (Diehm i wsp., 2004). W badaniu choroby zarostowej tętnic obwodowych w Limburgu częstość występowania PAD została oparta na dwóch pomiarach ABI (Hooi i wsp., 2001). Wśród mężczyzn roczna zapadalność wynosiła 1,7 na 1 000 w wieku 40-54 lat, 1,5 na 1 000 w wieku 55-64 lat i 17,8 na 1 000 w wieku wyższym niż 65 lat. Roczna zapadalność u kobiet wynosiła 5,9 dla grupy wiekowej 40-54 lat, 9,1 dla wieku 55-64 lat i 22,9 na 1 000 dla wieku wyższego niż 65 lat.

1.2.4. Palenie tytoniu

Wpływ palenia tytoniu na PAD zaobserwowano już w 1911 roku. Dane epidemiologiczne wskazują, że procent przypisanego ryzyka dla populacji z chorobą tętnic obwodowych dla palenia wynosi 44% (95% CI 33–53) (Joosten i wsp., 2012). U osób palących trzy razy częściej rozwija się choroba tętnic obwodowych niż u osób niepalących (Selvin i Erlinger, 2004). Nowsze publikacje pokazują coraz większą zależność pomiędzy

paleniem i PAD (współczynnik ryzyka (HR, ang hazard ratio) 3,81, CI 95% 3,00–4,84) (Joosten i wsp., 2012). Obserwuje się także liniową zależność pomiędzy liczbą wypalanych papierosów a zwiększeniem ryzyka wystąpienia choroby. Wielowymiarowy skorygowany współczynnik ryzyka dla najcięższych palaczy wynosi 12,89 (95% CI 8,59–19,34) w porównaniu z osobami, które nigdy nie paliły (Joosten i wsp., 2012). Z kolei badanie kohortowe, w którym badacze podzielili uczestników na grupę palącą od 1 do 19 papierosów dziennie i powyżej 20 papierosów dziennie wykazało półtora razy większe ryzyko PAD dla pierwszej grupy (w stosunku do osób niepalących) oraz 3,5-krotny wzrost ryzyka dla drugiej grupy palaczy (Clark i wsp., 2019). Zależność ta jest znacznie silniejsza (dwa do trzech razy) pośród pacjentów z chorobą tętnic obwodowych niż w przypadku pacjentów z niedokrwinną chorobą serca. Co więcej diagnoza PAD pojawia się u osób palących o około 10 lat wcześniej w porównaniu z osobami, które nigdy nie paliły. Leczenie PAD jest również utrudnione u palaczy. W metaanalizie 29 badań wykazano, że ryzyko niepowodzenia operacji wszczepiania bajpasów jest trzykrotnie większe u osób palących (Mascarenhas i wsp., 2014). Oczywiście zaprzestanie palenia zmniejsza występowanie PAD (Hirsch i wsp., 2001). Natomiast jest to proces powolnego zmniejszania ryzyka. Ryzyko PAD pozostaje zwiększone przez aż 20 lat po zaprzestaniu palenia (HR 1,39; 95% CI 1,10–1,76) (Joosten i wsp., 2012). Niektóre badania wskazują nawet na to, że podwyższone przez palenie ryzyko PAD nigdy nie powróci do wartości początkowej, pomimo wieloletniego zaprzestania palenia (Clark i wsp., 2019).

1.2.5. Cukrzyca typu II

Dokładna częstotliwość występowania PAD u osób chorych na cukrzycę typu II jest trudna do ustalenia z powodu wielu czynników, w tym braku specyficznych objawów PAD, osłabienia odczuwania bólu w wyniku neuropatii obwodowej czy też nieodpowiednich badań przesiewowych. Niemniej jednak można założyć, że częstotliwość występowania PAD u chorych na cukrzycę waha się od 20% do 30% w zależności od badanej populacji (Marso i Hiatt, 2006). Według Framingham Heart Study, 20% pacjentów z cukrzycą przejawia objawową postać PAD (Murabito i wsp., 1997). W badaniu 2 559 nowo-zdiagnozowanych pacjentów z cukrzycą wykazano częstotliwość PAD na poziomie 21,1% (Faglia i wsp., 2005). Z kolei w badaniu 6 880 niemieckich pacjentów częstotliwość PAD wynosiła 26,3% (Lange i wsp., 2004). Zbiorcze dane epidemiologiczne wskazują, że procent przypisanego ryzyka dla PAD w populacji dla cukrzycy typu II wynosi 14% (95% CI 10–19) (Joosten i wsp., 2012). Warto zauważyć, że samo występowanie insulinooporności zwiększa ryzyko rozwoju PAD

nawet o 40–50% (Muntner i wsp., 2005). Obecność cukrzycy zwiększa ryzyko rozwoju PAD, powodując dwukrotnie częstsze występowanie PAD u chorych na cukrzycę, z czego obserwuje się dwudziestosześcioprocentowy wzrost ryzyka choroby z każdym 1% podwyższeniem stężenia hemoglobiny glikowanej (HbA_{1c}, ang. hemoglobin A1c) (Selvin i wsp., 2004). Wzrost ryzyka wystąpienia PAD w relacji do stężenia HbA_{1c} kształtuje się podobnie w wielu badaniach. W badaniu United Kingdom Prospective Diabetes Study była to wartość 28% (po 18 latach obserwacji), a 21% w badaniu Bypass Angioplasty Revascularization in Type 2 Diabetes Mellitus (po 4,6 latach interwencji) (Althouse i wsp., 2014).

U pacjentów ze zdiagnozowaną chorobą tętnic obwodowych każdy jednoprocentowy wzrost HbA_{1c} niesie za sobą poważne konsekwencje. Pokazują to między innymi badania Examining Use of Ricagrelor in Peripheral Artery Disease, gdzie na podstawie blisko 14 tysięcy pacjentów wyliczono czternastoprocentowy wzrost ryzyka poważnych niepożądanych zdarzeń sercowo-naczyniowych związany z jednoprocentowym wzrostem HbA_{1c} (Low Wang i wsp., 2018).

Patofizjologia PAD w populacji pacjentów z cukrzycą jest podobna do mechanizmu powstawania wśród tych, którzy nie mają cukrzycy. Jednak w przypadku cukrzycy typu II dodatkowo występuje nadprodukcja końcowych produktów zaawansowanej glikacji (AGEs, ang. advanced glycation end products), a dodatkowo zwiększony poziom stresu oksydacyjnego oraz nasilone czynniki zapalne i dyslipidemii pośrednio lub bezpośrednio potęgują PAD. W badanie kliniczno-kontrolnym potwierdzono, że akumulacja AGEs w tkankach skóry jest zwiększona u pacjentów z PAD (de Vos i wsp., 2013). Ponadto w badaniu kohortowym trwającym 12 lat również wykazano, że system receptorów AGE odgrywa ważną rolę w rozwoju PAD u pacjentów z cukrzycą (Malmstedt i wsp., 2015). Potwierdzone zostały zależności dla rozwoju PAD, ale także dla częstotliwości amputacji.

1.2.6. Nadciśnienie tętnicze

Nadciśnienie tętnicze nie pozostaje bez znaczenia w przypadku choroby tętnic obwodowych. Procent przypisanego ryzyka dla populacji sięga aż 41% (95% CI 31–50) (Joosten i wsp., 2012). Framingham Study donosi o wzroście ryzyka PAD o 2,5 – 4-krotność u pacjentów z nadciśnieniem (Murabito i wsp., 1997). Metaanaliza 1,25 mln pacjentów dostarczyła informacji o wzroście ryzyka PAD o 1,35 (95% CI 1,30–1,40) z każdym wzrostem skurczowego ciśnienia krwi o 20 mmHg, jak również wzroście ryzyka o 1,07 (95% CI 1,34– 1,56) z każdym wzrostem rozkurczowego ciśnienia krwi o 10 mmHg (Rapsomaniki

i wsp., 2014). Pośród wielu analizowanych chorób układu sercowo-naczyniowego, choroba tętnic obwodowych wykazała najsilniejszą korelację między wartościami ciśnienia tętniczego krwi a wzrostem ryzyka zachorowania (HR 1,23; 95% CI 1,20–1,27). W kolejnej analizie, tym razem 4,2 miliona stosunkowo zdrowych osób, również wykazano większe ryzyko wystąpienia PAD z każdym wzrostem skurczowego ciśnienia krwi o 20 mmHg oraz wzrostem rozkurczowego ciśnienia krwi o 10 mmHg (Emdin i wsp., 2015). Warto zauważyć, że u pacjentów w starszym wieku zależność ta była osłabiona. Natomiast w badaniu 33,5 tys. pacjentów z nadciśnieniem oraz przynajmniej jednym dodatkowym czynnikiem ryzyka chorób krążeniowych wykazano, że skurczowe ciśnienie krwi (SBP, ang. systolic blood pressure) wyższe niż 160 mmHg wiąże się z 21% wzrostem ryzyka PAD (w porównaniu do SBP 120-129 mmHg) (Itoga i wsp., 2018). Co ciekawe w tym samym badaniu zaobserwowano, że niższe rozkurczowe ciśnienie krwi (DBP, ang. diastolic blood pressure) także zwiększa ryzyko PAD. Wartości rozkurczowego ciśnienia tętniczego niższe niż 60 mmHg były związane z 72% wzrostem ryzyka PAD (w porównaniu do DBP z zakresu 70-79 mmHg). Podobne wyniki zanotowano w badaniu Multiple Risk Factor Intervention Trial, gdzie zrekrutowano 7,5 tys. mężczyzn z wysokim ryzykiem chorób krążeniowych (Baker i wsp., 2007). Wykazano korelację wyższych wartości DBP z niższym ryzykiem PAD (iloraz szans (OR, ang. Odds Ratio) 0,99; $p = 0,003$). Powyższe zależności pomiędzy ryzykiem PAD a niższym DBP mogą odzwierciedlać fakt, że wyższe wartości ciśnienia tętna i tym samym niższe wartości rozkurczowego ciśnienia krwi mogą być markerem sztywności naczyń krwionośnych. Jak zostało wcześniej wspomniane, liczne badania potwierdzają zależności pomiędzy wyższymi wartościami ciśnienia tętna i ryzykiem PAD (Rapsomaniki i wsp., 2014).

Oceniając asocjację logarytmiczno-liniową nie obserwuje się dalszego obniżenia ryzyka wystąpienia PAD dla wartości ciśnienia tętniczego poniżej 130/85 mmHg (Rapsomaniki i wsp., 2014). Co ciekawe, nadciśnienie uregulowane farmakologicznie nie przywraca ryzyka PAD do wartości początkowej (Joosten i wsp., 2012). Pośród mężczyzn ze zdiagnozowanym nadciśnieniem, ryzyko PAD było wyższe zarówno dla tych, którzy przyjmowali jeden lek regulujący ciśnienie krwi (HR 1,4; 95% CI 1,09–1,78), jak i dwa leki (HR 2,07; 95% CI 1,46–2,78) w porównaniu z osobami, które pomimo nadciśnienia nie przyjmowały leków. Warto zauważyć, że osoby, które jednocześnie mają nadciśnienie oraz PAD, mają znacznie wyższe ryzyko wystąpienia zawału serca czy udaru mózgu. Pacjenci z PAD i z towarzyszącym nadciśnieniem wykazują gorsze prognozowanie. ABI poniżej 0,9 oraz nadciśnienie dwu- do trzykrotnie zwiększa ryzyko śmierci spowodowanej zaburzeniami krążenia. Przykładowo metaanaliza 1,25 mln pacjentów wykazała, że dla osób w wieku 30 lat

i z nadciśnieniem ryzyko wystąpienia choroby sercowo-naczyniowej w ciągu całego życia jest równe 63,3% (95% CI 62,9–63,8), natomiast u osób zdrowych jest to 46,1% (95% CI 45,5–46,8), czyli bezwzględna różnica to 17,2% (95% CI 13,9–20,5) (Rapsomaniki i wsp., 2014). Co więcej liczba utraconych lat życia bez choroby sercowo-naczyniowej związanej z nadciśnieniem wynosi 5,0 lat (95% CI 4,8–5,4) do 30. roku życia, 3,4 lat (95% CI 3,3–3,6) do 60. roku życia, i 1,6 lat (95% CI 1,5–1,7) od 80. roku życia.

1.2.7. Dyslipidemia

Kolejnym czynnikiem ryzyka choroby tętnic obwodowych jest dyslipidemia. Miażdżycę charakteryzuje się nie tylko podwyższonym stężeniem lipidów we krwi, ale również stanem zapalnym, niszczeniem komórek i zwłóknieniem ścian naczyń krwionośnych (Wang i wsp., 2017). To właśnie te patologiczne zmiany prowadzą do choroby tętnic obwodowych, jak i do choroby niedokrwiennej serca i udarów. Epidemiologia PAD wskazuje, że procent przypisanego ryzyka dla populacji dla zaburzeń metabolizmu lipidów wynosi 17% (95% CI 7–26) (Joosten i wsp., 2012). Do głównych czynników ryzyka miażdżycy należy wysoki poziom frakcji cholesterolu o niskiej gęstości a także niskie stężenie frakcji cholesterolu o dużej gęstości (Di Angelantonio i wsp., 2009). Ponadto poziom cholesterolu całkowitego powyżej 270 mg/dl wiąże się z dwukrotnie większym ryzykiem PAD (Ridker i wsp., 2001). Największą zależność obserwuje się jednak pomiędzy ryzykiem PAD a stosunkiem stężenia cholesterolu całkowitego do stężenia HDL-cholesterolu.

Na szczęście po zastosowaniu farmakoterapii przywracającej stężenie cholesterolu całkowitego we krwi do normy, zwiększone ryzyko PAD jest praktycznie eliminowane (Joosten i wsp., 2012). Ponadto obniżenie poziomu LDL-cholesterolu poniżej obecnych wartości docelowych dodatkowo hamuje miażdżycę i zmniejsza liczbę niepożądanych incydentów sercowo-naczyniowych (Grundy i wsp., 2004). Z tego właśnie powodu American Heart Association/ American College of Cardiology zasugerowało docelowe stężenie LDL-cholesterol poniżej 100 mg/dl dla osób z wysokim ryzykiem wystąpienia zdarzeń sercowo-naczyniowych (Greenland i wsp., 2010).

1.2.8. Stan zapalny

Miażdżycę, będącą główną przyczyną chorób naczyń krwionośnych, może być postrzegana jako przejaw przewlekłego stanu zapalnego, co sprzyja dalszemu rozwojowi blaszek miażdżycowych, ale również odgrywa znaczącą rolę w ich niestabilności (Sirico i wsp., 2009). Istnieje kilka potencjalnych markerów stanu zapalnego, które przynajmniej

częściowo odgrywają rolę pro-miażdżycową poprzez mechanizm reakcji zapalnej. Palenie papierosów i cukrzyca, najsilniejsze czynniki ryzyka rozwoju PAD, sprzyjają nasileniu stresu oksydacyjnego, który z kolei bezpośrednio, jak i pośrednio inicjuje stan zapalny (Rahman i Adcock, 2006). Stan zapalny jest również silnie powiązany z nadciśnieniem tętniczym (Hirsch i wsp., 2001). Angiotensyna II stymuluje produkcję reaktywnych form tlenu i zwiększa ekspresję pierwszej cząstki adhezyjnej śródbłonna naczyniowego (VCAM-1, ang. vascular cell adhesion molecule 1), zwiększa również ekspresję cytokin prozapalnych, takich jak interleukina-6 (IL-6, ang. interleukin 6) czy białka chemotaktycznego monocytów-1 (MCP-1, ang. monocyte chemoattractant protein 1) w komórkach mięśni gładkich naczyń krwionośnych (Signorelli i wsp., 2014). Ponadto dyslipidemia może aktywować funkcje zapalne poprzez modyfikację utleniania lipoprotein o małej gęstości i lipoprotein o bardzo małej gęstości. Inne stany, które sprzyjają ogólnoustrojowej odpowiedzi zapalnej, mogące predysponować naczynia tętnicze kończyn dolnych do miażdżycy, to infekcje i choroby przewlekłe, takie jak reumatoidalne zapalenie stawów czy toczeń rumieniowaty układowy.

Związek między białkiem C-reaktywnym a rozwojem PAD był szeroko badany, a na podstawie wyników badań, CRP uznano za niezależny czynnik ryzyka rozwoju PAD (Norgren i wsp., 2007). Podwyższone stężenie CRP u pacjentów bezobjawowych wiąże się z rozwinięciem PAD w przeciągu 5 lat (Ridker i wsp., 2001). Ryzyko PAD przy najwyższym kwartylu prawidłowego CRP jest dwa razy większe niż w przypadku najniższego kwartylu. Ponadto w badaniu Inflammation and Carotid Artery Risk for Atherosclerosis Study wykazano, że poziom białka CRP i surowiczego amyloidu A są wyznacznikami późniejszego rozwoju miażdżycy. Skorygowane ilorazy szans dla rozwoju miażdżycy dla kolejnych kwartyli początkowego poziomu CRP (w porównaniu z najniższym kwartylem) wynosiły 1,87 (95% CI 0,8–4,37), 3,32 (95% CI 1,49–7,39) oraz 3,65 (95% CI 1,65–8,08) (Schillinger i wsp., 2005).

1.2.9. Zaburzenia krzepliwości krwi

Do innych czynników rozwoju choroby tętnic obwodowych należą również zwiększona lepkość krwi, nadmierna krzepliwość i hiperhomocysteinemia. W badaniu retrospektywnym wśród 75 pacjentów z PAD i 75 osób zdrowych wykazano, że średnia objętość płytek krwi (MPV, ang. mean platelet volume) jest niezależnym wskaźnikiem ryzyka rozwoju chorób tętnic obwodowych (Velioglu i Yuksel, 2019). Płytki krwi odgrywają znaczącą rolę w powstawaniu zmian miażdżycowych. MPV jest pośrednim wskaźnikiem aktywności płytek krwi. Podwyższony poziom MPV związany jest z agregacją płytek krwi,

syntezą tromboksanu oraz uwalnianiem cząsteczek adhezyjnych (Karagoz i wsp., 2019). Dlatego też MPV, poza niezależnym czynnikiem ryzyka, jest również wyznacznikiem rozwoju choroby tętnic obwodowych. W badaniu porównującym różne stadia PAD, wysoki poziom MPV wykazał pozytywną korelację ze zwiększonym nasileniem miażdżycy w rozwoju PAD (Demirtas i wsp., 2014). Podwyższony poziom MPV został również powiązany z innymi zaburzeniami w układzie krążenia, takimi jak nadciśnienie (Gang i wsp., 2017), choroba tętnic wieńcowych (Sansanayudh i wsp., 2014), migotanie przedsionków (Makowski i wsp., 2017) czy kardiomiopatia przerostowa (Icli i wsp., 2014).

1.2.10. Hiperhomocysteinemia

Podwyższony poziom homocysteiny został rozpoznany jako niezależny czynnik ryzyka chorób układu krwionośnego. Przykładowo ryzyko choroby tętnic wieńcowych wzrasta o około 20% z każdym podwyższeniem poziomu homocysteiny o 5 $\mu\text{mol/l}$, a ryzyko to wzrasta niezależnie od innych czynników ryzyka choroby wieńcowej (Humphrey i wsp., 2008). Co więcej homocysteina została powiązana zarówno z ogólną śmiertelnością, jak i zgonami związanymi z chorobami układu sercowo-naczyniowego (Selhub, 2008). Zostało również wykazane, że poziom homocysteiny na czczo jest jednoznacznie podwyższony o średnio 31% u pacjentów z każdego rodzaju chorobami układu krążenia w porównaniu ze zdrowymi osobami. W badaniu łączącym w sobie dane z dwóch badań kohortowych (Nurses' Health Study i Health Professionals Follow-up Study) wykazano, że hiperhomocysteinemia ponad dwukrotnie zwiększa ryzyko wystąpienia PAD u mężczyzn (Bertoia i wsp., 2014). Podobnie w badaniu Multi-Ethnic Study of Artherosclerosis potwierdzono zależność pomiędzy hiperhomocysteinemią a występowaniem PAD (Allison i wsp., 2006). Odwrotną korelację pomiędzy wskaźnikiem kostka-ramię a poziomem homocysteiny zaobserwowano u osób starszych (Guéant-Rodriguez i wsp., 2011). Oprócz wyższego występowania PAD wśród pacjentów z hipercholesterolemią, wyższy poziom homocysteiny wykazuje zależności z gorszą sprawnością pacjentów z PAD, ciężkością przebiegu PAD, tempem rozwoju choroby, czy poważniejszymi konsekwencjami typu amputacja (Heneghan i Sultan, 2008). W badaniu kohortowym Framingham Heart Study wykazano, że występowanie $\geq 25\%$ zwężenia tętnicy szyjnej zewnątrzczaszkowej wynosi 25% w najniższym kwartyle homocysteiny, podczas gdy w najwyższym kwartyle na poziomie 57% ($p < 0,001$) (Sundström i Vasan, 2005). Podobne zależności można zauważyć w przypadku udarów mózgu. Relatywne ryzyko wystąpienia udaru w drugim kwartalu poziomu homocysteiny wyniosło 1,32, w trzecim kwartalu 1,44, a w czwartym 1,82 ($p < 0,001$). Wysoki poziom homocysteiny

koreluje również z chorobą wieńcową serca oraz z ciężkością przebiegu tejże choroby (Shenoy i wsp., 2014). Ważnym podkreśleniem jest to, że obniżenie poziomu homocysteiny przynosi korzyści zdrowotne. W badaniu prospektywnym obniżenie poziomu homocysteiny o 25% (o 3 $\mu\text{mol/l}$) spowodowało zmniejszenie ryzyka choroby wieńcowej o 11%, a udaru mózgu o 19% (Homocysteine Studies Collaboration, 2002).

1.3. Rozwój choroby tętnic obwodowych

Miażdżyca jest główną przyczyną chorób naczyń krwionośnych, w tym zawału serca, udaru mózgu oraz choroby naczyń obwodowych. Rozwój schorzenia jest bardzo powolny, a zaczyna się już w dzieciństwie, dając kliniczne objawy zwykle dopiero w średnim lub starszym wieku. Pomimo że etiologia miażdżycy nie jest jeszcze w pełni poznana, przyjmuje się, że jest to wieloczynnikowa choroba wywołana przez działanie wielu czynników ryzyka na predysponowane podłoże genetyczne (Cockerill i Xu, 2011). Wśród czynników ryzyka miażdżycy można wymienić hipercholesterolemię, zaburzenia lipidowe, nadciśnienie, cukrzycę typu II, stan zapalny czy też palenie papierosów.

W przypadku prawidłowego funkcjonowania naczyń krwionośnych, komórki śródbłonna produkują liczne przekaźniki determinujące odpowiednie napięcie mięśni gładkich, adhezję i agregację płytek krwi jak również migrację leukocytów (Aird, 2004). Jednak dysfunkcyjne komórki śródbłonna przekształcają się z antyadhezyjnych na proadhezyjne. Ponadto błona zewnętrzna tętnic staje się bardziej przepuszczalna dla lipoprotein. W ten sposób cholesterol transportowany przez frakcję LDL-cholesterolu dostaje się do błony wewnętrznej tętnicy. Proces usuwania cholesterolu wydłuża się w przypadku nadmiaru frakcji LDL-cholesterolu we krwi. Tym samym dłuższy jest również czas kontaktu cząsteczek cholesterolu z aktywnymi komórkami, takimi jak płytki krwi, makrofagi, leukocyty wielojądrzaste czy też komórki śródbłonna (Guzik, 2002). Cząsteczki LDL-cholesterolu przechodzą różnego rodzaju transformacje (na przykład utlenianie) wywołane przez enzymy czy wolne rodniki pochodzące z wyżej wymienionych aktywnych komórek. Utleniony LDL-cholesterol powoduje dalszy rozwój blaszki miażdżycowej oraz jej destabilizację. Śródbłonek staje się jeszcze bardziej zniszczony i bardziej przepuszczalny dla kolejnych cząsteczek cholesterolu i komórek zapalnych, co z kolei potęguje akumulację płytek krwi. Ponadto utlenione cząsteczki LDL-cholesterolu stymulują makrofagi do syntezy cytokin prozapalnych, czynników wzrostu i wolnych rodników. Modyfikacji ulega również działanie makrofagów, które zaczynają w sposób niepohamowany wchłaniać utlenione cząsteczki lipoprotein (Naruszewicz i Zapolska-Downar, 2006). Rosnące w objętości

makrofagi stają się komórkami piankowatymi. W rezultacie wewnątrz ściany tętnicy powstaje blaszka miażdżycowa składająca się z komórek piankowatych, makrofagów i limfocytów T (Czech i wsp., 2004). Następnie komórki mięśni gładkich są stymulowane do migracji z błony środkowej do błony wewnętrznej. Blaszka miażdżycowa z czasem rozrasta się i tworzy blaszkę włóknisto-tłuszczową (Zapolska-Downar i Zapolska-Downar, 2002). Z kolei dalsza proliferacja powoduje pojawienie się złożonych blaszek miażdżycowych charakteryzujących się zaawansowanym włóknieniem. Komórki piankowate obumierają uwalniając lipidy, które akumulują się pozakomórkowo i kształtują jądro lipidowe. Zmodyfikowane komórki mięśni gładkich syntetyzują kolagen, który otacza jądro lipidowe. Tworzy się pokrywa włóknista blaszki miażdżycowej, która ma za zadanie chronić ją przed pęknięciem. W ten sposób dochodzi do powstania stabilnej blaszki miażdżycowej (Berek i Bobiński, 2009). Blaszki miażdżycowe zmniejszają światło tętnic, zmniejszając tym samym ukrwienie tkanek.

1.4. Objawy choroby tętnic obwodowych

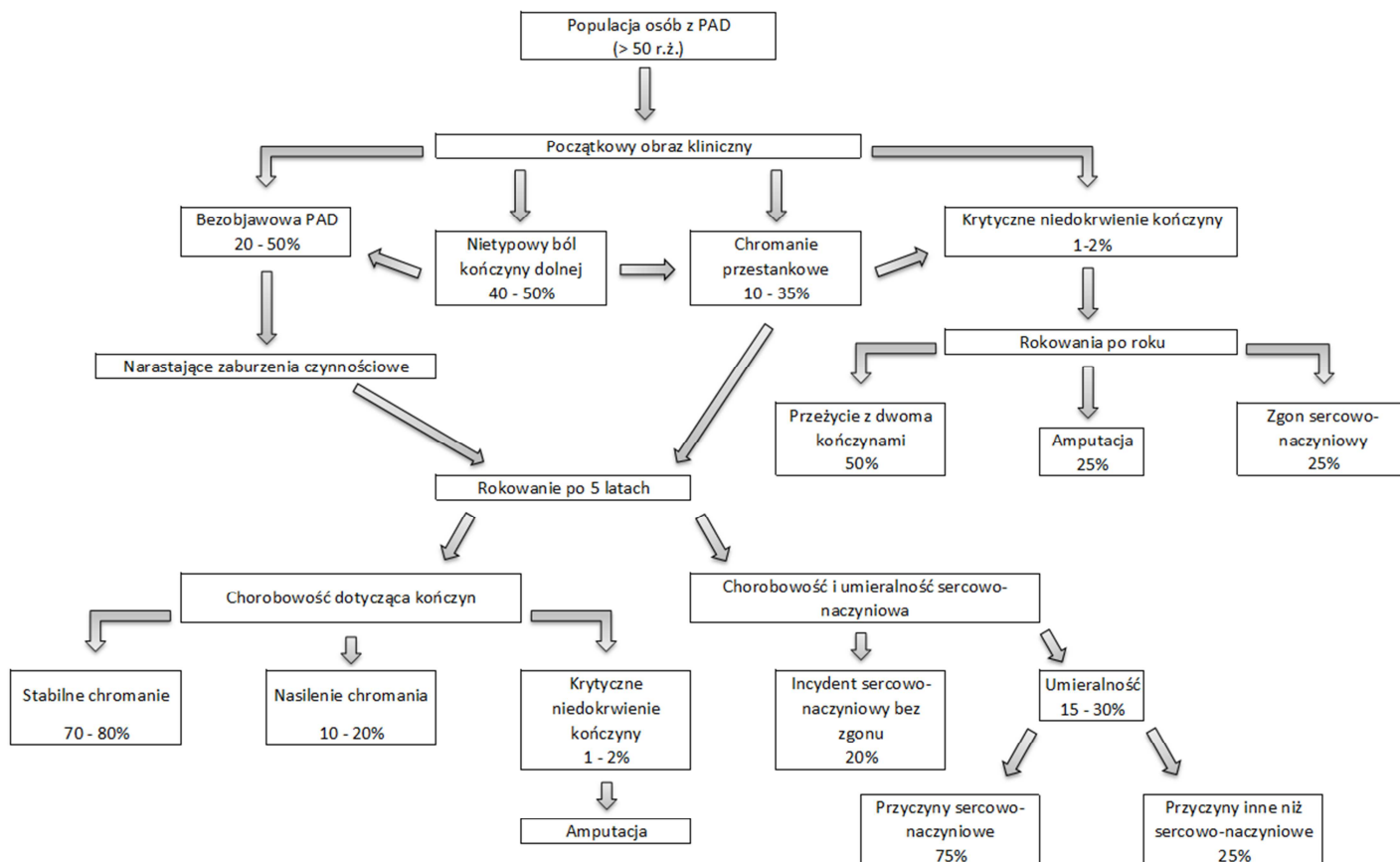
Choroba tętnic obwodowych może mieć różny obraz kliniczny. PAD może mieć postać bezobjawową, w przypadku której nie występują oczywiste objawy, natomiast obecne są zaburzenia czynnościowe diagnozowane w dodatkowych badaniach. Według American College of Cardiology/ American Heart Association (ACC/ AHA) bezobjawowa postać PAD może dotyczyć nawet aż połowy pacjentów (Hirsch i wsp., 2006a).

Choroba może przebiegać bezboleśnie, ale może również występować pewien dyskomfort podczas chodzenia. O obrazie klinicznym w postaci nietypowego bólu kończyny dolnej mówi się, gdy występuje dyskomfort kończyny dolnej o charakterze wysiłkowym. Dystans chodu, który wywołuje dolegliwości jest różny, natomiast ból może ustępować szybko lub dopiero po upływie dłuższego czasu odpoczynku, bądź ulga następuje dopiero po zmianie pozycji ciała. W przypadku pacjentów ze zmianami miażdżycowymi w obrębie aorty czy tętnicy biodrowej, ten dyskomfort wysiłkowy pojawia się w okolicach bioder, pośladków lub ud (Olin i Sealove, 2010). Pacjenci niejednokrotnie skarżą się na zmniejszoną siłę mięśni w tych obszarach.

Jednym z najczęściej występujących objawów w kontekście choroby tętnic obwodowych jest chromanie przestankowe. Nazwa ta pochodzi z języka staropolskiego, gdzie „chromać” oznacza utykać na jedną nogę. Klasyczne chromanie przestankowe definiowane jest jako „ból, dyskomfort, pobołowanie, uczucie ciężkości, zmęczenia, rozpierania, bolesne kurcze mięśni lub pieczenie w obrębie łydki, uda, biodra bądź pośladków, które: 1) występują dzień po dniu w powtarzalny sposób podczas podobnej intensywności chodzenia; 2) ustępują

po kilku minutach od zatrzymania się; 3) po ponownym ruszeniu pojawiają się po przejściu takiej samej odległości” (Jędrusik, 2010). Jeżeli chory kontynuuje chodzenie aż do osiągnięcia poziomu, kiedy to dalsze poruszanie jest zupełnie niemożliwe, ulga może zacząć pojawiać się dopiero po 15-20 minutach odpoczynku. Chromanie przestankowe jest następstwem chwilowego, odwracalnego niedokrwienia mięśni. Przepływ krwi w obwodowych naczyniach krwionośnych jest zależny od systemowego ciśnienia tętniczego oraz oporu obwodowego. Fizjologiczną reakcją na wysiłek fizyczny, a tym samym na zwiększone zapotrzebowanie na tlen, jest rozszerzenie naczyń krwionośnych, a więc i zmniejszenie obwodowego oporu naczyniowego. Wartości ciśnienia tętniczego nawet w dystalnych częściach pozostają takie same. W pacjentów z PAD co prawda dochodzi do rozkurczu naczyń krwionośnych w wyniku wysiłku fizycznego, jednak ze względu na występujące blaszki miażdżycowe i zmniejszone światło naczynia krwionośnego, zwiększenie objętości krwi napływającej do kończyn jest ograniczone. Do dystalnych części ciała dociera więc stała ilość krwi, pomimo że naczynia krwionośne zostały rozszerzone. Tym sposobem podczas wysiłku fizycznego wartości obwodowego ciśnienia tętniczego zmniejszają się (Hiatt i Brass, 2006). Ból towarzyszący chromaniu przestankowemu dotyczy zazwyczaj obszaru o jeden poziom bardziej dystalnie niż lokalizacja niedrożności naczynia krwionośnego. Poza zaburzeniami hemodynamicznymi, u pacjentów z PAD obserwuje się zmiany budowy i czynności mięśni. Wyniki biopsji mięśni pacjentów z PAD wskazują na zmniejszoną proporcję szybko kurczliwych włókien mięśniowych typu II (Pipinos i wsp., 2008). Ta postępująca zmiana prowadzi do coraz szybszego męczenia się mięśni przy wysiłku fizycznym. Ponadto mięśnie pacjentów z PAD mogą ulegać stopniowemu zmniejszeniu unerwienia (Garg i wsp., 2011). U 70-80% pacjentów chromanie przestankowe pozostaje stabilne, a więc dla większości chorych rokowania są dość korzystne (Hirsch i wsp., 2006b). Niestety dla pozostałej części chorych PAD będzie rozwijać się, chromanie przestankowe będzie nasilać się, doprowadzając do niepełnosprawności i krytycznego niedokrwienia kończyn (rycina 1).

Objawami krytycznego niedokrwienia kończyn są dolegliwości, takie jak ból spoczynkowy, owrzodzenia, zgorzel. Spoczynkowy ból niedokrwienno zazwyczaj zaczyna się najpierw dystalnie, początkowo obejmuje tylko palce kończyn. Ból ten jest silniejszy, kiedy kończyna jest uniesiona na przykład w czasie leżenia w łóżku. Dolegliwości ustępują wraz z opuszczeniem kończyny, na przykład w pozycji stojącej czy siedzącej. Pacjenci zgłaszają również dolegliwości, takie jak sztywność stóp i stawów skokowych, osłabienie mięśni, marznięcie kończyn, parestezje. Pacjenci wraz z postępem choroby mogą wymagać rewaskularyzacji lub amputacji (Dormandy i Rutherford, 2000).



Rycina 1. Przebieg choroby tętnic obwodowych i rokowania pacjentów (opracowanie własne na podstawie (Jędrusik, 2010)).

Chromanie przestankowe jest czasem mylone z objawami zwężenia kanału kręgowego czy radikulopatią lędźwiową. Warto zauważyć, że u starszych osób może jednocześnie występować zarówno choroba tętnic obwodowych powodująca chromanie przestankowe jak i zwężenie kanału kręgowego powodujące chromanie rzekome/neurogenne. Określenie, które schorzenie występuje u pacjenta oraz gdzie leży przyczyna pojawiających się objawów, wymaga od lekarza przeprowadzenia szczegółowego wywiadu medycznego. Chromanie rzekome występuje podczas stania, a chromanie przestankowe nie (Krajewski i Olin, 1996). Zarówno chromanie przestankowe, jak i rzekome może zostać wywołane przez wysiłek fizyczny, jak również obejmuje te same miejsca dyskomfortu: pośladki, biodra, uda, łydki i stopy. Dystans, jaki pacjent może przejść zanim pojawią się dolegliwości w chromaniu przestankowym, jest za każdym razem taki sam, ale w chromaniu rzekomym ten dystans jest zwykle zmienny. W przypadku chromania rzekomego wystarczy, aby chory zatrzymał się i stał, a następuje uczucie ulgi. Podczas gdy w chromaniu przestankowym pacjent wielokrotnie musi usiąść lub zmienić pozycję ciała, aby odczuć ulgę w bólu. Chromanie

przestankowe określa się jako ból, uczucie rozpierania, pieczenie, ciężkość, bolesne kurcze mięśni oraz zmęczenie. Natomiast chromanie rzekome definiowane jest jako wszystkie powyższe objawy, ale również mrowienie oraz niezdarność ruchów (Jędrusik, 2010).

1.5. Diagnostyka choroby tętnic obwodowych

Obecnie złotym standardem oceny choroby tętnic obwodowych pod względem stopnia zaawansowania, umiejscowienia zaburzeń krążenia oraz zakresu choroby jest arteriografia. Nie jest to jednak metoda rutynowo stosowana ze względu na swoją inwazyjność oraz występowanie powikłań po badaniu. Co więcej, arteriografia została zastąpiona przez angiografię subtrakcyjną oraz angiografię tomografii komputerowej, jednak testy te są zwykle zbyt drogie, przedwczesne i również niosą za sobą skutki uboczne związane ze stosowaniem środków kontrastujących. W związku z tym pożądana jest dokładna, nieinwazyjna, ale prosta ocena PAD, zwłaszcza w warunkach podstawowej opieki zdrowotnej.

Wskaźnik kostka-ramię to test, który służy do nieinwazyjnej diagnozy PAD. Test ten wykonuje się urządzeniem do pomiaru ciśnienia krwi za pomocą nadmuchiwanego mankieta, a pomiary ciśnienia krwi są wykonywane na ramieniu i kostce. Dzielic najwyższe ciśnienie na kostce (uzyskiwane w tętnicach tylny-krzyżowych, grzbietowych stopu i w razie potrzeby w tętnicach strzałkowych) przez najwyższe ciśnienie skurczowe w ramieniu, uzyskuje się współczynnik ABI (Crawford i wsp., 2016). Zwykle lekarze używali sondy dopplerowskiej do wykrywania sygnałów w tętnicach, ale obecnie dostępne są urządzenia oscylometryczne i fotopletyzmograficzne. Urządzenie może być ręczne lub cyfrowe z automatycznym, elektronicznym obliczaniem ciśnienia krwi. Aktualne wytyczne nie zalecają używania tych nowszych urządzeń, a proponują pozostanie przy ręcznej technice Dopplera (NHS National Institute for Health and Clinical Excellence, 2012). Kliniczne wytyczne z Wielkiej Brytanii zalecają, aby pacjent był w pozycji leżącej i aby ciśnienie krwi mierzone było za pomocą ciśnieniomierza z mankietem o odpowiednim rozmiarze na tętnicy ramiennej i piszczelowej tylnej (Aboyans i wsp., 2012). Wartości stosunku od 0,9 do 1,3 są uznawane za prawidłowe dla dorosłych, a wartość współczynnika mniejsza niż 0,9 wskazują, że występuje PAD (Bhasin i Scott, 2007). Wskaźnik kostka-ramię $\leq 0,90$ charakteryzuje zwężenie tętnic o hemodynamicznym znaczeniu, dlatego też wielokrotnie używany jest jako hemodynamiczna definicja PAD. Niższe odczyty ($<0,7$) sugerują, że choroba jest ciężka i pacjent może mieć owrzodzenia lub gangrenę. ABI poniżej 0,5 jest związane z krytycznym niedokrwieniem kończyn.

ABI jest testem szeroko stosowanym do oceny PAD przez wyspecjalizowane pielęgniarki, lekarzy i chirurgów pracujących w szpitalach. Pracownicy służby zdrowia mogą podążać kilkoma ścieżkami klinicznymi do diagnozowania łagodnej lub umiarkowanej postaci PAD. Mogą mierzyć ABI podczas wizyty w ramach podstawowej opieki zdrowotnej, aby zdiagnozować PAD u członków ogólnej populacji lub jako badanie przesiewowe w kierunku PAD u osób, które nie mają objawów, ale są w grupie wysokiego ryzyka (Fowkes i wsp., 2008). Czasami mierzą ABI u pacjentów, którzy zgłaszają objawy wysiłkowego bólu nóg, czy też podczas rutynowych badań stopy cukrzycowej (Heald i wsp., 2006).

Test oceny ABI jest nieinwazyjny i niedrogi oraz ma szerokie zastosowanie kliniczne. Metoda ta pozwala z 95-procentową pewnością zdiagnozować PAD u pacjentów objawowych ze spoczynkowym $ABI \leq 0,90$ (Norgren i wsp., 2007). W metaanalizie obejmującej 569 pacjentów (922 kończyn) oceniono dokładność diagnostyczną ABI na dobrą, gdyż współczynnik korelacji z angiografią wyniósł 0,87 (Xu i wsp., 2013). Łączna czułość ABI dla diagnozy PAD wyniosła 75%, swoistość 85%, a zbiorczy wskaźnik prawdopodobieństwa dodatniego i ujemnego był równy odpowiednio 4,18 i 0,29. Iloraz szans diagnostycznych na poziomie 15,33 pozwolił autorom metaanalizy na ocenienie pomiaru ABI jako metodę o wysokiej dokładności. Przegląd systematyczny badań obserwacyjnych także dostarczył danych na temat zastosowania ABI jako dobrego narzędzia diagnostycznego PAD w przypadku pacjentów z cukrzycą (Forsythe i wsp., 2020). W tym badaniu czułość została oceniona od 45% do 100%, a swoistość jako 58–97% ze wskaźnikiem prawdopodobieństwa dodatniego 1,69–23,8 i wskaźnikiem prawdopodobieństwa negatywnego 0,02–0,59. Warty uwagi jest fakt, że ABI jest testem wykazującym wyraźnie mniejszą skuteczność w eliminacji diagnozy PAD wśród pacjentów z neuropatią cukrzycową. Niemniej jednak American College of Cardiology wraz z American Heart Association wydało pozytywną opinię na temat zastosowania ABI, jako metody diagnostycznej PAD o czułości z zakresu 79%–95% oraz swoistości powyżej 95% (Hirsch i wsp., 2006a).

W literaturze przedmiotu można spotkać sprzeczne opinie na temat wiarygodności użycia ABI w diagnostyce choroby tętnic obwodowych. W 2013 roku U.S. Preventive Services Task Force uznał dowody naukowe za niewystarczające, aby zalecić badanie przesiewowe ABI u bezobjawowych dorosłych, u których nie rozpoznano PAD, choroby układu krążenia, ciężkiej przewlekłej choroby nerek lub cukrzycy (Curry i wsp., 2018). Z drugiej strony wytyczne ACC/AHA zalecają stosowanie ABI u pacjentów ze zwiększonym ryzykiem, w tym u osób dorosłych w wieku ≥ 65 . roku życia lub osób ≥ 50 . roku życia z historią palenia, cukrzycy lub niegojącymi się ranami (Rooke i wsp., 2012).

Diagnoza PAD przy pomocy kryterium $ABI \leq 0,90$ wykazuje się 17,2% wydajnością przesiewową (Alahdab i wsp., 2015). Heterogeniczność wyników badań przesiewowych była wyraźnie związana z niejednorodnością występowania ryzyka sercowo-naczyniowego, odzwierciedlonego poprzez wiek czy inne czynniki ryzyka. W badaniach, w których wykazano niższą chorobowość (1–4%), objęto pacjentów niższego ryzyka, a więc były to populacje ogólne bez historii choroby serca i w stosunkowo niższym wieku (Ramos i wsp., 2009). W badaniach wykazujących wyższą chorobowość objęto pacjentów starszych, z innymi czynnikami ryzyka, w szczególności z cukrzycą (Sen i wsp., 2009), historią udaru mózgu (Parameswaran i wsp., 2005) lub hospitalizacją (Khammash i wsp., 2008). W badaniach osób z grupy wysokiego ryzyka, wykazano, że im więcej czynników ryzyka występowało u pacjentów, tym wyższa była chorobowość wykryta przez badania przesiewowe. Na przykład, przebadana populacja pacjentów hospitalizowanych o wyższym ryzyku PAD, wykazała występowanie PAD u 34% u chorych na cukrzycę i 25% u osób bez cukrzycy (Khammash i wsp., 2008). W innych badaniach z udziałem pacjentów o średnim ryzyku podano rozbieżne wyniki występowania nieprawidłowego ABI. W trzech dużych, europejskich badaniach kohortowych obejmujących 28 tys., 7,5 tys. oraz prawie 7 tys. pacjentów oraz o stratyfikowanej, losowej próbie, odnotowano następujące częstotliwości występowania nieprawidłowych wartości wskaźnika ABI: 17% dla populacji o średnim wieku 62 lat (Fowkes i wsp., 2010), 18% dla 67 lat (Bendermacher i wsp., 2007), 21% dla 73 lat (Diehm i wsp., 2009), oraz 35% dla 77 lat (McDermott i wsp., 2000).

Wskaźnik kostka-ramię został również przeanalizowany pod względem związku między PAD zidentyfikowanym w badaniach przesiewowych a śmiertelnością i zgonem z przyczyn sercowo-naczyniowych. Połączony skorygowany współczynnik ryzyka wyniósł 2,99 (95% CI 2,16–4,12) dla śmiertelności z jakichkolwiek przyczyn i 2,35 (95% CI 1,91–2,89) dla śmiertelności z przyczyn sercowo-naczyniowych. Dane na temat śmiertelności z jakichkolwiek przyczyn są niezwykle istotne i umożliwiają wnioskowanie, że badania przesiewowe z zastosowaniem oceny wskaźnika ABI są korzystne dla pacjentów.

W szpitalach do diagnozowania PAD można zastosować inne testy, a wśród nich jest USG Doppler duplex (DUS, ang. Doppler ultrasonography), angiografia tomografii komputerowej (CTA, ang. computed tomography angiography), angiografia rezonansu magnetycznego (MRA, ang. magnetic resonance angiogram) czy też angiografia cewnikowa. National Institute for Health and Care Excellence sugeruje DUS jako pierwszy wybór do obrazowania PAD, a CTA lub MRA ze wzmocnieniem kontrastowym dla tych, którzy potrzebują dalszego obrazowania (NHS National Institute for Health and Clinical Excellence,

2012). Kolejne alternatywne metody diagnostyczne PAD u osób bezobjawowych mają istotne ograniczenia. Kwestionariusz Rose ma niską czułość, a badanie palpacyjne tętna kończyn dolnych ma ograniczoną powtarzalność i niską specyficzność (Alahdab i wsp., 2015).

1.6. Leczenie

1.6.1. Modyfikacja czynników ryzyka

Identyfikacja pacjentów z chorobą tętnic obwodowych wiąże się pierwotnie z modyfikacją sercowo-naczyniowych czynników ryzyka oraz leczeniem chorób współistniejących. Największy nacisk u pacjenta z $ABI \leq 0,90$ kładzie się na rzucenie palenia, redukcję masy ciała, zwiększenie frakcji HDL-cholesterolu oraz apolipoproteiny A1, zmniejszenie nadciśnienia tętniczego, ścisłą kontrolę glikemii i utrzymanie stężenia $HbA_{1c} < 7,0\%$ lub jak najbliżej $6,0\%$, jak również suplementację kwasu foliowego oraz długoterminowe przyjmowanie leków przeciwzakrzepowych (Norgren i wsp., 2007). Powyższa modyfikacja czynników ryzyka ma za zadanie przeciwdziałanie wystąpienia epizodu sercowo-naczyniowego. Nadzorowane programy ćwiczeń mogą również prowadzić do poprawy objawowej postaci PAD. Jeżeli po przeprowadzeniu modyfikacji czynników ryzyka trwającej minimum pół roku, nadal występują ograniczenia spowodowane przez PAD, które wpływają na jakość życia, podejmuje się terapię chromania przestankowego lub rewaskularyzację.

1.6.2. Rezygnacja z palenia tytoniu

Palenie wiąże się ze znacznym zwiększonym ryzykiem miażdżycy tętnic obwodowych. Liczba paczkolet jest związana z poważniejszym rozwojem choroby, zwiększonym ryzykiem amputacji, jak i zwiększoną śmiertelnością (Critchley i Capewell, 2003). Biorąc pod uwagę te korelacje, zaprzestanie palenia jest bardzo ważnym elementem postępowania terapeutycznego w PAD. U palaczy w średnim wieku z upośledzoną czynnością płuc zalecenie lekarza dotyczące rzucenia palenia w połączeniu z formalnym programem zaprzestania palenia i zastąpieniem nikotyny wiązało się z 22% wskaźnikiem zaprzestania palenia po 5 latach w porównaniu z jedynie 5% wskaźnikiem zaprzestania palenia w grupie standardowej opieki (Anthonisen i wsp., 2005). Po 14 lat grupa interwencyjna miała znacznie mniejszą śmiertelność niż grupa kontrolna. Obecnie dla pacjenta dostępne są leki ułatwiające rzucenie palenia. Szereg badań klinicznych potwierdziło efektywność stosowania bupropionu u pacjentów z chorobami układu krążenia. Przykładowo w grupie przyjmującej bupropion odsetek abstynencji w 3, 6 i 12 miesiącach wynosił

odpowiednio 34%, 27% i 22%, w porównaniu z 15%, 11% i 9%, w grupie placebo (Tonstad i wsp., 2003). Ponadto wykazano, że skojarzenie bupropionu i nikotynowej terapii zastępczej jest skuteczniejsze niż terapia pojedyncza (Jorenby i wsp., 1999). Dlatego też praktycznym podejściem maksymalizującym wskaźniki zaprzestania palenia byłoby zachęcanie lekarzy do rozmowy o paleniu podczas każdej wizyty pacjenta wraz z modyfikacją zachowania, nikotynową terapią zastępczą i lekiem przeciwdepresyjnym, jakim jest bupropion.

Jednak rola zaprzestania palenia tytoniu w leczeniu objawów chromania przestankowego nie jest już tak jasna. W badaniach wykazano, że zaprzestanie palenia wiąże się z wydłużeniem dystansu spacerowego u niektórych, ale nie u wszystkich pacjentów z chromaniem przestankowym (Norgren i wsp., 2007). Dlatego należy zachęcać pacjentów do rzucenia palenia przede wszystkim w celu zmniejszenia ryzyka incydentów sercowo-naczyniowych, a także ryzyka progresji do amputacji i progresji choroby tętnic obwodowych, ale nie należy obiecywać im poprawy objawów natychmiast po zaprzestaniu palenia. Metaanaliza 29 badań wykazała trzykrotnie większe ryzyko niepowodzenia przeszczepu po operacji bajpasów przy kontynuowaniu palenia, przy jednoczesnym zmniejszeniu tego ryzyka w porównaniu z osobami niepalącymi po zaprzestaniu palenia (Willigendael i wsp., 2005).

1.6.3. Nadwaga, otyłość i dieta

Zgodnie z konsensusem postępowania w chorobie tętnic obwodowych pacjenci z nadwagą (BMI 25-29,99) lub otyli pacjenci (BMI ≥ 30) powinni otrzymać porady dotyczące redukcji masy ciała za pomocą osiągnięcia ujemnego bilansu kalorycznego poprzez zmniejszenie spożycia kalorii, ograniczenie węglowodanów i wzmożony wysiłek fizyczny (Norgren i wsp., 2007). Ponad 65% dorosłych z PAD ma nadwagę lub otyłość, a 78% charakteryzuje się niedoborami witamin i minerałów (Thomas i wsp., 2019). Zarówno suboptymalny stan odżywienia, jak i wysoka masa tłuszczowa są związane z pogorszeniem stanu naczyń krwionośnych u pacjentów z PAD i chromaniem przestankowym (Gardner i wsp., 2011). Poradnictwo żywieniowe i kontrola masy ciała mają ogromne znaczenie w postępowaniu z PAD (Hirsch i wsp., 2001). Prewencja pierwotna z naciskiem na zdrowe nawyki żywieniowe jest korzystna pod względem zmniejszania częstotliwości występowania PAD, natomiast profilaktyka wtórna jest przydatna w spowolnieniu progresji PAD i złagodzeniu objawów chromania przestankowego (Unkart i wsp., 2019). W badaniu Global Burden of Disease (GBD) przeanalizowano związek między pojedynczymi dietetycznymi czynnikami ryzyka a chorobami układu krążenia (Meier i wsp., 2019). Według GBD ponad 9,1 mln zgonów z powodu chorób układu krążenia na całym świecie można przypisać

zagrożeniom dietetycznym (Global Burden of Disease Cancer Collaboration, 2019). Dlatego też zoptymalizowane wzorce żywieniowe mogą pomóc w przezwycięzeniu obciążenia chorobami układu krążenia. Jeśli chodzi o grupy żywności i składników odżywczych, pięć czynników ryzyka miało ułamek większy niż 10% całkowitego obciążenia chorobami układu krążenia związanego z dietą: dieta uboga w produkty pełnoziarniste (20,4%), dieta uboga w orzechy i nasiona (16,2%), dieta uboga w owoce (12,5%), dieta bogata w sód (12,0%) i dieta uboga w kwasy omega-3 z ryb i owoców morza (10,8%) (Meier i wsp., 2019). Częstotliwość występowania PAD była wyższa u pacjentów, którzy spożywali większe ilości tłuszczów nasyconych, mięsa i produktów pochodzenia zwierzęcego. Z drugiej zaś strony, pokarmy bogate w błonnik, takie jak produkty zbożowe, a także przeciwutleniacze (witaminy A, C, E) i tłuszcze wielonienasycone pełnią rolę ochronną (Fontana, 2018, Nosova i wsp., 2015).

Spożycie wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (PUFA ang. polyunsaturated fatty acid) jest niezbędne. Głównymi źródłami PUFA, a dokładniej omega-3 są tłuste ryby (śledź, makrela i łosoś, sieja, golec), siemię lniane i orzechy, a omega-6 oleje roślinne (olej szafranowy, masło orzechowe, olej z awokado itp.). Omega-3 PUFA regulują ciśnienie krwi i odpowiedź zakrzepową. Są zaangażowane w hamowanie produkcji eikozanoidów i osłabiają odpowiedź zapalną w ścianach tętnic (Wall i wsp., 2010). American Heart Association zaleca tygodniowe spożycie ≥ 200 mg omega-3 (dwie porcje tłustych ryb w tygodniu lub doustne suplementy omega-3) (Rimm i wsp., 2018).

Diety roślinne powiązano z potencjalnymi korzyściami dla zdrowia układu sercowo-naczyniowego. Fitosterole, steroidy o podobnej budowie do cholesterolu, są związane z niższymi poziomami LDL-cholesterolu w osoczu (Andersson i wsp., 2004, Katan i wsp., 2003). Zalecane jest spożycie 2 g fitosteroli i flawonoli dziennie (Sabeva i wsp., 2011). Głównym źródłem flawonoli są owoce i warzywa, przy czym katechina (obecna również w zielonej herbacie i kakao) jest głównym związkiem flawonowym (Falcone Ferreyra i wsp., 2012). Flawonole mogą zmniejszać produkcję cytokin prozapalnych i chemokin przez komórki śródbłonna naczyniowego. Podobnie siarkowodór, pochodna allicyny (wtórnego metabolitu czosnku) może zmniejszać przyleganie leukocytów w ścianie tętnic i tworzenie komórek piankowatych (Yamakuchi i wsp., 2008).

Wyniki dużego badania kohortowego potwierdzają, że dieta śródziemnomorska jest skuteczna zarówno w prewencji pierwotnej, jak i wtórnej incydentów sercowo-naczyniowych (Ruiz-Canela i wsp., 2014). Jest to prawdopodobnie osiąganę poprzez redukcję poziomu stresu oksydacyjnego. Liczne związki polifenolowe, w tym oleuropeina, tyrosol

i hydroksytyrosol, znajdujące się w oliwie z oliwek mają działanie przeciwzapalne (Massaro i wsp., 2010). Badanie EUROLIVE ujawniło, że spożywanie oliwy z oliwek z pierwszego tłoczenia może zmniejszyć stres oksydacyjny i poziom triacylogliceroli, jednocześnie zwiększając poziom HDL-cholesterolu w osoczu (Covas i wsp., 2006).

Wśród witamin, wykazano, że witamina E i C oraz suplementacja potasem, cynkiem i magnezem mają działanie kardioprotekcyjne. Podstawowy mechanizm ochronny opiera się na redukcji stresu oksydacyjnego, stabilizowaniu w ten sposób blaszki miażdżycowej i regulacji wahań ciśnienia krwi (Honarbakhsh i Schachter, 2009).

1.6.4. Dyslipidemia

Kontrola parametrów profilu lipidowego u pacjenta z PAD jest jednym z podstawowych działań podejmowanych od momentu diagnozy. Terapie obniżające poziom LDL-cholesterolu obejmują przyjmowanie inhibitorów reduktazy hydroksymetyloglutarylo-CoA (HMG-CoA) (statyny), żywic jonowymiennych, ezetymibu czy też aferezę LDL-cholesterolu i bypass jelita cienkiego. Pomimo dostępności wielu metod, statyny pozostają dominującą formą leczenia również ze względu na dużą liczbę klinicznych i fizjologicznych dowodów naukowych na korzystny wpływ tych leków na regresję miażdżycy oraz prewencję pierwotną i wtórną (Nicholls i Puri, 2011). Reduktaza HMG-CoA jest enzymem organiczającym szybkość na szlaku prowadzącym do endogennej syntezy cholesterolu w wątrobie. Hamowanie tego enzymu powoduje zwiększenie aktywności wątrobowych receptorów LDL-cholesterolu, a następnie usunięcie LDL-cholesterolu z krwiobiegu. Warto zauważyć, że leczenie statynami wpływa korzystnie nie tylko na ilość, ale także na jakość LDL-cholesterolu, jako że odnotowano zmniejszenie liczby cząstek małych, gęstych LDL (sd-LDL, ang. small dense low density lipoprotein) (Clementi i wsp., 2012). Ponadto statyny poprawiają funkcjonalność cząsteczek HDL-cholesterolu. Statyny są dobrze tolerowane i powodują znaczne obniżenie stężenia LDL-cholesterolu w osoczu, w połączeniu z niewielkim wzrostem stężenia HDL-cholesterolu. U mniejszości pacjentów dochodzi do podwyższenia aktywności aminotransferaz wątrobowych i zapalenia mięśni, a rabdomioliza występuje niezwykle rzadko (Gomaraschi i wsp., 2015).

Statyny powodują zmniejszenie względnego ryzyka o 20-40% zarówno pierwotnych, jak i wtórnych zdarzeń sercowo-naczyniowych. Badanie West Of Scotland Coronary Prevention Study było pierwszym badaniem dotyczącym prewencji pierwotnej, które wykazało 31% i 33% redukcję śmiertelnych i niezakończonych zgonem incydentów sercowo-naczyniowych (Vallejo-Vaz i wsp., 2017). W badaniu tym brali udział mężczyźni w średnim

wieku o poziomie cholesterolu całkowitego powyżej 6,5 mmol/l, którzy przyjmowali prawastatynę przez 5 lat. Z kolei w AFCAPS/TexCAPS badaniu, w którym wzięli udział pacjenci o średnim stężeniu cholesterolu całkowitego 5,7 mmol/l, którzy przez 5 lat przyjmowali lowastatyny, wykazano zmniejszenie łącznego punktu końcowego nagłej śmierci z powodu zdarzeń sercowo-naczyniowych o 33% (Gotto, 2007). Natomiast w badaniu JUPITER, gdzie pacjenci nie mieli hiperlipidemii (średnia wartość stężenia LDL-cholesterolu poniżej 3,4 mmol/l), ale mieli podwyższony poziom wysoce wrażliwego białka C-reaktywnego (hsCRP) (powyżej 2 mg/l), przyjmowanie przez 2 lata 20 mg rozuwastatyny zmniejszyło względne ryzyko incydentów sercowo-naczyniowych, rewaskularyzację tętnic, ryzyko hospitalizacji lub zgonu z przyczyn sercowo-naczyniowych o 23% (Ridker i wsp., 2012). Autorzy tego badania podkreślali główną korzyść statyn w postaci zmniejszenia wartości stężenia LDL-cholesterolu u pacjentów z ogólnoustrojowym stanem zapalnym. W ramach Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S) 4 444 pacjentów z rozpoznaną chorobą wieńcową i stężeniem cholesterolu całkowitego od 5,5 do 8 mmol/l przydzielono losowo do leczenia simwastatyną lub placebo (Pedersen i wsp., 2004). Po 5,4 roku pierwotny punkt końcowy śmiertelności z jakiegokolwiek przyczyny zmniejszył się o 30% po zastosowaniu symwastatyny. Podobny efekt zmniejszenia śmiertelności zaobserwowano w badaniu Heart Protection Study, gdzie 20 536 pacjentów z rozpoznaną miażdżycą i wartością stężenia cholesterolu całkowitego większą niż 3,5 mmol/l przydzielono losowo do grupy leczonej symwastatyną lub placebo (Heart Protection Study Collaborative Group, 2002). W grupie leczonej symwastatyną stwierdzono istotne zmniejszenie śmiertelności z jakiegokolwiek przyczyny (13%), śmiertelności z przyczyn sercowo-naczyniowych (17%), zdarzeń wieńcowych (27%) i udaru mózgu (25%).

Regresja miażdżycy w naczyniach wieńcowych jest potwierdzonym, zastępczym punktem końcowym redukcji zdarzeń klinicznych obserwowanych w przypadku terapii statynami. W badaniach, gdzie wykorzystuje się ultrasonografię wewnątrznaczyniową (IVUS, ang. intravascular ultrasound), również podkreśla się korzyści wynikające z obniżenia stężenia LDL-cholesterolu na ścianie naczynia wieńcowego. Spójną obserwacją w badaniach IVUS jest silna liniowa zależność między średnimi wartościami stężenia LDL-cholesterolu uzyskanymi podczas terapii statynami a medianą wskaźnika progresji-regresji miażdżycy. W badaniu Reversal of Atherosclerosis with Aggressive Lipid Lowering (REVERSAL) zatrzymanie progresji choroby osiągnięto dzięki agresywnemu obniżeniu stężenia LDL-cholesterolu do 2,0 mmol/l za pomocą atorwastatyny (80 mg/ dobę) w porównaniu z progresją blaszki miażdżycowej obserwowaną u pacjentów przydzielonych do grupy umiarkowanego

obniżenia LDL-cholesterolu po zastosowaniu prawastatyny 40 mg/ dobę i osiągnięciu średniego stężenia LDL-cholesterolu na poziomie 2,9 mmol/l (Nissen i wsp., 2004). Badanie ASTEROID (badanie oceniające wpływ rozuwastatyny na wewnątrznacyniowe badanie ultrasonograficzne - obciążenie miażdżycą tętnic wieńcowych) było pierwszą próbą na dużą skalę, która wykazała, że regresję płytki miażdżycowej można osiągnąć poprzez intensywne obniżenie stężenia LDL-cholesterolu do poziomów niższych niż osiągnięte w badaniu REVERSAL (Nissen i wsp., 2006). Rozuwastatyna w dawce 40 mg/ dobę obniżyła stężenie LDL-cholesterolu do 1,6 mmol/l i osiągnięto redukcję wszystkich pomiarów objętościowych obciążenia blaszkami miażdżycowymi. Natomiast zbiorcza analiza ponad 4 000 pacjentów poddanych seryjnemu obrazowaniu wieńcowemu IVUS wykazała bezpośredni związek między początkowym obciążeniem blaszkami i jego progresją a poważnymi niekorzystnymi zdarzeniami sercowo-naczyniowymi (Nicholls i wsp., 2010).

Ciekawą obserwacją jest fakt, że normalizacja poziomu LDL-cholesterolu we krwi, która przynosi korzyści względem ryzyka choroby tętnic obwodowych, niekoniecznie poprawia zdolności funkcjonalne, takie jak perfuzja mięśni łydki czy możliwości wykonywania ćwiczeń fizycznych (West i wsp., 2011). Podobnie jakość życia, obniżona na skutek zaburzeń krążenia, może nadal pozostać pogorszona pomimo normalizacji stężenia LDL-cholesterolu. Z drugiej strony w innych badaniach podaje się, że kontrola dyslipidemii za pomocą statyn przynosi wymierne korzyści w postaci dłuższego dystansu pokonanego bez bólu czy też czasu ćwiczeń na bieżni (Markel, 2015).

Normalizacja profilu lipidowego poprzez przyjmowanie statyn jest również efektywna w obniżaniu śmiertelności. Potwierdza to badanie kohortowe obejmujące 1 107 pacjentów z chropaniem przestankowym (Kumakura i wsp., 2017). Co warto zauważyć, rewaskularyzacja nie przyniosła znaczących efektów ani w ogólnej śmiertelności, ani w obniżeniu poważnych niepożądanych zdarzeń sercowo-naczyniowych. Pośród pacjentów z krytycznym niedokrwieniem kończyn obserwowane są podobne pozytywne skutki przyjmowania statyn. W badaniach obserwacyjnych wykazano, że wśród tych pacjentów statyny redukują całkowitą śmiertelność i zdarzenia sercowo-naczyniowe, jak również zwiększają przeżycie bez amputacji (Westin i wsp., 2014). Takie korzyści zaobserwowano również w rejestrze CRITISCH (First-Line Treatment in Patients with Critical Limb Ischemia), gdzie zwiększone przeżycie bez amputacji odnotowano wśród leczonych statynami pacjentów różnych populacji: cukrzyca typu II, przewlekła choroba nerek, osoby starsze niż 75 lat, osoby przechodzące terapię wewnątrznacyniową lub rewaskularyzację pomostową (Stavroulakis i wsp., 2017). Podobnie według rejestru REACH (Reduction of

Atherothrombosis for Continued Health) leczenie statynami związane było z niższym odsetkiem komplikacji w obrębie kończyn, takich jak nasilenie objawów PAD, amputacja czy rewaskularyzacja (Kumbhani i wsp., 2014). Co więcej przedoperacyjne leczenie statynami podnosi efektywność zabiegów wewnątrznaczyniowych lub chirurgicznych, a zobrazone zostało to poprzez zmniejszoną częstotliwość występowania chromania przestankowego, bólu podczas spoczynku, czy braku poprawy owrzodzeń podczas kontroli rok po operacji (Vogel i wsp., 2013). Terapia statynami zmniejsza również całkowitą śmiertelność pacjentów z PAD, jak i z migotaniem przedsionków (Proietti i wsp., 2017). Niemniej jednak w literaturze przedmiotu można spotkać doniesienia, że leczenie statynami pacjentów z chorobą tętnic obwodowych nie zmniejsza częstości amputacji. Przykładem może być przegląd systematyczny, w którym omawiano dużą liczbę randomizowanych prób kontrolnych, jedną metaanalizę oraz wiele badań obserwacyjnych (Harris i wsp., 2016).

Pomimo, że korzyści kliniczne obserwowane w badaniach nad statynami można przewidzieć na podstawie stopnia obniżenia stężenia LDL-cholesterolu, uważa się, że statyny wywierają działanie ochronne na naczynia krwionośne, w którym pośredniczą różne mechanizmy, w tym inne niż bezpośrednie obniżenie wartości stężenia LDL-cholesterolu. Te sugerowane mechanizmy plejotropowe obejmują działanie przeciwzakrzepowe, przeciwzapalne, przeciwutleniające, rozszerzające naczynia krwionośne i przeciwproliferacyjne (Nicholls i Puri, 2011).

Chociaż jednoznaczne korzyści wynikające z obniżenia stężenia LDL-cholesterolu zostały wykazane w wielu badaniach klinicznych, zmniejszenie częstości incydentów o nie więcej niż 40% sugeruje, że dodatkowe mechanizmy są zaangażowane w pośredniczenie w zdarzeniach sercowo-naczyniowych i że w celu osiągnięcia większej skuteczności w redukcji ryzyka sercowo-naczyniowego wymagane są dodatkowe strategie. Normalizacja stężenia HDL-cholesterolu wyłania się jako ważny cel terapeutyczny w modulacji ryzyka sercowo-naczyniowego. W badaniu Framingham stwierdzono, że stężenie HDL-cholesterol jest najsilniejszym biochemicznym predyktorem wyników sercowo-naczyniowych (D'Agostino i wsp., 2008). W metaanalizie zbiorczej czterech badań populacyjnych oszacowano, że każdy wzrost wartości stężenia HDL-cholesterolu o 1 µg/dl wiąże się z 2-3% zmniejszeniem ryzyka sercowo-naczyniowego (Nicholls i Puri, 2011). Postuluje się wiele strategii, które zwiększają stężenia HDL-cholesterolu. Metody nefarmakologiczne obejmują utratę masy ciała, zaprzestanie palenia i ograniczenie spożycia alkoholu. Natomiast strategie farmakologiczne obejmują fibraty, statyny i kwas nikotynowy, które podnoszą stężenie HDL-cholesterolu odpowiednio o 10–35%, 5–15% i 15–35%. W badaniach nad pierwotną i wtórną

prewencją wykazano, że fibraty zmniejszają częstość zdarzeń klinicznych. W badaniach Helsinki Heart Study wykazano, że 11% wzrost stężenia HDL-cholesterolu związany jest z 34% redukcją zgonów z przyczyn sercowo-naczyniowych po zastosowaniu gemfibrozylu (Barter i Rye, 2008). Każdy 1% wzrost stężenia HDL-cholesterolu wiąże się z 3% redukcją ryzyka zdarzenia sercowo-naczyniowego. Podobną korzyść ze stosowania gemfibrozylu u pacjentów z niskim stężeniem HDL-cholesterolu obserwowano w badaniu Veterans Affairs High-Density Lipoprotein Intervention Trial, gdzie 6% wzrost stężenia HDL-cholesterolu spowodował 22% redukcję zgonów z przyczyn sercowo-naczyniowych (Shaik i Rosenson, 2021).

Niacyna jest obecnie najskuteczniejszą metodą podnoszenia stężenia HDL-cholesterolu. W kilku badaniach wykazano, że stosowanie niacyny w połączeniu z innymi środkami modyfikującymi lipidy ma istotny wpływ na względne zmniejszenie ryzyka i progresję choroby. W badanie HDL in Atherosclerosis Study wykazano, że stosowanie symwastatyny i niacyny podnosi stężenie HDL-cholesterolu o 24%, obniża stężenie LDL-cholesterolu o 42% i sprzyja regresji miażdżycy wykrywalnej angiograficznie (Brown i wsp., 2001). Ponadto zaobserwowano 60% zmniejszenie względnego ryzyka poważnych zdarzeń sercowo-naczyniowych. Korzyści z dodania niacyny o przedłużonym uwalnianiu do terapii statynami zaobserwowano również w badaniu Arterial Biology for the Investigation of the Treatment Effects of Reducing Cholesterol, w którym wzrost stężenia HDL-cholesterolu o 0,21 mmol/l spowolnił progresję grubości błony wewnętrznej środkowej tętnicy szyjnej (CIMT, ang. carotid intima-media thickness) u pacjentów ze stężeniem HDL-cholesterolu niższego niż 1,2 mmol/l (Taylor i wsp., 2004). W innym badaniu, podanie niacyny (dla zwiększenia wartości stężenia HDL-cholesterolu) było efektywniejsze od stosowania ezetymibu (w celu dalszego obniżenia stężenia LDL-cholesterolu) w grupie pacjentów już leczonych statyną, gdzie grupa niacyna/statyna doświadczyła istotnej regresji CIMT w porównaniu z grupą ezetymib/statyna (Villines i wsp., 2010).

HDL-cholesterol pozostaje atrakcyjnym celem modyfikacji przez terapie promujące redukcję ryzyka sercowo-naczyniowego. Jednak złożoność HDL-cholesterolu stanowi duże wyzwanie w określeniu optymalnego podejścia terapeutycznego. Chociaż wiele publikacji zaproponowało docelowe wartości stężenia HDL-cholesterolu, obecnie nie ma dowodów na to, że leczenie do określonego poziomu przynosi korzyści kliniczne. Jako minimum wydaje się, że rozsądna byłaby próba podniesienia stężenia HDL-cholesterolu powyżej stężeń uznawanych za związane ze wzrostem ryzyka sercowo-naczyniowego (1,01 mmol/l u mężczyzn i 1,28 mmol/l u kobiet) (Nicholls i Puri, 2011). Jednak pojawienie się

funkcjonalnej jakości HDL-cholesterolu, zamiast bezwzględnych jego poziomów, stanowi obecnie wyzwanie dla rozwoju leków.

1.6.5. Nadciśnienie tętnicze

Stosowanie terapii hipotensyjnej w prewencji pierwotnej zmniejsza liczbę incydentów sercowo-naczyniowych. Niemniej jednak leczenie nadciśnienia tętniczego w celu ograniczenia zdarzeń sercowo-naczyniowych oraz śmierci u osób z PAD wymaga starannego rozważenia. Leki przeciwnadciśnieniowe mogą nasilać objawy PAD poprzez dalsze zmniejszanie przepływu krwi i dopływu tlenu do kończyn i mogą mieć długoterminowy wpływ na postęp choroby (Lane i Lip, 2013). W metaanalizie randomizowanych prób klinicznych obejmujących redukcję nadciśnienia ogólnoustrojowego w prewencji pierwotnej wykazano 21% redukcję ryzyka zdarzeń sercowo-naczyniowych (Muntner i wsp., 2014). W ramach badania Hypertension Optimization Trial zrandomizowano pacjentów z nadciśnieniem tętniczym do terapii ukierunkowanej na trzy grupy docelowych wartości ciśnienia tętniczego (Baffour-Awuah i wsp., 2020). Analiza wykazała najmniejszą częstość występowania incydentów sercowo-naczyniowych u osób ze średnim rozkurczowym ciśnieniem krwi 82,6 mmHg, co przemawia za agresywnym obniżaniem ciśnienia krwi do prawidłowego zakresu.

Badanie Heart Outcome Prevention Evaluation (HOPE) potwierdza stosowanie hamowania enzymu konwertującego angiotensynę (ACE, ang. angiotensin-converting enzyme) u wszystkich pacjentów z grupy wysokiego ryzyka (Heart Outcomes Prevention Evaluation Study Investigators i wsp., 2000). Pomimo minimalnego obniżenia ciśnienia krwi obserwowanego w grupie ramiprylu, zastosowanie inhibitora konwertazy angiotensyny zmniejszyło złożony naczyniowy punkt końcowy o 22%, potwierdzając kluczową rolę odgrywaną przez układ renina-angiotensyna w promowaniu miażdżycy. W badaniu Australian National Blood Pressure Study również podkreślono korzyści wynikające ze stosowania schematu leczenia przeciwnadciśnieniowego opartego na inhibitorach ACE (Wing i wsp., 2003). Obniżenie wartości ciśnienia krwi poprzez inhibitory ACE znacznie zmniejszyło liczbę zgonów związanych z wydarzeniami sercowo-naczyniowymi u osób starszych, w porównaniu z leczeniem opartym na diuretykach. W innym badaniu z użyciem inhibitora ACE, grupa peryndoprylu wykazała niewielki wzrost dystansu chowania, ale bez zmian w ABI i zmniejszenie maksymalnego dystansu marszu (Manapurathe i wsp., 2017). W kolejnym badaniu maksymalny dystans marszu uległ poprawie po 12 miesiącach w grupie leczonej telmisartanem (antagonista receptora angiotensyny II) w porównaniu z grupą

placebo, aczkolwiek nie zaobserwowano istotnych różnic dla ABI czy grubości ścian tętnic (Zankl i wsp., 2010). Z kolei w badaniu, gdzie pacjenci byli poddawani angioplastyce tętnic obwodowych, wykazano, że bloker kanału wapniowego werapamil zmniejsza restenozę po sześciu miesiącach (Lane i Lip, 2013). Natomiast badanie Antihypertensive and Lipid-Lowering Treatment to prevent Heart Attack Trial nie wykazało żadnych ogólnych różnic w wynikach między pacjentami leczonymi diuretykiem w porównaniu z programem leczenia opartym na blokerach kanałów wapniowych lub inhibitorach ACE (ALLHAT Officers and Coordinators for the ALLHAT Collaborative Research Group, 2002). Jedyna różnica to fakt, że pacjenci z grupy diuretyków doświadczyli mniej epizodów niewydolności serca niż pacjenci w grupie z blokerem kanału wapniowego. W badaniu, gdzie liczba pacjentów wynosiła 80, grubość ścian tętnic obwodowych była podobna niezależnie od tego, czy mężczyźni otrzymywali tiazydowy diuretyk hydrochlorotiazyd (HCTZ) czy doksazosynę, bloker receptorów alfa-adrenergicznych (Hoogerbrugge i wsp., 2002). Podobnie w próbie klinicznej, gdzie stosowano 24-tygodniowe leczenie nebiwololem (bloker receptorów beta-adrenergicznych) lub HCTZ, nie stwierdzono istotnych różnic w dystansie chromania przestankowego lub bezwzględnego chromania przestankowego, ABI, śmiertelności z jakiegokolwiek przyczyny lub incydentach sercowo-naczyniowych niezakończonych zgonem (Diehm i wsp., 2011). Badanie, w którym porównywano dwa beta-adrenoreceptory, nebiwolol i metoprolol, nie wykazano wyraźnych różnic w odległości chromania przestankowego lub bezwzględnego chromania przestankowego, ABI, śmiertelności z jakiegokolwiek przyczyny lub rewaskularyzacji (Espinola-Klein i wsp., 2011). Analiza dużej grupy pacjentów z PAD (2 699 osób) nie wykazała istotnych różnic w łącznych punktach końcowych (zgon, zawał mięśnia sercowego niezakończony zgonem lub udar niezakończony zgonem z rewaskularyzacją lub bez rewaskularyzacji) pomiędzy strategią opartą na antagonistach wapnia (werapamil o powolnym uwalnianiu z lub bez trandolaprilu) w porównaniu ze strategią blokowania receptorów beta-adrenergicznych (atenolol z lub bez HCTZ) (Bavry i wsp., 2010).

Można więc zauważyć, że dowody dotyczące stosowania różnych leków przeciwnadciśnieniowych u osób z PAD są niejednoznaczne. Dlatego też nie wiadomo, czy pojawiają się istotne korzyści. Jednak brak danych dotyczących konkretnie wyników leczenia pacjentów z PAD nie powinien umniejszać licznych i mocnych dowodów na korzyści z leczenia nadciśnienia i normowania wartości ciśnienia tętniczego krwi. Dlatego też The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure popiera diuretyki tiazydowe, jako leki pierwszego wyboru

u większości pacjentów z nadciśnieniem tętniczym. Wynika to z bogactwa danych, mówiących, że obniżenie wartości ciśnienia tętniczego samo w sobie ma większe znaczenie w zmniejszaniu częstotliwości incydentów sercowo-naczyniowych niż wybór zastosowanych środków (Chobanian i wsp., 2003). Natomiast na podstawie badania HOPE, United States Federal Drug Administration zatwierdziła stosowanie ramiprylu w celach kardioprotekcyjnych u pacjentów z grupy wysokiego ryzyka, w tym pacjentów z PAD (Ostergren i wsp., 2004). Podobnie w konsensusie postępowania w chorobie tętnic obwodowych, również można znaleźć zalecenia, aby wszyscy pacjenci z nadciśnieniem mieli kontrolowane wartości ciśnienia tętniczego do <140/90 mmHg lub <130/80 mmHg, jeśli mają również cukrzycę lub niewydolność nerek (Norgren i wsp., 2007). Polecane jest rozważenie tiazyd i inhibitorów ACE jako początkowych leków obniżających wartości ciśnienia tętniczego w PAD, aby zmniejszyć ryzyko incydentów sercowo-naczyniowych. Ponadto według konsensusu postępowania w chorobie tętnic obwodowych leki blokujące receptory beta-adrenergiczne nie są przeciwwskazane w PAD.

1.6.6. Cukrzyca typu II

Badania obserwacyjne jasno wykazały liniową zależność między hiperglikemią a śmiertelnością z przyczyn sercowo-naczyniowych. Jednak w przypadku stężenia glukozy równego lub poniżej progu rozpoznania cukrzycy, związek ze śmiertelnością z przyczyn sercowo-naczyniowych jest mniej wyraźny (Selvin i wsp., 2005). Opublikowano wiele badań interwencyjnych testujących związek między intensywną kontrolą glikemii a zdrowiem w obszarze sercowo-naczyniowym. W badaniu Action to Control Cardiovascular Risk in Diabetes (ACCORD) oceniano wpływ intensywnej kontroli glikemii (docelowo HbA_{1c} poniżej 6,0%) w porównaniu ze standardową terapią (docelowo HbA_{1c} między 7,0-7,9%) u ponad 10 000 chorych na cukrzycę typu II (Gerstein i wsp., 2008). Nieoczekiwanie stwierdzono wyższy wskaźnik śmiertelności z przyczyn sercowo-naczyniowych (34%, p=0,02) i śmiertelności z jakiegokolwiek przyczyny (22%, p = 0,04) w grupie z intensywną kontrolą glikemii, a to spowodowało przedwczesne zatrzymanie tego badania po średnim okresie interwencji trwającym 3,5 roku. Chociaż dokładne mechanizmy wynikające z tego wzrostu śmiertelności nie są znane, u pacjentów z najwyższym wyjściowym stężeniem HbA_{1c} odnotowano wyższe wskaźniki ciężkiej hipoglikemii w grupie intensywnej kontroli glikemii w porównaniu z pacjentami z lepszą początkową kontrolą glikemii. Przeciwnie wyniki uzyskano w badaniu Action in Diabetes and Vascular Disease: Preterax and Diamicon Modified Release Controlled Evaluation (ADVANCE) z udziałem ponad 11 100 pacjentów

z cukrzycą typu II, którzy zostali przydzieleni do grupy intensywnej kontroli glikemii (osiągając średni poziom HbA_{1c} 6,5%) lub standardowej kontroli (osiągając średni poziom HbA_{1c} 7,3%) (Patel i wsp., 2008). Po okresie obserwacji wynoszącym 5 lat, pierwszorzędowy punkt końcowy złożony z połączonych incydentów makro-naczyniowych i mikro-naczyniowych uległ istotnemu osłabieniu w grupie intensywnej kontroli glikemii. Jednak nie zaobserwowano redukcji incydentów sercowo-naczyniowych. W United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS) 3 867 nowo-zdiagnozowanych diabetyków przydzielono losowo do grupy intensywnej kontroli glikemii lub leczonych standardowym postępowaniem (McKay i wsp., 2021). W ciągu 10 lat badań osiągnięto średni poziom HbA_{1c} 7,0% u intensywnie leczonych pacjentów oraz 7,9% w grupie leczonej konwencjonalnie. Grupa intensywnie leczona doświadczyła znaczącego 25% zmniejszenia powikłań mikro-naczyniowych. Podgrupa osób z nadwagą w tym badaniu, którym podawano metforminę w ramach intensywnej kontroli glikemii, wykazała znaczące 39% zmniejszenie zawału mięśnia sercowego i 36% zmniejszenia śmiertelności z jakiegokolwiek przyczyny. Co więcej, wcześniejsze redukcje mikro-naczyniowych punktów końcowych, a także korzyści z leczenia metforminą utrzymały się podczas pointerwencyjnego badania kontrolnego. Obserwacje te praktycznie odzwierciedlają wyniki wcześniej opisanego badania Diabetes Control and Complications Trial (DCCT), trwającego 9 lat, w którym podkreślono korzyści z intensywnej kontroli glikemii, która znacznie opóźnia rozwój i progresję powikłań mikro-naczyniowych związanych z cukrzycą u chorych na cukrzycę typu II. Po zakończeniu badania DCCT, tych samych pacjentów zrekrutowano do badania Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications (EDIC) (Holman i wsp., 2008). Zakończenie 11-letniego okresu obserwacji po badaniu DCCT wykazało, że łączny punkt końcowy zdarzeń sercowo-naczyniowych (zawał mięśnia sercowego niezakończony zgonem, udar mózgu lub zgon z przyczyn sercowo-naczyniowych) został obniżony o 57% w grupie pacjentów wcześniej przydzielonych do intensywnej kontroli glikemii. Badanie uzupełniające UKPDS i badanie EDIC sugerują, że długotrwała, wczesna, intensywna kontrola poziomu glikemii we krwi przekłada się na znaczące korzyści w rozwoju chorób sercowo-naczyniowych wiele lat później. Zatem docelowa wartość $HbA_{1c} <7,0\%$ nadal pozostaje akceptowalną wartością docelową dla odpowiedniej kontroli glikemii (Nicholls i Puri, 2011). Jednak w pewnych okolicznościach, zwłaszcza w przypadku nowo rozpoznanej cukrzycy typu II i u młodych pacjentów bez istotnych chorób współistniejących, dążenie do niższego poziomu HbA_{1c} może stanowić właściwą strategię obniżenia zarówno powikłań mikro-naczyniowych, jak i makro-naczyniowych.

1.6.7. Zaburzenia krzepliwości krwi

Biorąc pod uwagę kluczową rolę płytek krwi w miażdżycy tętnic, hamowanie agregacji płytek zapewnia duże korzyści w leczeniu choroby miażdżycowej, zarówno w ostrym, jak i zapobiegawczym postępowaniu. Aspiryna, czyli kwas salicylowy, była pierwszym znanym środkiem przeciwplatecznym. W obu wytycznych dotyczących leczenia PAD, European Society of Cardiology jak i American Heart Association / American College of Cardiology, zdecydowanie zaleca się stosowanie jednego leku przeciwplatecznego (aspiryna lub kłopidogrel) u pacjentów z objawową PAD w celu zmniejszenia ryzyka incydentów zakrzepowo-zatorowych i śmiertelności (Aboyans i wsp., 2018, Gerhard-Herman i wsp., 2017). Według zaleceń Inter-Society Consensus for the Management of Peripheral Arterial Disease (TASC II) należy również rozważyć podwójną terapię przeciwplateczną przez krótki okres czasu po rewaskularyzacji kończyn dolnych u pacjentów z PAD (Norgren i wsp., 2007). W celu uzyskania pełnego działania hamującego na płytki krwi, optymalną dawkę aspiryny ustalono na 75–150 mg dziennie. Większe dawki powodują nasilone działania niepożądane ze strony przewodu pokarmowego bez dodatkowego działania przeciwplatecznego. Aspiryna ma obszernie wykazaną korzyść kliniczną w chorobach naczyniowych (De Luca i wsp., 2020). Jednym z dowodów naukowych może być metaanaliza Antithrombotic Trialists Collaborative, która obejmowała 287 randomizowanych prób klinicznych oceniających terapię przeciwplateczną (najczęściej kwas acetylosalicylowy). W 42 badaniach przeprowadzonych z udziałem 9 214 pacjentów z objawową PAD i (lub) rewaskularyzacją obwodową stwierdzono 23% zmniejszenie ryzyka względnego wystąpienia poważnych incydentów naczyniowych obserwowane podczas leczenia przeciwplatecznego w porównaniu z grupą kontrolną (Antithrombotic Trialists' Collaboration, 2002). W badaniu Critical Leg Ischemia Prevention Study oceniano skuteczność kwasu acetylosalicylowego w dawce 100 mg na dobę u 366 pacjentów z objawową i bezobjawową postacią PAD (Critical Leg Ischaemia Prevention Study (CLIPS) Group i wsp., 2007). Aspiryna w porównaniu z placebo zapewniła istotne 64% zmniejszenie ryzyka zdarzeń sercowo-naczyniowych po 2 latach. Ryzyko zawału serca zakończonego zgonem lub zawałem mięśnia sercowego było również istotnie zmniejszone w grupie przyjmującej aspirynę. Ponadto metaanaliza 18 prospektywnych, randomizowanych badań oceniających skuteczność aspiryny u 5 269 pacjentów z objawową i bezobjawową postacią PAD wykazała zmniejszenie częstotliwości zdarzeń sercowo-naczyniowych (Berger i wsp., 2009). Niemniej jednak w literaturze przedmiotu można spotkać badania, w którym nie zaobserwowano korzyści wynikających z przyjmowania aspiryny. W prospektywnym, randomizowanym badaniu Prevention of

Progression of Arterial Disease and Diabetes obejmującym 1 276 chorych na cukrzycę i bezobjawową postać PAD, 100 mg aspiryny na dobę nie zmniejszyło liczby zdarzeń sercowo-naczyniowych w porównaniu z placebo, po medianie okresu obserwacji wynoszącej 6,7 lat (Belch i wsp., 2008). Podobnie w badaniu Aspirin for Asymptomatic Arteriosclerosis przyjmowanie 100 mg kwasu acetylosalicylowego na dobę, w porównaniu z placebo, nie spowodowało znaczącego zmniejszenia częstotliwości poważnych incydentów naczyniowych (Fowkes i wsp., 2010). Było to badanie 3 350 osób z bezobjawową postacią PAD bez współistniejącej choroby sercowo-naczyniowej, a średni okres obserwacji wynosił 8,2 lat.

1.6.8. Hiperhomocysteinemia

Podwyższony poziom homocysteiny jest niezależnym czynnikiem ryzyka rozwoju PAD. Pomimo że suplementacja witaminami z grupy B i kwasem foliowym może obniżać wartość stężenia homocysteiny, brakuje dowodów naukowych o korzyściach w zakresie zapobiegania incydentom sercowo-naczyniowym. W badaniach dotyczących suplementacji witamin z grupy B i kwasu foliowego nie wykazano żadnych korzyści, a nawet zostały zauważone szkodliwe działania, dlatego nie można zalecić tej terapii. Badanie obejmujące 3 749 pacjentów po zawale serca zawierało w sobie cztery grupy: I - suplementacja 0,8 mg kwasu foliowego, 40 mg witaminy B12 i 40 mg witaminy B6, II – suplementacja 0,8 mg kwasu foliowego i 40 mg witaminy B12, III – suplementacja 40 mg witaminy B6, IV – placebo (Børnaa i wsp., 2006). Średni całkowity poziom homocysteiny obniżył się o 27% wśród pacjentów, którym podawano kwas foliowy i witaminę B12. Niemniej jednak leczenie to nie miało istotnego wpływu na występowanie poważnych zdarzeń sercowo-naczyniowych. Suplementacja witaminy B6 nie wiązała się z żadną istotną korzyścią. Co więcej, w grupie, której podawano kwas foliowy, witaminę B12 i B6 występowała tendencja do zwiększonego ryzyka incydentów sercowo-naczyniowych (ryzyko względne (RR, ang. relative risk) 1,22; 95% CI 1,00–1,50, p=0,05). W innym badaniu 5 522 pacjentów z cukrzycą lub chorobami naczyń krwionośnych przydzielono do grupy placebo lub grupy suplementacji 2,5 mg kwasu foliowego, 50 mg witaminy B6 i 1 mg witaminy B12 (Lonn i wsp., 2006). Po pięciu latach średni poziom homocysteiny zmniejszył się o 0,3 mg/l w grupie suplementacyjnej, a w grupie placebo zwiększył się o 0,1 mg/l. W porównaniu z placebo, aktywne leczenie nie zmniejszyło znacząco ryzyka zgonu z przyczyn sercowo-naczyniowych, zawału mięśnia sercowego lub którekolwiek z drugorzędnych skutków. Jedynie mniejszą liczbę udarów zaobserwowano wśród pacjentów przypisanych do aktywnego leczenia (RR 0,75, 95%CI 0,59-0,97).

Z drugiej strony więcej pacjentów z grupy aktywnego leczenia było hospitalizowanych z powodu niestabilnej dławicy piersiowej (RR 1,24; 95% CI 1,04-1,49).

1.6.9. Inwazyjne metody leczenia

Angioplastyka balonowa lub umieszczenie stentu zapewnia mało inwazyjną opcję endowaskularnego leczenia pacjentów z objawami PAD, którzy nie reagują na modyfikację czynników ryzyka. Zabiegi te osiągają najlepszą skuteczność, gdy są stosowane na ogniskowe zmiany okluzyjne w tętnicach biodrowych i powierzchownych tętnicach udowych (Shabani Varaki i wsp., 2018). W ostatnich latach leczenie endowaskularne (EVT, ang. endovascular treatment) zyskało dużą akceptację wśród specjalistów naczyniowych, stając się podstawowym podejściem do rewaskularyzacji u chorych z przewlekłym niedokrwieniem kończyn (Stavroulakis i wsp., 2018). Bez rewaskularyzacji, krytyczne niedokrwienie kończyny często kończy się amputacją. Jednak ani otwarta rewaskularyzacja chirurgiczna, ani EVT nie gwarantują powodzenia leczenia bądź braku potrzeby restenozy (Owens i wsp., 2008). W praktyce klinicznej obserwuje się bardzo odbiegające od siebie wyniki u pacjentów z podobnymi chorobami współistniejącymi poddawanych temu samemu zabiegowi. Zarządzanie ryzykiem niepowodzenia rewaskularyzacji jest obecnie jednym z głównych wyzwań w dziedzinie naczyniowej. Skuteczną rewaskularyzację określają kryteria sukcesu zarówno anatomicznego, jak i hemodynamicznego. Obecnie angioplastyka wewnątrznaczyniowa obejmuje różne techniki, takie jak zwykła angioplastyka balonowa, krioplastyka, angioplastyka z cięciem balonowym i angioplastyka balonowa. Stenty samorozprężalne i rozszerzalne za pomocą balonu to dwa ogólne typy stentów. Są one dostępne z osłoną z politetrafluoroetylenem lub bez, są bioabsorbowalne, jak i uwalniające lek (Zierler i wsp., 2018). Celem EVT u pacjentów dotkniętych PAD jest złagodzenie bólu, gojenie się ran i czynnościowe zachowanie kończyny. Niemniej jednak rewaskularyzacja może powodować powikłania zdrowotne, które są skorelowane z licznymi przyjęciami do szpitala, ciągłą opieką ambulatoryjną oraz znacznymi kosztami leczenia i opieki zdrowotnej, a także śmiertelnością (Biscetti i wsp., 2021).

Ze względu na to, że PAD zwykle nie jest stanem zagrażającym życiu, operacja powinna być zarezerwowana dla wysoce wyselekcjonowanych pacjentów, u których występują istotne objawy pomimo leczenia nieinwazyjnego i wewnątrznaczyniowego. Opcje chirurgiczne w przypadku PAD obejmują przeszczepy bajpasów w celu odwrócenia przepływu wokół zatoru lub endarterektomię w celu segmentowego usunięcia blaszki obturacyjnej (Expert Panel on Vascular Imaging i wsp., 2018).

Obecnie operacyjne opcje leczenia choroby tętnic obwodowych obejmują angioplastykę i chirurgię rekonstrukcyjną. Atrakcyjna, mniej inwazyjna alternatywa może polegać na rewaskularyzacji niedokrwionej tkanki poprzez indukcję wzrostu naczyń. To metoda szczególnie pożądana dla pacjentów, u których obecne metody leczenia są nieefektywne, w tym pacjentów ze stanami, które powodują, że interwencja chirurgiczna jest niebezpieczna, pacjentów z rozsianą chorobą zarostową i tych, u których występuje znaczna choroba mikronaczyniowa (McMahon i McCarthy, 2011). Przeprowadzono szereg badań klinicznych mających na celu złagodzenie PAD poprzez terapię angiogenną. W badaniu terapeutycznej angiogenezy z użyciem rekombinowanego czynnika wzrostu fibroblastów-2 (FGF, ang. fibroblast growth factor) dla chromania przestankowego stosowano pojedyncze lub wielokrotne dawki rekombinowanego FGF-2 podawane przez nakłucie tętnicy i cewnik krzyżowy u pacjentów z chromaniem przestankowym (Lederman i wsp., 2002). Pacjenci otrzymujący pojedynczą dawkę FGF-2 wykazywali znaczną poprawę maksymalnego czasu marszu po 90 dniach. Natomiast w badaniu regionalnej angiogenezy z naczyniowym śródbłonkowym czynnikiem wzrostu wykorzystano transfer genu czynnika wzrostu śródbłonka naczyniowego (VEGF, ang. vascular endothelial growth factor) 121 przez adenowirusa, ale niestety nie udało się poprawić wyników maksymalnego czasu marszu (Rajagopalan i wsp., 2003). Podobnie w badaniach Vascular Endothelial Growth Factor in Ischemia for Vascular Angiogenesis również nie odnotowano różnicy między grupą leczoną a grupą placebo w odniesieniu do pierwszorzędnego punktu końcowego, jakim był czas marszu (Henry i wsp., 2003). Z kolei w innym badaniu, gen VEGF165 transferowany adenowirusem, który był podany podczas angioplastyki, powodował zwiększone unaczynienie oceniane po trzech miesiącach (Mäkinen i wsp., 2002). Współpracownicy projektu TALISMAN ocenili oparty na plazmidzie angiogeny system dostarczania genów pod kątem miejscowej ekspresji FGF-1 u pacjentów z niegojącymi się owrzodzeniami, którzy nie mogli być zakwalifikowani do rewaskularyzacji (Nikol i wsp., 2008). Chociaż nie zaobserwowano różnicy w pierwszorzędnym punkcie końcowym, jakim było całkowite wyleczenie owrzodzenia, zmniejszone zostało ryzyko poważnej amputacji. Wyniki badania Bone Marrow Outcome Trial in Critical Limb Ischemia wykazują efektywność domięśniowego wstrzyknięcia autologicznych komórek macierzystych szpiku kostnego do niedokrwionych kończyn. Poprawa została zaobserwowana w kategoriach Rutherforda, jak również wykazane zostało zmniejszone ryzyko amputacji kończyny (Amann i wsp., 2008). Niemniej jednak w metaanalizie pięciu randomizowanych prób klinicznych, w których badano rolę terapii genowej jako opcji leczenia PAD, stwierdzono, że nie wykazuje ono

korzyści klinicznych dla pacjentów z chorobą naczyń obwodowych (Ghosh i wsp., 2008). Chociaż badania te zakończyły się ograniczonym sukcesem, wraz z badaniami pierwszej fazy i wcześniejszymi małymi próbami klinicznymi, wykonalność, jak i bezpieczeństwo molekularnego podejścia do terapeutycznej modulacji wzrostu naczyń krwionośnych zostało wykazane.

1.7. Następstwa kliniczne

1.7.1 Ostre niedokrwienie kończyn

Obecne dane epidemiologiczne dotyczące częstości występowania ostrego niedokrwienia kończyn (ALI, ang. acute limb ischaemia) są ograniczone. W okresie jednego roku w Szwecji odnotowano 138 przypadków ALI w populacji 1,5 miliona osób (Aday i Matsushita, 2021). Całkowita śmiertelność wśród osób z ALI wynosi 19,5%. Dane krajowej służby zdrowia ze Szkocji podają, że częstość występowania ALI wynosi 1:27 000. Śmiertelność utrzymuje się na stałym poziomie 30%. Wśród osób mieszkających w Anglii częstość występowania ALI wynosi 1:7 000. Liczba ta wzrasta do 1:6 000, gdy uwzględnia się przypadki ostrej niedrożności przeszczepu pomostowego. Warto zauważyć, że chociaż badania te dokumentują ostre zakrzepowe zamknięcie kończyny, nie wskazują one na obecność lub brak PAD. W ostatnich latach zaczęto publikować coraz więcej na temat występowania ostrego niedokrwienia kończyn. Na przykład w badaniu Examining Use of Ticagrelor in Peripheral Artery Disease z udziałem 13 885 osób z objawową PAD zgłoszono 293 zdarzeń ALI (0,8 na 100 pacjento-lat) (Hess i wsp., 2019). Trzynastą część osób doświadczających ALI wymagało dużej amputacji. Ostre niedokrwienie kończyn było silnie związane ze zwiększonym ryzykiem poważnych niepożądanych zdarzeń sercowo-naczyniowych (HR 1,4; 95% CI 1,0–2,1; $p=0,04$), śmiertelnością z jakiegokolwiek przyczyny (HR 3,3; 95% CI 2,4–4,6; $p<0,01$) i dużą amputacją (HR 34,2; 95% CI 9,7–20,8; $p<0,01$). Podobnie wśród 3 787 pacjentów z objawową PAD w Trial to Assess the Effects of Vorapaxar in Preventing Heart Attack and Stroke in Patients With Atherosclerosis–Thrombolysis in Myocardial Infarction 50, ostre niedokrwienie kończyn wystąpiło u 108 osób (1,3% w każdym roku) (Bonaca i wsp., 2016).

1.7.2. Amputacja

Chociaż amputacja jest ważną opcją terapeutyczną w ciężkich przypadkach PAD, pozostaje markerem słabych wyników sercowo-naczyniowych. Wśród 186 338 pacjentów Medicare, którzy przeszli dużą amputację kończyny dolnej w latach 2000-2008, śmiertelność

wynosiła 13,5% po 30 dniach, 48,3% po roku i 70,9% po 3 latach (Jones i wsp., 2013). Amputacja powyżej kolana była silniej powiązana ze zgonem niż amputacja poniżej kolana (HR 1,31; 95% CI 1,25–1,36). W Stanach Zjednoczonych utrzymuje się znaczne zróżnicowanie geograficzne częstości amputacji z powodu PAD (Jones i wsp., 2012), a zarówno rasa negroidalna, jak i niski status społeczno-ekonomiczny wiąże się ze zwiększonym ryzykiem amputacji (Arya i wsp., 2018).

1.7.3. Śmiertelność

Choroba tętnic obwodowych jest silnie powiązana z podwyższonym ryzykiem zgonu. Według Centers for Disease Control and Prevention w 2019 roku PAD została wymieniona jako podstawowa przyczyna zgonu u 11 753 osób, a ogólnie występowała w 58 210 przypadkach zgonów z jakiegokolwiek przyczyny (Centers for Disease Control and Prevention National Center for Health Statistics, 2021). W metaanalizie 48 294 osób z 16 prospektywnych badań kohortowych wykazano silny związek między ABI a śmiertelnością (Fowkes i wsp., 2008). 10-letnia śmiertelność sercowo-naczyniowa mężczyzn z $ABI \leq 0,90$ w porównaniu z tymi z prawidłowym ABI wyniosła 18,7% w porównaniu z 4,4% (HR 2,9; 95% CI 2,3–3,7) po skorygowaniu o tradycyjne czynniki ryzyka miażdżycy. U kobiet 10-letnia śmiertelność sercowo-naczyniowa była niższa (12,6% w porównaniu z 4,1%) przy podobnym ryzykiem (HR 3,0; 95% CI, 2,0–4,4) (Rantner i wsp., 2017). Chociaż starsze dane sugerowały, że śmiertelność związana z PAD była głównie spowodowana przyczynami sercowo-naczyniowymi, ostatnie dane sugerują, że wielu pacjentów z PAD umiera z przyczyn nowotworowych (Fowkes i wsp., 2008).

1.7.4. Inne choroby układu sercowo-naczyniowego

Ze względu na to, że choroba tętnic obwodowych jest podtypem miażdżycy, nie jest zaskakującym faktem, że osoby z PAD mają wyższe ryzyko innych chorób miażdżycowych, takich jak choroba wieńcowa czy udar mózgu (Heald i wsp., 2006). W związku z tym rekomendacje AHA/ACC 2018 Cholesterol Guideline uznają $ABI \leq 0,9$ za wskaźnik, który również trzeba wziąć pod uwagę przy prowadzeniu pierwotnej profilaktyki opartej na ryzyku poza tradycyjnymi czynnikami ryzyka miażdżycy (Grundy i wsp., 2019). Niniejsze wytyczne uwzględniają objawową PAD (czyli występowanie chromania przestankowego i $ABI < 0,85$ lub rewaskularyzacją lub amputacją kończyny dolnej) jako typ poważnych zmian miażdżycowych pozwalające na zaklasyfikowanie pacjentów do bardzo wysokiego ryzyka w porównaniu z wysokim ryzykiem w ramach prewencji wtórnej. Bardzo wysokie ryzyko

definiuje się jako historię wielu poważnych wielonaczyniowych chorób lub jednej poważnej choroby sercowo-naczyniowej i wielu stanów wysokiego ryzyka, takich jak wiek ≥ 65 lat czy cukrzyca. Włączenie objawowej postaci PAD do tej klasyfikacji jest uzasadnione. Przykładowo w badaniu Further Cardiovascular Outcomes Research With PCSK9 Inhibition in Subjects With Elevated Risk wykazano, że wpływ objawowej PAD na rokowania pacjenta jest podobny lub nawet większy niż w przypadku udaru czy zawału mięśnia sercowego (Bonaca i Sabatine, 2018). W kilku innych badaniach również wykazano, że osoby z PAD są narażone na podwyższone ryzyko niewydolności serca. Na przykład raport z badania Atherosclerosis Risk in Communities, obejmujący 13 150 Amerykanów w średnim wieku, wykazał, że $ABI \leq 1,0$ (w porównaniu z 1,01–1,40) zwiększa ryzyko niewydolności serca o około 40% po uwzględnieniu potencjalnych czynników zakłócających, takich jak cukrzyca, palenie tytoniu i obecność choroby niedokrwiennej serca lub miażdżycy tętnic szyjnych (Gupta i wsp., 2014). Ostatnie doniesienie z Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis mówią o tym, że podwyższone ryzyko związane z niskim ABI było bardziej widoczne w przypadku niewydolności serca ze zmniejszonym wyrzutem niż niewydolności serca z zachowaną frakcją wyrzutową (Prasada i wsp., 2019).

1.7.5. Jakość życia i stan funkcjonalny

Wiele badań wykazało, że osoby z chorobą tętnic obwodowych, niezależnie od obecności lub rodzaju objawów, mają obniżoną sprawność fizyczną (Aday i Matsushita, 2021). Na przykład jedno z największych badań wykorzystujących dane z badania Atherosclerosis Risk in Communities wykazało, że osoby z $ABI \leq 0,9$ i osoby z ABI od 0,9 do 1,0 (na granicy niskiego ABI) miały dwa razy większe ryzyko upośledzenia sprawności fizycznej zdefiniowane jako obniżony wynik testu Short Physical Performance Battery, po uwzględnieniu różnych potencjalnie zakłócających czynników, takich jak udar mózgu w wywiadzie lub niewydolność serca (Matsushita i wsp., 2017). W kilku badaniach oceniano również jakość życia pacjentów z PAD. W badaniach tych PAD konsekwentnie wiąże się z obniżeniem fizycznego komponentu jakości życia (np. bólu ciała lub aktywności fizycznej) niezależnie od wieku czy geograficznego pochodzenia badanych populacji (Korhonen i wsp., 2012).

1.7.6. Koszty leczenia

W kilku badaniach stwierdzono, że PAD znacznie zwiększa wydatki medyczne służby zdrowia. Na przykład w badaniu wykorzystującym dane Agency for Healthcare Research

and Quality Medical Expenditure Panel Surveys oszacowano, że średnie roczne wydatki na osobę wyniosły 11 553 USD (95% CI 8 137-14 968 USD) dla pacjentów z PAD w porównaniu z 4 219 USD (95% CI 4 064–4 375 USD) dla osób bez PAD (Scully i wsp., 2018). Zwiększenie liczby leków na receptę, opieki szpitalnej i ambulatoryjnej przyczyniło się do wyższych kosztów medycznych u pacjentów z PAD. Obciążenie ekonomiczne jest szczególnie wysokie u pacjentów z ciężką PAD wymagających dużej amputacji. Dla przykładu, w badaniu wykorzystującym dane z Medicare oszacowano, że średni roczny wydatek na leczenie pacjenta po amputacji wyniósł 55 700 USD (Mustaphat i wsp., 2018).

2. Wybrane zabiegi fizykalne w PAD - kąpiele kwasowęglowe i w mieszance tlenowo-ozonowej

U pacjentów z PAD w I i II okresie wg Fontaine'a wskazane jest leczenie uzdrowiskowe, w ramach którego stosuje się kinezyterapię, różnego rodzaju kąpiele, masaże oraz peloidoterapię z użyciem borowiny (Pasek i wsp., 2010). Zasadniczą zaletą leczenia uzdrowiskowego, jest jednoczesne działanie wieloma metodami, dzięki czemu zwiększa się efektywność leczenia. Warto zauważyć, że leczenie skojarzone może spowodować spotęgowanie korzystnego efektu. Leczenie uzdrowiskowe jest ukierunkowane podstawowo na stymulację krążenia obocznego, pobudzenie rozszerzenia naczyń krwionośnych, usprawnienie czynności naczyń obwodowych, a także profilaktykę ewentualnych powikłań zakrzepowych (Ponikowska i wsp., 2003).

Zarówno kąpiele kwasowęglowe, jak i ozonoterapia, stanowią ważny element leczenia uzdrowiskowego pacjentów. Suche kąpiele CO₂ są zalecane chorym z zaburzeniami krążenia włosniczkowego, I i II stopniem nadciśnienia tętniczego oraz pacjentom z czynnościowymi zaburzeniami krążenia tętniczego i chorobami naczyń obwodowych (Wójcik i Tomczak, 2010). Z kolei kąpiele w mieszance tlenowo-ozonowej stosuje się w przypadku owrzodzeń podudzi oraz chorób naczyń kończyn dolnych na tle miażdżycy (Ponikowska i Ferson, 2009).

Zarówno ozonoterapia jak i kąpiele kwaso-węglowe są elementem uzdrowiskowego leczenia cukrzycy typu II. Ozonoterapia wskazana jest w przypadku zespołu stopy cukrzycowej, nefropatii na początkowym etapie oraz w okresie dializoterapii. Kąpiele kwasowęglowe znajdują zastosowanie w makroangiopatii, polineuropatii, nefropatii na początkowym etapie oraz w okresie dializoterapii. Suche kąpiele w ozonie i CO₂ mogą poprawić wrażliwość tkanek na insulinę, zwiększyć wykorzystanie glukozy i obniżyć glikemię, zmniejszyć stężenie aterogennych lipidów, zwiększyć aktywność fibrynolityczną

osocza, poprawić wydolność fizyczną i odporność na infekcje, obniżyć ciśnienie tętnicze krwi, usprawnić mikrokrażenie i krążenie obwodowe w kończynach dolnych. Poprzez działanie miejscowe, ozonoterapia i suche kąpiele CO₂ mogą wywrzeć efekt przeciwbólowy, rozluźniający mięśnie oraz poprawiający miejscowe krążenie (Ponikowska i wsp., 2002). Zastosowanie ozonoterapii i kąpeli kwaso-węglowych może poprawić jakość życia, spowodować uwolnienie chorych od objawów choroby, zwolnić tempo rozwoju powikłań, zmniejszyć ryzyko wystąpienia inwalidztwa. W ten właśnie sposób spełnione zostają podstawowe założenia leczenia cukrzycy (Ponikowska i Chojnowski, 2011). Analizując skuteczność uzdrowskiego zastosowania ozonoterapii i suchych kąpeli CO₂ w przypadku cukrzycy, można przypuszczać, że pacjenci z chorobą tętnic obwodowych również mogą osiągnąć korzyści zdrowotne, szczególnie na wstępnym etapie leczenia, gdzie główną rolę gra ograniczenie czynników ryzyka choroby.

3. Ozonoterapia

3.1. Wprowadzenie

Opinie na temat ozonoterapii w medycynie są kontrowersyjne z uwagi na toksyczność ozonu znajdującego się w atmosferze. Ozon (O₃) jest obecny w naszym życiu w różnych formach. Gaz ten produkowany jest w górnych warstwach atmosfery, gdzie promienie ultrafioletowe (UV) oddziałują na tlen unoszący się z powierzchni Ziemi. Około 99% ozonu będącego w atmosferze znajduje się w stratosferze. Ozon jest gazem cięższym od powietrza, a więc opada do niskich warstw atmosfery, aby następnie wymieszać się z wodą, zanieczyszczeniami oraz czystym powietrzem. Ozon występuje na powierzchni Ziemi w koncentracji nieprzekraczającej 20 µg/m³, jest to poziom całkowicie bezpieczny dla życia. Promienie UV produkują również ozon na powierzchni Ziemi poprzez rozpad zanieczyszczeń oraz tlenku diazotu. Ta forma jest szkodliwa dla człowieka, gdyż podrażnia oczy oraz płuca. Toksyczność ozonu dla płuc jest dobrze znana i dokładnie zbadana (Bocci i Di Paolo, 2009).

Ozon rozkłada się na nieszkodliwy, nietoksyczny i bezpieczny dla środowiska tlen. Ten silny utleniacz jest wytwarzany w wyniku fotodysocjacji (czyli rozszczepienia wiązania wywołanego energią świetlną) cząsteczkowego O₂ w aktywowane atomy tlenu, które następnie reagują z kolejnymi cząsteczkami tlenu. Dwa wiązania tlen-tlen w cząsteczce O₃ są równej długości i mają charakter pośredni między wiązaniami pojedynczymi i podwójnymi tlen-tlen. Rozkład ozonu (uwalniający O₂) jest reakcją egzotermiczną, ale przy braku katalizatorów i światła ultrafioletowego szybkość tej reakcji jest bardzo niska, nawet w temperaturach sięgających 250°C. Jego rozkład jest inicjowany przez promieniowanie

ultrafioletowe z zakresu 240-300 nm. Reakcja rozpuszczalnych w wodzie donorów elektronów z ozonem wytwarza rodnik ozonowy. Ten przejściowy anion rodnikowy szybko ulega protonowaniu, tworząc cząsteczkę HO_3 , która z kolei rozkłada się na rodnik hydroksylowy. Te dwie reakcje przekształcają ozon w jeszcze silniejszy utleniacz, rodnik hydroksylowy ($\cdot\text{OH}$). Rodnik $\cdot\text{OH}$ jest niezwykle reaktywnym związkiem, który może przyczyniać się do uszkodzenia tkanek. Także sam w sobie ozon nie jest rodnikiem tlenowym, ale wytwarza utleniacze (Waddington i wsp., 2000).

W ostatnim czasie zanieczyszczenie troposfery ozonem wzrosło szczególnie w dużych miastach. Przyczyniło się to do zwiększenia zainteresowania toksycznością ozonu dla skóry. Badania naukowe pokazują, że długotrwałe działanie ozonu działa negatywnie na skórę. Jednak poprzez małe i kontrolowane dawki ozonu można osiągnąć korzyści zdrowotne (Valacchi i wsp., 2005). Toksyczne działanie ozonu na skórę objawia się poprzez wytwarzanie wolnych rodników. Z drugiej strony efekt wzmożonej produkcji wolnych rodników podczas ozonoterapii jest porównywalny do działania, jakie powoduje trening fizyczny. Ponadto negatywne skutki wolnych rodników mogą być zneutralizowane przez suplementację witaminą E i C. Nieenzymatyczne antyoksydanty są obecne w skórze i mają za zadanie chronić tę strukturę przed zarówno promieniowaniem UV, jak i zanieczyszczeniami powietrza typu spaliny, dym tytoniowy, halogenki alkilowe oraz metale ciężkie czy ozon. Efekt, jaki wywiera ozon na powierzchnię skórną, został przebadany na modelach zwierzęcych (Valacchi i wsp., 2002). Nie zaobserwowano żadnych zmian w poziomie endogennych antyoksydantów ani w naskórku ani w skórze właściwej. Największy wpływ ozonu można zauważyć w warstwie rogowej naskórka. Ozon spowodował wyczerpanie lipofilnych (tokoferolu), jak i hydrofilnych antyoksydantów (askorbianu, kwasu moczowego i zredukowanego glutationu) warstwy rogowej. Konsekwentnie zaobserwowano wzrost peroksydacji lipidów będącej wskaźnikiem stresu oksydacyjnego. Jednocześnie badania naukowe pokazują, że suplementacja witaminą C i E przy ozonoterapii stymuluje obronę antyoksydacyjną. Co więcej, sam w sobie ozon stymuluje produkcję enzymów odpowiedzialnych za procesy przeciwutleniające: peroksydazy glutationowej, katalazy i dysmutazy ponadtlenkowej (Viebahn-Hansler, 2003). Produkcja prostacykliny jest również zwiększana przez O_3 .

Historia ozonu w medycynie sięga aż 1885 roku, kiedy to dr. Charles J. Kenworth opublikował książkę poświęconą ozonoterapii. Ozon był wówczas stosowany głównie przy leczeniu ran i infekcji. Jego właściwości hemodynamiczne i przeciwzapalne zostały wielokrotnie udowodnione (Shoemaker, 2005). W roku 1920 Nikola Tesla opisała

technologię i sposób produkowania ozonu. Książka „*Ozone and its Therapeutic Actions*” z roku 1929 napisana przez liderów znaczących medycznych instytucji Stanów Zjednoczonych opisuje wykorzystanie ozonu w ponad 100 różnych chorobach. W latach 80-tych XIX w. pojawiły się pierwsze wzmianki naukowe o efektywności autohemotransfuzji ozonowej (O₃-AHT, ang. ozonated autohemotherapy) w leczeniu pacjentów z HIV (ang. human immuno-deficiency virus). Ze względu na brak innej możliwości leczenia farmakologicznego władze kanadyjskie wyraziły zgodę na przeprowadzenie badania naukowego mającego wykazać bezpieczeństwo i efektywność O₃-AHT wśród pacjentów z AIDS (ang. acquired immune deficiency syndrome). Pomimo obiecujących wyników badań in vitro efektywność O₃-AHT w leczeniu AIDS in vivo nie została potwierdzona (Carpendale i Freeberg, 1991). Wiedza na temat terapeutycznego użycia ozonu od tamtego czasu znacząco się poszerzyła.

3.2. Medyczne zastosowanie ozonu

Ozon reaguje z wieloma składnikami krwi, takimi jak lipoproteiny, białka osocza, limfocyty, monocyty, granulocyty, płytki krwi i erytrocyty (Viebahn, 1999). W reakcji obronnej na wytwarzanie utleniaczy, różne systemy przeciwutleniaczy są aktywowane i dalej wytwarzają enzymy przeciwutleniające i stymulują fagocytozę. Ze względu na to, że efekt utleniania ozonu jest prawie liniowo powiązany z jego stężeniem we krwi, powyżej pewnego progu staje się bardzo cytotoksyczny i powoduje hemolizę. Okres połowicznego rozpadu ozonu jest krótki i utleniacz ten szybko przekształca się w tlen w wyniku reakcji endotermicznej. Ozonowanie może pozytywnie wpływać na mikrokrażenie (Baysan i Lynch, 2005). Biologiczne skutki ozonu obejmują poprawę metabolizmu tlenu, zwiększenie poziomu energii komórkowej, zmiany immunologiczne i wzmocnienie systemu obrony antyoksydacyjnej. Wszystkie te efekty są korzystnymi zmianami i są one wykorzystywane w medycynie.

Medyczne zastosowanie ozonu, zarówno profilaktyczne jak i terapeutyczne jest najbardziej powszechne w stomatologii (Baysan i wsp., 2001). Ozon jest z powodzeniem stosowany w unitach stomatologicznych (DUWL, ang. dental unit water lines). Liczne badania wykazały, że mikrobiologiczny wpływ ozonu na wodę w DUWL trwa dłużej niż konwencjonalne środki, takie jak nadtlenek wodoru czy roztwory jonów pasmowych (Walker i wsp., 2003). Kolejnym zastosowaniem ozonu w stomatologii jest ozonowana woda stosowana do roztworu do płukania jamy ustnej podczas zabiegów stomatologicznych lub po

ekstrakcji zęba. Wykazano, że codzienne stosowanie jonizowanej wody może przyspieszyć gojenie się śluzówka jamy ustnej (Baysan i Lynch, 2005).

Ozon jest około dziesięć razy bardziej rozpuszczalny w wodzie niż tlen. Po zmieszaniu z wodą wolną od pirogenów okres półtrwania O₃ wynosi od dziewięciu do dziesięciu godzin (przy pH 7 i 20°C). Ozonowana woda jest również używana przy chirurgii jamy ustnej i została opisana, jako zwiększająca miejscowe zaopatrzenie w tlen i hamująca proliferację bakterii. Ponadto środek do czyszczenia protez zawierający ozon (stężenie ozonu około 10 ppm) jest używany ze względu na jego silne właściwości dezynfekujące i dezodoryzujące oraz wysokie bezpieczeństwo biologiczne. Badania naukowe donoszą o skuteczności ozonu również w dezynfekcji odlewów gipsowych. Efekt ten został potwierdzony przeciwko trzem bakteriom: *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus sanguis* i *Bacillus subtilis* (Zhao i wsp., 2000). Jak dotąd nie przeprowadzono żadnych badań *in vivo* oceniających kliniczne korzyści, jakie ozon może oferować w leczeniu próchnicy korzeni. Niemniej jednak istnieją doniesienia o tym, że stosowanie ozonu przez 10 lub 20 sekund jest skuteczne w zabijaniu większości mikroorganizmów w próchnicowych zmianach korzeni (Baysan i wsp., 2000). Badanie poddające ocenie wypełnienia wykazało, że w grupie leczonej ozonem i uszczelniaczem do bruzd nienaruszonych uszczelniaczy było 61%, a jedynie 26,1% w grupie leczonej tylko szczeliwem (Baysan i Lynch, 2005).

Ozonoterapia wykorzystywana jest również w celach wspomagania leczenia rutynowego lub w przypadkach, gdy konwencjonalne metody terapii nie przynoszą oczekiwanych efektów. Terapia ozonem wykazuje skuteczność w leczeniu infekcji wywołanych przez oporne na antybiotyki szczepy bakterii. Potwierdzona została również efektywność ozonoterapii w leczeniu i profilaktyce zakażeń w ortopedii i traumatologii, szczególnie w przypadkach terapii przewlekłych ran, owrzodzeń tkanek miękkich lub zakażonych florą beztlenową ran pourazowych. Ozonoterapia przynosi korzyści także w przypadku owrzodzeń skóry będących powikłaniem cukrzycowym (Sobczyńska-Rak i wsp., 2019).

3.3. Rodzaje ozonoterapii

W medycynie istnieje pięć głównych metod stosowania ozonu: autohemoterapia, wdmuchiwanie doodbytnicze, rękaw ozonowy, kąpiel ozonowa, oraz ozonowane oleje z oliwek lub słonecznikowe.

Autohemoterapia ozonowa polega na podaniu do 200 ml wstępnie izolowanej krwi z dodatkiem mieszaniny gazowej tlenu i ozonu. Terapia ta jest stosowana od 1950 roku.

Już wtedy wiele chorób, takich jak ostre i przewlekłe choroby wirusowe, nowotwory, zaburzenia krążenia, w tym arteriopatie zaporowe, niewydolność żylna i choroby zwyrodnieniowe naczyń, wrzody i infekcje skórne, leczono ozonem (Bocci, 1999). Następnie Cooke i wsp. zasugerował, że terapia obejmująca połączenie ogrzewania, ozonowania i ekspozycji na światło ultrafioletowe może wywierać działanie terapeutyczne w leczeniu zespołu Raynauda (Cooke i wsp., 1997). Ta sugestia została oparta na wynikach badania z udziałem czterech pacjentów, którzy cierpieli na ciężki zespół Raynauda przez ponad pięć lat i mieli ponad pięć ataków dziennie. Byli leczeni codziennie lub co drugi dzień przez okres od dwóch do trzech tygodni przez wstrzyknięcie cytrynianowej, autologicznej krwi wstępnie potraktowanej ciepłem, ozonem i światłem ultrafioletowym. Po tym leczeniu zaobserwowano zmniejszenie lub zniesienie ataków Raynauda przez co najmniej trzy miesiące.

Wdmuchiwanie doodbytnicze to metoda, gdzie ozon i tlen jest podawany jako lewatywa doodbytnicza. Mieszanina tlenu i ozonu jest następnie wchłaniana przez jelito grube. Jedno z badań nad tą metodą polegało na zbadaniu jam otrzewnowych 240 szczurów po implantacji kapsułki kałowej (Baysan i Lynch, 2005). W leczeniu zapalenia otrzewnej ozonowana sól fizjologiczna okazała się skutecznym roztworem do irygacji w zmniejszaniu tworzenia się ropni, w porównaniu z normalnym roztworem soli fizjologicznej czy też irygacji solą fizjologiczną z cefalotyną. Następnie 72 pacjentów bez cukrzycy z zarostową miażdżycą tętnic poddanych było ozonoterapii w formie wdmuchiwania doodbytniczego. Okazało się, że najwygodniejszą, najmniej szkodliwą i ekonomicznie przystępną techniką podawania ozonu jest wdmuchiwanie doodbytnicze (w porównaniu z drogą dożylną i domięśniową). Kolejnym zastosowaniem było leczenie uporczywej biegunki związanej z AIDS, gdzie stosowano dzienne dawki ozonu w zakresie od 2,7 do 30 mg. Wdmuchiwanie doodbytnicze zostało ocenione jako proste, bezpieczne i skuteczne. Ze względu na to, że poprzez wdmuchiwanie doodbytnicze, ozon może dotrzeć do wątroby, może on dezaktywować wirusa zapalenia wątroby typu B. Należy również zauważyć zdolność tego utleniacza do dezaktywacji wirusa HIV lub dowolnego wirusa otoczkowego w ścianie okrężnicy.

Rękaw ozonowy polega na umieszczeniu hermetycznej torby wokół obszaru, który ma być leczony. Do worka wpompowywana jest mieszanina ozonu i tlenu, która jest wchłaniana przez skórę. Ta terapia ozonem została po raz pierwszy zastosowana w Niemczech w 1967 roku. Stwierdzono, że ozon ma działanie bakteriobójcze, szczególnie w przypadku infekcji gronkowcami, paciorkowcami i proteinami i był stosowany w leczeniu otwartych ran łącznie z owrzodzeniami, takimi jak żylaki, stopa cukrzycowa i odleżyny. Zaprojektowano aparat

z jonozonem do wytwarzania pary, która jest następnie jonizowana przez przejście nad łukiem rtęci (wytwarzającym mieszaninę zjonizowanej wody, ozonu i tlenu). Zaobserwowane efekty fizjologiczne to działanie uspokajające na zakończenia nerwów czuciowych i stymulację powierzchownego przepływu krwi. Jednak działanie bakteriobójcze zaobserwowano również, gdy technika była stosowana w połączeniu z antybiotykami, kiedy to ponad 75% zmian skórnych zostało całkowicie wyleczonych.

Kolejną z metod ozonoterapii są kąpiele ozonowe w szczelnie zamkniętych kabinach, gdzie szyja i głowa pozostają poza kabiną, a temperatura jest utrzymywana na stałym poziomie. Czas takiej kąpieli waha się pomiędzy 10 a 20 minut, podczas których skóra poddana jest oddziaływaniu ozonu o sukcesywnie zwiększającej się koncentracji (nie większej niż 0,9 µg/ml). Pierwsze badania dotyczące efektów stosowania tej metody zostały przeprowadzone z udziałem zdrowych ochotników poddanych kąpieli ze stałym dopływem mieszanki tlenowo-ozonowej (98% - 2%) o objętości 1 l/min w kabinie 440 litrowej (Bocci i wsp., 1999). Wyniki wykazały znaczący wzrost pO_2 i produktów peroksydacji w osoczu. Potwierdziło to założenie, że mieszanka tlenowo-ozonowa wywiera transdermalnie wpływ na organizm. Niewielkie zmiany w całkowitej pojemności antyoksydacyjnej oraz ocena wskaźników hematochemicznych i enzymatycznych osocza pozwoliły wnioskować o braku toksyczności tej formy oddziaływania ozonu. Co więcej wszyscy uczestnicy ocenili subiektywnie swoje samopoczucie jako lepsze przez kilka kolejnych dni. Badanie to sugeruje, że osoby z przewlekłym niedokrwieniem obwodowym mogłyby osiągnąć korzyści zdrowotne dzięki kąpielom w mieszaninie tlenowo-ozonowej.

Ozon jest również używany zewnętrznie w postaci ozonowanych olejów z oliwek lub słonecznikowych. Pod tym względem leczenie ozonem wydaje się być bezpieczne, terapeutycznie korzystne i opłacalne. Ozonowany olej słonecznikowy (Oleozón) wykazuje działanie przeciwbakteryjne przeciwko wirusom, bakteriom i grzybom (Sechi i wsp., 2001).

4. Terapia dwutlenkiem węgla

Przezskórne podawanie dwutlenku węgla (CO_2) jest stosowane w celach leczniczych od dziesięcioleci. Pierwszy artykuł badający medyczne zastosowanie CO_2 został opublikowany przez Brandi i współpracowników w 1932 (Brandi i wsp., 2001). Dwutlenek węgla można podawać: 1) przezskórnie w postaci gazowej (sucha kąpiel CO_2) z zastosowaniem hydrożelu przyspieszającego wchłanianie lub bez, 2) przezskórnie w postaci rozpuszczonego w wodzie (kąpiel CO_2 lub kąpiel wzbogacona CO_2), oraz 3) podskórnie w postaci gazowej. Najbardziej obiecującą metodą jest przezskórne zastosowanie gazowego

CO₂ ze względu na: 1) jego nieinwazyjność, 2) metoda ta nie wymaga stosowania mediów płynnych, co jest szczególnie istotne przy leczeniu ran oraz 3) bezpieczeństwo działania (przy prawidłowym zastosowaniu metoda ta nie wpływa na stężenie CO₂ w otaczającym powietrzu) (Finžgar i wsp., 2021). Efekt przezskórnej aplikacji CO₂ został szeroko zbadany. Wykazano, że kąpiele z dwutlenkiem węgla są skuteczne w leczeniu zaburzeń naczyń krwionośnych. Dlatego też obecnie terapia CO₂ jest stosowana w leczeniu wielu chorób, takich jak zaburzenia tętnic i żył obwodowych (np. chromanie przestankowe, owrzodzenie kończyn dolnych), niewydolność serca, nadciśnienie tętnicze oraz zaburzenia immunologiczne (np. zespół Raynauda) (Fabry i wsp., 2009).

Dwutlenek węgla ma działanie rozszerzające naczynia krwionośne. Właściwości wazo-rozszerzające kąpiele CO₂ zostały udowodnione w badaniu sprawdzającym mikrokążenie za pomocą laserowego strumienia Dopplera w grupie młodych, zdrowych uczestników (Finžgar i wsp., 2015). Po 35-minutowej terapii CO₂ zaobserwowano znaczny wzrost przepływu krwi w kończynach. Wewnątrznaczyniowe wahania stężeń CO₂ wpływają zarówno na przepływ krwi, jak i zdolność hemoglobiny do uwalniania tlenu (Brandi i wsp., 2010). Zarówno badania *in vitro*, jak i *in vivo* wykazały przesunięcie w prawo krzywej dysocjacji tlen-hemoglobina po podaniu CO₂. Ponadto w literaturze naukowej dokładnie został opisany tak zwany „sztuczny efekt Bohra”. Zjawisko to powoduje wzrost ciśnienia parcjalnego tlenu i obniżenie pH (Sakai i wsp., 2011). Efekt rozszerzenia naczyń podskórnych po podaniu CO₂ został również ukazany przez obrazowanie wideo pod mikroskopem. Wykazano, że CO₂ zwiększa szybkość przepływu krwi w obserwowanych naczyniach podskórnych (Minamiyama i Yamamoto, 2010). Randomizowana próba kliniczna wykazała, że nawet pojedynczy 35-minutowy zabieg CO₂ jest w stanie znacząco zredukować współczynnik wzmocnienia ciśnienia aorty, który jest parametrem sztywności naczynia krwionośnego (Németh i wsp., 2018). Współczynnik wzmocnienia ciśnienia aorty zmniejszył się niemal natychmiast po zabiegu CO₂. Jego wartość zaczęła wzrastać 8 godzin po podaniu CO₂, ale nadal pozostawała znacznie niższa niż wartość wyjściowa. Co ciekawe, najbardziej wyraźny wpływ leczenia CO₂ na opór obwodowy zaobserwowano 4 godziny po zabiegu. Wskazuje to, że CO₂ podawany przezskórnie jest nie tylko środkiem rozszerzającym naczynia skroniowe, ale jest zdolny do aktywacji endogennych szlaków prowadzących do rozszerzenia naczyń.

Literatura naukowa dostarcza dowodów na efektywność terapii dwutlenkiem węgla w niwelowaniu stresu oksydacyjnego. Przykładowo CO₂ odgrywa ochronną rolę w zwalczaniu wolnych rodników i hamowaniu metabolizmu oksydacyjnego (Veselá

i Wilhelm, 2002). Niedawne badania wykazały, że leczenie CO₂ jest w stanie obniżyć poziom asymetrycznej dimetyloargininy, która jest markerem stresu oksydacyjnego (Nemeth i wsp., 2017). Inne kontrolowane badanie kliniczne z udziałem pacjentów z zarostową chorobą tętnic obwodowych dostarczyło dowodów, że kąpiel CO₂ ma pozytywny wpływ, zmniejszając poziom wolnych rodników w osoczu i zwiększając poziom antyoksydantów (Dogliotti i wsp., 2011). Ponadto wykazano, że CO₂ chroni dysmutazę ponadtlenkową przed uszkodzeniami oksydacyjnymi wywołanymi przez nadtlenek wodoru (Veselá i Wilhelm, 2002). Jednak w tej reakcji powstają rodniki węglanowe, które mogą propagować uszkodzenia oksydacyjne. Wykazano również, że leczenie CO₂ ma korzystny wpływ na szlak tlenu azotu (Nemeth i wsp., 2017). Dwutlenek węgla oddziałuje zarówno z reaktywnymi formami azotu, jak i reaktywnymi formami tlenu (Veselá i Wilhelm, 2002). W obecności ponadtlenku NO reaguje, tworząc peroksyazotyn, który reaguje z CO₂ dając nitrozoperoksywęglan. Związek ten przegrupowuje się w nitrowęglan, który jest podatny na dalsze reakcje. W środowisku wodnym najbardziej prawdopodobną reakcją jest hydroliza dająca węglan i azotan. Zatem efektem końcowym terapii CO₂ jest usuwanie nadtlendioazotynów i zapobieganie uszkodzeniom związanym z nitrowaniem i utlenianiem. Jednak w niepolarnym środowisku błon nitrowęglan ulega innym reakcjom prowadzącym do nitrowania białek i uszkodzeń oksydacyjnych. Gdy NO reaguje z tlenem w nieobecności ponadtlenków, tworzy się azotująca forma N₂O₃. Dwutlenek węgla oddziałuje z N₂O₃, tworząc związek nitrozyłowy, który w fizjologicznym pH ulega hydrolizie do kwasu azotawego i węglowego. W ten sposób CO₂ zapobiega również reakcjom nitrowania.

Przezskórne stosowanie CO₂ może mieć terapeutyczny wpływ na atrofię mięśni (Nishimoto i wsp., 2018). Udowodniono również, że terapia dwutlenkiem węgla jest skuteczna w zmniejszaniu uszkodzeń związanych z niedokrwieniem i hipoksją, ponieważ powoduje znaczny wzrost utlenowania tkanek. Zasugerowano kilka mechanizmów wyjaśniających ochronną rolę CO₂. Najważniejsza wydaje się być stabilizacja kompleksu żelazo-transferyna, która zapobiega zaangażowaniu jonów żelaza w inicjację reakcji wolnorodnikowych. Przyglądając się mechanizmowi funkcjonowania mięśni podczas ćwiczeń jak i mechanizmowi działania terapii CO₂, zaobserwowano również, że przezskórna aplikacja CO₂ zwiększa ekspresję genów ko-aktywatora gamma 1-alfa aktywowanego przez proliferatory peroksysomów (PGC-1 α , ang. peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator), sirtuiny 1 (SIRT1, ang. silent mating type information regulation 2 homolog 1) i VEGF oraz zwiększa liczbę mitochondriów (Oe i wsp., 2011). Zmiany te są podobne do tych obserwowanych w wyniku ćwiczeń aerobowych. PGC-1 α jest indukowany

przez wysiłek fizyczny i pośredniczy w znanych odpowiedziach na wysiłek, takich jak biogeneza mitochondriów, zmiana typu włókien mięśniowych, regulacja w górę VEGF i neowaskularyzacja (Arany i wsp., 2008). Łączy to regulację zużycia tlenu przez mitochondria z dostarczaniem tlenu i składników odżywczych przez układ naczyniowy. Ponadto SIRT1 wspiera również biogenezę mitochondriów i szlak zmiany typu włókien mięśniowych (Lira i wsp., 2010). Efekt neowaskularyzacji potwierdzają również wyniki niedawno opublikowanego badania, gdzie po wielokrotnym podaniu CO₂ zaobserwowano zwiększoną gęstość naczyń włosowatych u szczurów z hiperglikemią (Matsumoto i wsp., 2019).

Należy jednak zaznaczyć, że wyniki badań nad efektem terapeutycznego stosowania CO₂ nie są jednoznaczne i istnieją doniesienia niepotwierdzające pozytywnego wpływu (Zhang i wsp., 2011). Natomiast trzeba wspomnieć, że badanie to testowało efektywność terapii CO₂ na zmianę parametrów sztywności naczyń krwionośnych u pacjentów z cukrzycą w porównaniu z pacjentami bez cukrzycy. Brak znaczącej różnicy odnotowano w grupie chorych na cukrzycę typu II. Podobne doniesienia można znaleźć w innych badaniach, gdzie poprawa współczynnika wzmocnienia ciśnienia aorty nie była widoczna u pacjentów cierpiących na cukrzycę (Németh i wsp., 2018). Układ naczyniowy pacjentów z cukrzycą wydaje się być mniej wrażliwy na korzystne efekty leczenia CO₂, a wynika to najprawdopodobniej z powikłań mikro- i makro-naczyniowych cukrzycy (Fowler, 2008). Niemniej jednak pacjenci z cukrzycą mogą również osiągnąć korzyści z zastosowania terapii CO₂ ze względu na to, że zaobserwowano pozytywny efekt suchych kąpiei CO₂ na proces gojenia się u osób z przewlekłymi ranami o różnej etiologii (cukrzyca typu II, niewydolność żylna, odleżyny itp.) (Wollina i wsp., 2004). Już po pierwszym tygodniu terapii CO₂ następuje poprawa w postaci ziarninowania i zmniejszenia wydzieliny i nieprzyjemnego zapachu zarówno w ranach przewlekłych, jak i ostrych. Podobnie dwadzieścia 45-minutowych zabiegów suchych kąpiei CO₂ znacząco poprawiło gojenie się przewlekłych ran u pacjentów z cukrzycą (Macura i wsp., 2020). Rany u pacjentów, którzy otrzymywali terapię CO₂ goiły się istotnie szybciej w porównaniu z grupą kontrolną. Po terapii CO₂ 66% ran zagoiło się całkowicie w porównaniu z 0% w grupie placebo. Skuteczność terapii dwutlenkiem węgla potwierdza również badanie, gdzie 100 pacjentów z cukrzycą z przewlekłymi ranami zostało poddanych 30-minutowym zabiegom zanurzania stopy w wodzie wzbogaconej CO₂, trzy razy w tygodniu przez trzy miesiące (Abdulhamza i Al-Omary, 2018). Po tym okresie w grupie badanej zaobserwowano znaczną poprawę w obrazowaniu dopplerowskim dużych tętnic i żył kończyn dolnych, jak również odnotowano

zmniejszenie rozmiaru ran. Efektywność kąpeli kwasowęglowych została również potwierdzona w przypadku neuropatii będącej powikłaniem cukrzycowym. Dziesięć zabiegów suchych kąpeli CO₂ spowodowało statystycznie istotne zmniejszenie natężenia bólu, zwiększenie czucia dotyku skórno, poprawę czucia wibracji, a co najważniejsze istotną regresję objawów subiektywnych obejmujących deficyty neuropatyczne (ból, pieczenie, drętwienie, mrowienie, swędzenie, uczucie chłodu) (Maruszewska i Saran, 2015). Autorzy innych badań również donoszą, że terapia CO₂ przeciwdziała, wywołanym hiperglikemią, zmianom czynników regulujących angiogenezę, takich jak śródbłonkowa syntaza tlenu azotu (eNOS, ang. endothelial nitric oxide synthase), VEGF i trombospondyna-1 (TSP-1, ang. thrombospondin 1), a także zmianom w naczyniach włosowatych mięśni (Matsumoto i wsp., 2019). Dowody na to, że VEGF jest kluczowym inicjatorem angiogenezy są dobrze ugruntowane w literaturze naukowej (Zhou i wsp., 2021). W cukrzycy spadkowi liczby i zmian strukturalnych naczyń włosowatych (takich jak zmniejszenie średnicy i objętości), towarzyszy wzrost TSP-1. Badania pokazują, że TSP-1 może być ważnym czynnikiem przeciwdziałającym regresji i rozrzedzenia naczyń włosowatych (Olfert, 2016). Dowiedziono, że podwyższone napięcie ścinające związane ze wzrostem przepływu krwi sprzyja ekspresji eNOS, co z kolei wzmacnia proliferację komórek śródbłonka (Metaxa i wsp., 2008). Zastosowanie przezskórnego CO₂ promuje ekspresję eNOS i VEGF, hamuje ekspresję TSP-1 oraz niweluje wywołanych przez cukrzycę nieprawidłowości mikronaczyń (Matsumoto i wsp., 2019).

Znając efektywność terapii CO₂ oraz mechanizm jej działania, warto zastanowić się, czy przezskórna aplikacja dwutlenku węgla może wywrzeć klinicznie istotną zmianę. Odpowiadającym na to pytanie może być badanie, gdzie seria codziennych kąpeli CO₂ w ciągu czterech tygodni spowodowała podwyższenie szczytowego przepływu tętniczego, zwiększenie przezskórnego ciśnienia tlenu i, co najważniejsze, wydłużenie bezbolesnego dystansu marszu wśród pacjentów z miażdżycą zarostową tętnic obwodowych (Hartmann i wsp., 1997). Wykazano, że nawet jeden zabieg suchej kąpeli kwasowęglowej jest w stanie wywrzeć pozytywny efekt. U pacjentów z nadciśnieniem tętniczym zaobserwowano istotny spadek wartości tętna, ciśnienia skurczowego i rozkurczowego, a z drugiej strony objętość wyrzutowa serca wzrosła (Szafraniec i wsp., 2014). Kolejny istotny klinicznie wynik kąpeli CO₂ zaobserwowano u pacjentów z krytycznym niedokrwieniem kończyn z owrzodzeniem lub gangreną (Toriyama i wsp., 2002). Po kąpeli CO₂ (10 min dwa razy dziennie przez dwa miesiące) 83,1% kończyn zostało uratowanych, a aż w 96,4% nastąpiło zmniejszenie obszaru owrzodzenia lub zgorzeli tylko do jednego palca. Co więcej klinicznie istotne zmiany po

terapii dwutlenkiem węgla zostały również udowodnione pośród pacjentów z chorobą tętnic obwodowych. W jednym z badań pacjentów z chromaniem przestankowym (100-500 metrów) losowo przydzielono do 18 zabiegów CO₂ lub placebo (Fabry i wsp., 2009). Wykazano znaczny wzrost całkowitego przebytego dystansu (+131 metrów (66%); p=0,001) oraz bezbolesnego dystansu (+81 metrów (73%); p=0,02) po terapii CO₂. Poprawa utrzymywała się trzy, jak i 12 miesięcy. Wskaźnik kostka-ramię wzrósł o 37% (p=0,001). Wyniki analizy mikrokrażenia wykazały wzrost ciśnienia skurczowego palucha (13%; p<0,0001), wyjściowego pO₂ (20%; p = 0,01) oraz wazomotoryki (78%; p = 0,001) w grupie CO₂. Poprawa całkowitego dystansu chodu była skorelowana ze wzrostem ABI i poprawą obwodowego natlenowania skóry. Bardzo ważnym jest, aby zauważyć, że subiektywne oceny pacjentów potwierdziły wyżej wymienione korzyści. Powyższe doniesienie te pokazują, że kąpiele CO₂ są klinicznie skutecznym leczeniem pacjentów z PAD.

Biorąc wszystkie powyższe dowody razem, kąpiele w dwutlenku węgla wydają się być efektywną terapią wspomagającą leczenie pacjentów z chorobą tętnic obwodowych. Stosowanie CO₂ jest nieinwazyjne, skuteczne, stosunkowo tanie, a co najważniejsze prowadzić może do zmian na poziomie klinicznej istotności oraz powodować może złagodzenie objawów choroby. Główny mechanizm działania terapii dwutlenkiem węgla opiera się na spowodowaniu redukcji stresu oksydacyjnego oraz rozszerzenia naczyń krwionośnych, a więc poprawie krążenia.

II. Cele badania

Dwutlenek węgla oraz ozon uznane są za surowce lecznicze stosowane w leczeniu chorób naczyń obwodowych w warunkach uzdrowiskowych. Suche kąpiele kwasowęglowe są zabiegiem refundowanym przez Narodowy Fundusz Zdrowia, a z uwagi na możliwość przeprowadzania w tych samych komorach zabiegowych suchych kąpeli w mieszanice tlenowo-ozonowej są one także powszechnie stosowane w wielu zakładach leczniczych polskich uzdrowisk. Celem badań było oszacowanie potencjalnego wpływu kąpeli tlenowo-ozonowych na czynniki ryzyka choroby tętnic obwodowych oraz na jakość życia i sprawność fizyczną u pacjentów z czynnikami ryzyka PAD i ABI będącym w normie lub wskazującym na początkowe stadium choroby tętnic obwodowych. Analizie poddano efektywność ozonoterapii w porównaniu z grupą kontrolną oraz z suchymi kąpielami w dwutlenku węgla.

Niezależnym celem badań była identyfikacja ewentualnych zależności pomiędzy współczynnikiem kostka-ramię a czynnikami ryzyka PAD, jakością życia, aktywnością i sprawnością fizyczną oraz elementami diety u pacjentów z czynnikami ryzyka PAD i ABI będącym w normie lub wskazującym na początkowe stadium choroby tętnic obwodowych.

III. Metodologia

1. Metodologia i przebieg badań

Badania zostały przeprowadzone w Katedrze i Zakładzie Diagnostyki Funkcjonalnej i Medycyny Fizykalnej Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie. Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie (KB-0012/16/17). Rekrutacja do badań została przeprowadzona w zakładach opieki zdrowotnej w Szczecinie. Informacje były promowane przez plakaty i ulotki.

Kryteria włączenia do badań:

- świadoma, pisemna zgoda pacjenta na udział w badaniu;
- wiek powyżej 65 roku życia;
- minimum dwa dodatkowe czynniki ryzyka PAD spośród: palenie, cukrzyca typu II, nadciśnienie tętnicze, dyslipidemia, stan zapalny, zwiększona lepkość krwi lub nadmierna krzepliwość, hiperhomocysteinemia.

Wykluczającymi kryteriami były:

- zdiagnozowane ostre lub krytyczne niedokrwienie kończyny;
- pacjenci wymagający amputacji w przeciągu 4 miesięcy od zdiagnozowania PAD;
- pacjenci z zdiagnozowaną chorobą Buergera oraz pacjenci z zespołem Leriche’a;
- pacjenci otrzymujący leki immunosupresyjne, będący w trakcie chemioterapii lub radioterapii;
- pacjenci z zdiagnozowanym nowotworem złośliwym;
- pacjenci z przewlekłą chorobą nerek zdefiniowaną poprzez poziom kreatyniny powyżej 2,5 mg/dl;
- równoczesny udział w innym badaniu klinicznym.

Do badań zgłosiło się 145 ochotników. Po pierwszej kwalifikacji i weryfikacji kryteriów wykluczono 70 osób. Ostatecznie do badań włączono 75 osób. W czasie trwania interwencji cztery osoby zrezygnowały z uczestnictwa bez podania przyczyny zatem badania ukończyło 71 pacjentów.

W pierwszym etapie badań wszyscy uczestnicy zostali poproszeni o wypełnienie formularza socjo-demograficznego, kwestionariusza jakości życia, Międzynarodowego Kwestionariusza Aktywności Fizycznej oraz Kwestionariusz Częstotliwości Spożycia Żywności. Wykonano pomiary antropometryczne (wysokość i masa ciała, obwód talii, obwód bioder, wyznaczenie wskaźnika BMI i stosunku talia:biodra) i analizę składu ciała metodą bioimpedancji elektrycznej, dokonano pomiaru ciśnienia tętniczego krwi i określono wartość

wskaźnika ABI, a także przeprowadzono 6-minutowy test marszu. Uczestnicy zostali skierowani do laboratorium diagnostycznego, gdzie przeprowadzono badania krwi w celu oceny: stężenia glukozy na czczo, hemoglobiny glikowanej, cholesterolu całkowitego, HDL-cholesterolu, LDL-cholesterolu, triacylogliceroli, białka C-reaktywnego oraz homocysteiny.

W badaniu zastosowano blokową metodę randomizacji. Pacjenci zostali losowo przydzielani do jednej z trzech grup:

I - pierwszą grupą kontrolną były osoby otrzymujące zabiegi placebo

II - druga grupa to osoby pobierające suche kąpiele ozonowe (grupa O₃)

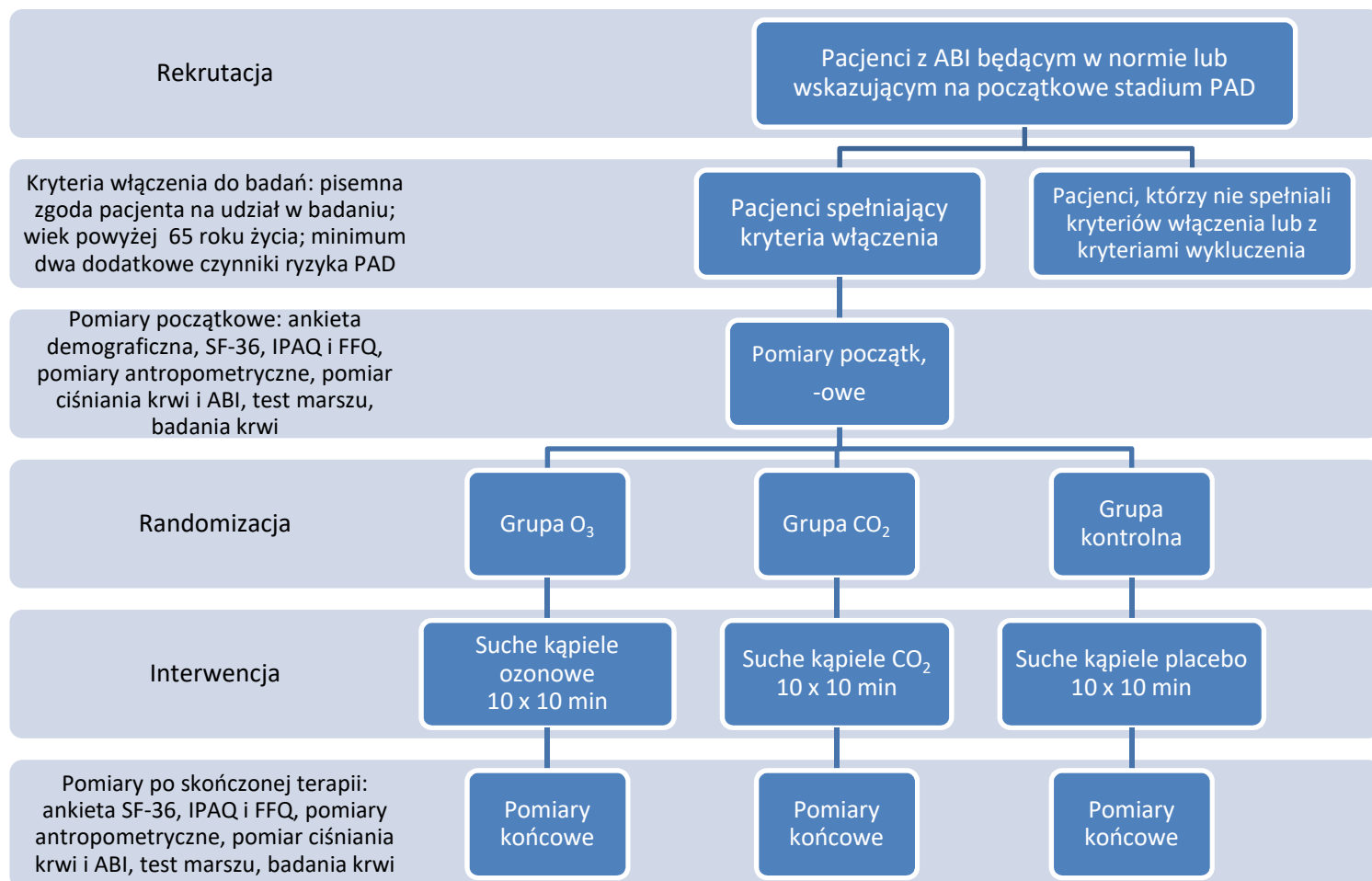
III - trzecia grupa to osoby pobierające suche kąpiele CO₂ (grupa CO₂)

Procedura zabiegowa

Wszyscy pacjenci zostali poddani serii 10 codziennych zabiegów odpowiednich dla grupy (z wyłączeniem sobót i niedziel). Czas trwania pojedynczego zabiegu wynosił 10 minut. Zabiegi wykonywane były indywidualnie dla każdej z osób, z zastosowaniem jednoosobowej komory do suchych kąpiei w dwutlenku węgla CO₂ lub ozonie O₃ TOWER MX-1, firmy MAXimus.

Komora do suchych kąpiei kwasowęglowych lub ozonowych wyposażona jest w mikroprocesorowy system sterowania i kontroli zabiegiem co pozwalało na w pełni zautomatyzowany i ujednolicony przebieg zabiegu w zakresie dawki CO₂, stężenia ozonu, czasu zabiegu, temperatury w zakresie od 25°C do 40°C. W czasie zabiegu utrzymywane były stałe, wcześniej nastawione parametry: temperatura, wilgotność i stężenie CO₂ lub O₃. Pomieszczenie, w którym odbywały się zabiegi wyposażone było w sprawną instalację wentylacyjną. Zabiegi wykonywane były w pozycji siedzącej, wygodnej dla każdego pacjenta, z regulacją pokrywy dostosowaną do wysokości ciała pacjenta w przedziale od 130 do 210 cm. Zabiegi wykonywane były z zachowaniem wszelkich standardów medycznych oraz bezpieczeństwa higienicznego.

Po cyklu zabiegów zostały wykonane powtórne badania laboratoryjne, został przeprowadzony pomiar ciśnienia krwi i ABI, pomiary antropometryczne, analiza składu ciała, test marszu, jak również ankiety zostały powtórnie wypełnione. Dokładny przebieg badania zaprezentowano na rycinie 2.



Rycina 2. Metodyka badań.

2. Zastosowane pomiary i testy

Pomiary antropometryczne

Podstawowe pomiary antropometryczne wysokości i masy ciała wykonywano każdorazowo w godzinach porannych (8:00 - 10:00), z zastosowaniem medycznej wagi Seca ze wzrostomierzem. Pomiar obwodu talii i bioder wykonano miarką Seca 201. Każdy pomiar wykonywano dwukrotnie i zanotowano z dokładnością do 0,01 kg lub 0,5 cm, a następnie obliczono średnią, którą przyjęto do analizy.

Z uzyskanych wartości wyliczano wskaźnik masy ciała BMI oraz stosunek talii do bioder (WHR, ang. waist to hip ratio) z zastosowaniem wzorów:

$$\text{BMI [kg/m}^2\text{]} = \frac{\text{masa ciała [kg]}}{\text{wysokość ciała [m]}^2}$$

$$\text{WHR} = \frac{\text{obwód talii (cm)}}{\text{obwód bioder (cm)}}$$

Po podstawowych pomiarach antropometrycznych wykonano badanie składu ciała z zastosowaniem urządzenia medycznego Accuniq BC380 o wskaźniku dokładności $r=0,97$ i powtarzalności $r=0,99$ (Selvas Healthcare). Analizator składu ciała Accuniq BC380, firmy Selvas Healthcare posiada certyfikat EC0197 oraz spełnia wymagania dyrektywy MDD 93/42EEC w zakresie urządzeń medycznych. Pomiar na analizatorze można wykonywać w przedziale wiekowym 1 - 99 lat, a maksymalne obciążenie wagi to 250 kg. Analizator wykonuje pomiar składu ciała człowieka z wykorzystaniem trzech częstotliwości pomiarowych (5, 50, 250 kHz) i ośmiu elektrod (cztery elektrody wbudowane w wagę i po dwie w uchwytach na dłonie). Taka konstrukcja analizatora zapewnia przepływ prądu pomiarowego przez całe ciało osoby badanej, a co za tym idzie wskazanie składu całego ciała oraz z podziałem na segmenty (nogi, ręce, tułów). Umożliwia to oszacowanie ilości trzewnej tkanki tłuszczowej oraz zawartości mięśni w segmentach ciała. Accuniq BC380 umożliwił ocenę parametrów, takich jak tkanka tłuszczowa, tkanka tłuszczowa zgromadzona w okolicy brzucha, beztłuszczowa masa ciała, masa mięśni w segmentach ciała, całkowita zawartość wody w organizmie, wskaźnik zawartości wody pozakomórkowej.

Wskaźnik kostka-ramię

Ocena wskaźnika kostka-ramię jest najczęściej stosowaną metodą podczas diagnozy choroby tętnic obwodowych. American Collage of Cardiology/American Heart Association potwierdza wysoką czułość i swoistość tej metody diagnostycznej, podkreślając jednocześnie wysoką powtarzalność u tego samego badacza, ale również i między badaczami. Dokładność pomiaru ABI wynosi 0,10 (Hirsch i wsp., 2006a). Wyznaczanie wskaźnika kostka-ramię odbywało się na leżącym po 10-minutowym spoczynku w danej pozycji. ABI jest ilorazem SBP kostki do SBP ramienia. W tym badaniu ABI zostało wyznaczone przy użyciu automatycznego urządzenia ABPI MDTM, firmy MESI, development of medical devices, Ltd. Ljubljana, Slovenia. Zakres pomiarowy aparatu to dla ciśnienia 0-299 mmHg, dla wartości tętna 30-199/min. Wartości graniczne błędu pomiarowego wynoszą dla ciśnienia ± 3 mmHg, dla wartości tętna $\pm 5\%$ wartości, dla wskaźnika kostka-ramię $\pm 0,1$. Interpretacja wskaźnika kostka-ramię przedstawiona jest w tabeli 1 (Chobanian i wsp., 2003).

Tabela 1. Interpretacja wartości wskaźnika kostka-ramię (ABI).

Wartość wskaźnika kostka-ramię (ABI)	Interpretacja
$\geq 1,3$	Nieprawidłowa sztywność naczyń krwionośnych
1,0 – 1,29	Wynik prawidłowy
0,91 – 0,99	Nieznaczące zmiany światła tętnic
0,71 – 0,90	Łagoda choroby tętnic obwodowych
0,51 – 0,70	Umiarkowana choroba tętnic obwodowych
$\leq 0,5$	Krytyczne niedokrwienie kończyn dolnych

Ocena sprawności fizycznej pacjentów

Test sprawności fizycznej, jaki wykonywał każdy z pacjentów, to sześciominutowy test marszu (6MWT, ang. 6-minute walking test). Metoda ta jest polecana pacjentom z problemami kardiologicznymi. Przeprowadzona metaanaliza wykazała istnienie mocnych dowodów na wysoką czułość 6MWT na zmiany w wynikach klinicznych pacjentów z problemami kardiologicznymi (Bellet i wsp., 2012). Pośród 15 zawartych badań średnia różnica w przechodzonym dystansie wynosiła 60,43 m. Zmiana przebytego dystansu na poziomie 50 m uznawana jest za klinicznie znacząca w większości stanów chorobowych. Współczynnik korelacji wewnątrzklasowej dla 6MWT wynosi 0,97. Procedura sześciominutowego testu marszu była zgodna z zaleceniami American Thoracic Society (ATS Committee on Proficiency Standards for Clinical Pulmonary Function Laboratories, 2002). Test został przeprowadzony na odcinku 30 metrów z zaznaczeniem odległości na podłodze co dwa metry. Pacjent został poinstruowany, aby iść jak najszybciej potrafi w przeciągu sześciu minut, pacjent nie mógł biec. Całkowity przechodzony dystans był wynikiem końcowym testu.

Ocena jakości życia, poziomu aktywności fizycznej i sposobu żywienia pacjentów

Do oceny jakości życia i poziomu aktywności fizycznej badanych zastosowano metodę sondażu diagnostycznego, technikę ankietową. Standaryzowany kwestionariusz oceny jakości życia, jaki został wykorzystany w tym badaniu, to SF-36. Ankieta ta pozwala na ocenę wielu wskaźników jakości życia: funkcjonowanie fizyczne, ograniczenie w pełnieniu ról z powodu zdrowia fizycznego, dolegliwości bólowe, ogóle poczucie zdrowie, witalność, funkcjonowanie społeczne, ograniczenie w pełnieniu ról wynikające z problemów emocjonalnych oraz poczucie zdrowia psychicznego. Kwestionariusz ten ma zastosowanie pośród pacjentów z problemami układu krwionośnego. Polska wersja językowa SF-36 została

zweryfikowana pod względem trafności i funkcjonalności narzędzia w badaniu pilotażowym właśnie na grupie pacjentów kardiologicznych (Tylka i Piotrowicz, 2009). Natomiast w 2000 roku zostało opublikowane badanie porównujące cztery kwestionariusze oceny jakości życia pacjentów z problemami kardiologicznymi (SF-36, QLI, QLMI, SEIQoL) (Smith i wsp., 2000). Jedynie ocena przy pomocy ankiety SF-36 wykazała wystarczającą czułość do wykrycia znaczącej poprawy vitalności po przeprowadzonej rehabilitacji kardiologicznej. Pięć z ośmiu kategorii jakości życia pokazały umiarkowaną czułość. SF-36 charakteryzuje się rzetelności obliczoną metodą połówkową na poziomie 0,94, rzetelnością spójności wewnętrznej na poziomie 0,70-0,91, trafnością zbieżną w wysokości 88,57% i trafnością różnicową 90,61% (Wang i wsp., 2016b). SF-36 jest ankietą do samodzielnego wypełnienia przez pacjenta. Najniższa wartość punktowa oznacza najlepszą ocenę jakości życia (Tylka i Piotrowicz, 2009).

Ankieta na temat aktywności fizycznej, która została wykorzystana w tym badaniu to Międzynarodowy Kwestionariusz Aktywności Fizycznej (IPAQ, ang. International Physical Activity Questionnaire). Jest to kwestionariusz o szerokim zastosowaniu zarówno pośród osób zdrowych, jak i pośród pacjentów klinicznych. Badania oceniające rzetelność tej metody wykazały mocną pozytywną relację pomiędzy monitorami aktywności a wynikiem całkowitej aktywności IPAQ ($r=0,55$, $p<0,001$) oraz wynikiem intensywnej aktywności fizycznej ($r=0,71$, $p<0,001$) (Hagstromer i wsp., 2006). Podobnie znaczącą korelację wykazało porównanie wyników MET-h (ang. metabolic equivalent of task) obliczonych za pomocą dzienniczka aktywności fizycznej z wynikami MET-h z ankiety IPAQ ($r=0,67$, $p<0,001$). W badaniu została wykorzystana polska wersja (Biernat, 2013). Ankieta IPAQ została wypełniona samodzielnie przez pacjentów badania.

Narzędzie badawcze, jakie zostało wykorzystane w celu oceny sposobu żywienia pacjentów, to Kwestionariusz Częstotliwości Spożycia Żywnienia (FFQ, ang. Food Frequency Questionnaire). Ankieta ta zawiera pytania dotyczące częstotliwości spożywania 165 produktów. Jest to metoda o niskich kosztach oraz względnie prosta do zastosowania, dlatego też poleca się ją do oceny grup ludzi. Niewątpliwą zaletą FFQ jest fakt, że można jej wyniki korelować z wskaźnikami zdrowotnymi, ze względu na to, że dzięki niej otrzymuje się dokładniejsze informacje o zwyczajowym sposobie żywienia w porównaniu z 24-godzinnym wywiadem. Kwestionariusz Częstotliwości Spożycia Żywnienia jest więc bardzo często stosowany w badaniach naukowych. Test powtarzalności wyników wykazał współczynnik na poziomie 0,78 (95% CI 0,73-0,83) (Wadolowska, 2005). Ankietę tę uznano za metodę o wysokiej powtarzalności i małej zmienności wewnątrzosobniczej. Inne badanie walidacyjne

potwierdziło taką ocenę, pokazując bardzo podobną rzetelność ($r=0,70$) (Hu i wsp., 1999). Ankieta FFQ została wypełniona samodzielnie przez pacjentów badania.

3. Analiza statystyczna

Do obliczeń statystycznych użyto programu R. Zbadano rozkład danych za pomocą testu Shapiro-Wilka. W celu obliczenia istotności statystycznej wykorzystano następujące testy statystyczne: test Kruskala-Wallisa, Aligned Ranks Transformation ANOVA, Fisher Test, korelacja Pearsona oraz korelacja Kendall's Tau. Za próg istotności statystycznej przyjęto $p<0,05$.

IV. Wyniki

1. Charakterystyka badanych

Udział w badaniach ukończyło 71 osób, w większości były to kobiety. Dokładna charakterystyka badanych przedstawiona została w tabeli 2. Średnia wieku badanych wynosiła 71,1 lat. Zdecydowana większość badanych posiadała status emeryta i mieszkała w mieście powyżej 250 tysięcy mieszkańców. Większość z osób posiadała wykształcenie na poziomie średnim. Najrzadziej deklarowanym poziomem wykształcenia było podstawowe oraz zawodowe. Jeżeli chodzi o stan cywilny, przeważał stan zamężna/zamężny lub wdowa/wdowiec.

Tabela 2. Charakterystyka badanych.

		Wszyscy badani n = 71	Grupa O ₃ n = 24	Grupa CO ₂ n = 24	Grupa kontrolna n = 23
Wiek, lata		71,1 ± 5,52	70,2 ± 6,37	71,6 ± 5,45	71,6 ± 4,72
Stosunek mężczyźni : kobiety		22:49	8:16	9:21	5:18
Miejsce zamieszkania, n (%)	Wieś	1 (1,4)	0 (0)	1 (4,2)	0 (0)
	Miasto < 50 tys.	3 (4,2)	2 (8,3)	0 (0)	1 (4,3)
	Miasto > 250 tys.	67 (94,4)	22 (91,7)	23 (95,8)	22 (95,7)
Status cywilny, n (%)	Wolna/y	4 (5,6)	3 (12,5)	1 (4,2)	0 (0)
	Zamężna/y	40 (56,3)	14 (58,3)	13 (54,2)	13 (56,5)
	Rozwiedziona/y	5 (7,0)	0 (0)	1 (4,2)	4 (17,4)
	Wdowa/wdowiec	22 (31,0)	7 (29,2)	9 (37,5)	6 (26,1)
Wykształc- enie, n (%)	Podstawowe	4 (5,6)	0 (0)	2 (8,3)	2 (8,7)
	Zawodowe	6 (8,5)	3 (12,5)	2 (8,3)	1 (4,3)
	Średnie	48 (67,6)	20 (83,3)	16 (66,7)	12 (52,2)
	Wyższe	13 (18,3)	1 (4,2)	4 (16,7)	8 (34,8)
Sytuacja zawodowa, n (%)	Bezrobotna/y	1 (1,4)	0 (0)	1 (4,3)	0 (0)
	Pracująca/y	4 (5,6)	1 (4,2)	1 (4,3)	2 (8,3)
	Emerytka/emeryt	66 (93,0)	23 (95,8)	21 (91,3)	22 (91,7)
n – liczba badanych O ile nie jest podane inaczej, prezentowane dane to średnia ± odchylenie standardowe					

2. Czynniki ryzyka choroby tętnic obwodowych

W tabeli 3 zaprezentowane zostały dane dotyczące czynników ryzyka PAD pośród badanych. Wyjściowo grupy badanych nie różniły się istotnie w ocenianych wskaźnikach. Wszyscy pacjenci byli w grupie podwyższonego ryzyka PAD ze względu na wiek, gdyż takie było jedno z kryterium włączenia do badania. Średnia wieku była powyżej siedemdziesiątego roku życia, najmłodsza osoba miała 65 lat, a najstarsza 88 lat. Większość stanowiły kobiety, a stosunek mężczyzn do kobiet wahał się pomiędzy 5:18 a 8:16 w poszczególnych grupach badanych. Średnia masa ciała badanych oscylowała około 80 kg we wszystkich grupach badanych, natomiast średnia wartość BMI dla poszczególnych grup wahała się pomiędzy 29,1 a 31,8 kg/m². Niedowaga w ogóle nie występowała, a otyłość była powszechna wśród badanych. Jedynie 16,9% badanych mieściła się w normie dla wskaźnika BMI, pozostała część osób cechowała nadwaga lub otyłość. Stosunek talii do bioder pośród mężczyzn wynosił średnio 0,98, a u kobiet 0,90. Pomiar metodą bioimpedancji elektrycznej wykazał u mężczyzn dość szeroki zakres procentowej zawartości tkanki tłuszczowej (18,0%-45,8%), natomiast wśród kobiet zakres ten był jeszcze szerszy, bo od 13% do 51,5%. Grupa poddana suchym kąpielom ozonowym charakteryzowała się nieznacznie statystycznie wyższym BMI i procentową zawartością tkanki tłuszczowej. Grupa otrzymująca suche kąpiele w dwutlenku węgla wykazywała nieznacznie statystycznie niższy stosunek talii do bioder. W populacji badanej 12,7% osób aktywnie paliło papierosy, z czego średnia ilość wypalanych papierosów wahała się pomiędzy 10 a 25 papierosów na dzień w poszczególnych grupach. Blisko połowa uczestników badań miała cukrzycę typu II. Obecność cukrzycy typu II była stwierdzona na podstawie wcześniejszej diagnozy lekarskiej, użycia leków przeciwcukrzycowych lub poziomu glikemii na czczo ≥ 126 mg/dl. Średnia wartość glikemii na czczo wynosiła 108,3 mg/dl i we wszystkich grupach badanych była bardzo zbliżona (108,4–114,4 mg/dl). Stężenie hemoglobiny glikowanej było najniższe w grupie kontrolnej (5,94%), a najwyższe w grupie O₃. Niemniej jednak różnice te były nieistotne statystycznie. Nadciśnienie tętnicze było obecne u większości badanych (63,4%), z czego najrzadziej występowało w grupie kontrolnej (39,1%), a najczęściej w grupie CO₂ (83,3%). Nadciśnienie tętnicze zdefiniowane było poprzez wcześniejszą diagnozę lekarską, użycie leków obniżających ciśnienie tętnicze lub wartość skurczowego ciśnienia tętniczego ≥ 140 mmHg i/lub rozkurczowego ≥ 90 mmHg. Początkowe średnie wartości skurczowego ciśnienia tętniczego to 148,8 mmHg, a rozkurczowego 76,6 mmHg. Zaburzenia profilu lipidowego występowały u prawie wszystkich uczestników badania, a zdefiniowane zostały jako wcześniejsza postawiona diagnoza zaburzeń profilu lipidowego lub przyjmowanie leków regulujących gospodarkę lipi-

Tabela 3. Czynniki ryzyka choroby tętnic obwodowych wśród badanych.

		Wszyscy n = 71	Grupa O ₃ n = 24	Grupa CO ₂ n = 24	Gr. kontrolna n = 23
Wiek, lata		71,1 ± 5,52	70,2 ± 6,37	71,6 ± 5,45	71,6 ± 4,72
Płeć, mężczyźni:kobiety		22:49	8:16	9:21	5:18
Masa ciała	Waga, kg	81,4 ± 16,5	83,8 ± 13,2	81,8 ± 15,3	78,5 ± 20,5
	BMI, kg/m ²	30,6 ± 5,5	31,8 ± 4,7	30,9 ± 5,2	29,2 ± 6,6
	Niedowaga, n (%)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	Norma, n (%)	12 (16,9)	2 (8,3)	3 (12,0)	7 (30,4)
	Nadwaga, n (%)	17 (23,9)	6 (25,0)	4 (16,7)	7 (30,4)
	Otyłość, n (%)	42 (59,2)	16 (66,7)	17 (70,8)	9 (39,1)
Obwód talii, cm	Mężczyźni	105,3 ± 10,4	107,1 ± 11,8	102,9 ± 9,5	106,8 ± 11,1
	Kobiety	96,7 ± 12,2	99,9 ± 11,1	97,9 ± 10,8	90,9 ± 12,8
Stosunek talia:biodra	Mężczyźni	0,98 ± 0,04	0,99 ± 0,03	0,96 ± 0,05	0,99 ± 0,03
	Kobiety	0,90 ± 0,05	0,89 ± 0,05	0,93 ± 0,03	0,89 ± 0,06
Tkanka tłuszczowa, %	Mężczyźni	29,43 ± 6,19	30,40 ± 7,69	29,54 ± 5,19	27,70 ± 5,71
	Kobiety	40,21 ± 7,78	42,36 ± 5,34	41,20 ± 7,69	36,80 ± 9,39
Palenie	Palacz, n (%)	9 (12,7)	4 (16,7)	3 (12,5)	2 (8,7)
	Ilość papierosów/ dzień	14,4 ± 10,6	10,0 ± 4,1	13,3 ± 7,0	25 ± 21,2
	Były palacz (< 5 lat), n (%)	7 (9,9)	3 (12,5)	2 (8,3)	2 (8,7)
	Były palacz (> 5 lat), n (%)	24 (33,8)	9 (37,5)	8 (34,8)	7 (29,2)
Cukrzyca typu II	Obecność, n (%)	34 (47,9)	10 (41,7)	15 (62,5)	9 (39,1)
	Glukoza, mg/dl	108,3 ± 43,2	114,4 ± 29,3	111,2 ± 26,5	108,4 ± 29,3
	HbA _{1c} , %	6,12 ± 1,08	6,39 ± 1,68	6,06 ± 0,68	5,94 ± 0,53
Nadciśnienie tętnicze	Obecność, n (%)	45 (63,4)	16 (66,7)	20 (83,3)	9 (39,1)
	SBP, mmHg	148,8 ± 23,0	146,3 ± 21,2	157,8 ± 23,3	140,9 ± 21,9
	DBP, mmHg	76,6 ± 11,8	76,8 ± 11,7	79,4 ± 11,6	72,3 ± 10,4
	Tętno, bpm	69,2 ± 12,4	71,3 ± 10,9	69,4 ± 15,2	66,3 ± 10,2
Zaburzenie profilu lipidowego	Obecność, n (%)	68 (95,8)	24 (100,0)	21 (87,5)	23 (100,0)
	Cholesterol całkowity, mg/dl	186,3 ± 43,2	193,2 ± 48,0	180,5 ± 41,0	184,9 ± 42,3
	LDL-cholesterol, mg/dl	118,4 ± 42,4	125,7 ± 48,5	116,1 ± 40,4	112,9 ± 39,5
	HDL-cholesterol, mg/dl	57,2 ± 16,1	57,94 ± 18,3	52,3 ± 13,3	61,2 ± 16,3
	Triacyloglicerole, mg/dl	144,2 ± 79,8	133,3 ± 62,1	166,7 ± 102,4	135,0 ± 66,4
Hiperhomo- cysteinemia	Obecność, n (%)	27 (38,0)	11 (45,8)	10 (41,7)	6 (26,1)
	Homocysteina, μmol/l	14,9 ± 4,5	15,1 ± 3,7	16,3 ± 6,1	13,4 ± 2,5
Zaburzenie krzepliwości	Obecność, n (%)	7 (9,9)	2 (8,3)	3 (12,5)	2 (8,7)
Stan zapalny	Obecność, n (%)	23 (32,4)	7 (29,2)	9 (37,5)	7 (30,4)
	CRP, mg/l	2,81 ± 2,40	2,82 ± 2,78	2,62 ± 1,77	2,76 ± 2,43
O ile nie jest podane inaczej, prezentowane dane to średnia ± odchylenie standardowe n – liczba badanych, BMI – Body Mass Index, HbA _{1c} – hemoglobina glikowana, SBP – skurczowe ciśnienie tętnicze, DBP – rozkurczowe ciśnienie tętnicze, LDL-cholesterol – low density lipoprotein cholesterol, HDL-cholesterol – high density lipoprotein cholesterol, CRP – białko C reaktywne					

dów lub jedno spośród: cholesterol całkowity ≥ 240 mg/dl, triacyloglicerole ≥ 150 mg/dl, LDL-cholesterol ≥ 140 mg/dl, HDL-cholesterol < 40 mg/dl. Pomimo bardzo powszechnego występowania zaburzeń profilu lipidowego, początkowe średnie wartości wszystkich parametrów były w zakresie normy. Patrząc na różnice pomiędzy grupami, okazało się, że grupa O₃ charakteryzowała się najwyższym poziomem cholesterolu całkowitego, podczas gdy grupa CO₂ najniższym poziomem. Podobnie poziom LDL-cholesterol również był najwyższy w grupie O₃, jednak najniższy poziom był w grupie kontrolnej. Z kolei poziom triacylogliceroli najwyższy był w grupie CO₂. Żadna z tych różnic nie była istotna statystycznie. Hiperhomocysteinemia obecna była u 38% uczestników badania. Stan ten był definiowany jako stężenie homocysteiny ≥ 15 mol/l. Początkowe średnie stężenie homocysteiny równe było 14,9 mol/l. Stan zapalny występował z podobną częstotliwością co hiperhomocysteinemia, gdyż obecny był u 32,4% badanych. Obecność tego czynnika ryzyka oceniony został za pomocą pomiaru CRP, a jego poziom powyżej 3 mg/l równoznaczny był z występowaniem stanu zapalnego. Zaburzenia krzepliwości były najrzadziej występującym czynnikiem ryzyka i występowały jedynie u siedmiu pacjentów.

Średnia liczba występujących czynników ryzyka spośród: wiek, palenie, cukrzyca typu II, nadciśnienie tętnicze, dyslipidemia, stan zapalny, zaburzona krzepliwość, hiperhomocysteinemia, wynosiła $4,34 \pm 0,96$. W całej populacji badanej 13 osób wykazywało wymaganą, minimalną do włączenia do badań liczbę trzech czynników ryzyka PAD, a najliczniejszą była grupa posiadająca cztery czynniki (26 pacjentów) oraz pięć czynników ryzyka (23 pacjentów). W grupie O₃ pacjenci mieli średnio $4,38 \pm 0,92$ czynników ryzyka PAD, w grupie CO₂ $4,54 \pm 0,78$, a w grupie kontrolnej $4,09 \pm 1,12$.

3. Wpływ terapii na wybrane wskaźniki ryzyka PAD

W tabeli 4 przedstawiono wpływ suchych kąpielii ozonowych oraz w dwutlenku węgla na wartości ciśnienia tętniczego oraz wybrane cechy antropometryczne i wskaźniki biochemiczne krwi. Analiza statystyczna wykazała, że suche kąpiele ozonowe spowodowały znaczące zmiany w następujących obszarach: poprawa wskaźnika kostka-ramię i stosunku talii do bioder, zmniejszenie procentowej zawartości tkanki tłuszczowej w organizmie, spadek hemoglobiny glikowanej oraz obniżenie wartości rozkurczowego ciśnienia krwi. Analiza porównawcza wyników z przed i po terapii wykazała, że grupa poddana suchym kąpielom w dwutlenku węgla po terapii miała statystycznie istotnie podwyższony indeks kostka-ramię oraz znacząco obniżone BMI, wartość tętna spoczynkowego oraz poziom triacylogliceroli we krwi w porównaniu z początkowymi wartościami. Wielkość poprawy ABI wywołanej przez

terapię to 0,04 w przypadku grupy O₃ (p=0,01) i 0,03 w grupie CO₂ (p=0,02). W grupie kontrolnej, gdzie pacjenci poddani byli zabiegom placebo, imitujących suche kąpiele, zaobserwowano dwie znaczące różnice: obniżenie procentowej zawartości tkanki tłuszczowej w organizmie i wzrost procentowej zawartości hemoglobiny glikowanej. Po serii zabiegów suchych kąpiele, różnice pomiędzy grupami badanymi stały się znaczące dla następujących parametrów: procentowa zawartość tkanki tłuszczowej w organizmie, rozkurczowe ciśnienie tętnicze oraz tętno spoczynkowe. W grupie O₃ i kontrolnej procentowa zawartość tkanki tłuszczowej w równym stopniu uległa obniżeniu, podczas gdy zmiana w grupie CO₂ nie osiągnęła progu istotności statystycznej. Po terapii rozkurczowe ciśnienie tętnicze nieznacznie podniosło się w grupie kontrolnej i CO₂, podczas gdy w grupie O₃ statystycznie istotnie spadło. Natomiast wartość tętna spoczynkowego obniżyło się w grupie CO₂ oraz nieznacznie w grupie O₃, podczas gdy w grupie kontrolnej wartość tętna podwyższyło się.

Następnie przeanalizowano wpływ zastosowanych terapii na jakość życia pacjentów (tabela 5). Po serii zabiegów, we wszystkich grupach badanych zaobserwowano zmniejszoną ilość punktów uzyskiwanych w kwestionariuszu SF-36, co wskazuje na poprawę jakości życia pacjentów, niezależnie od rodzaju zabiegów, w tym co ciekawe, także zabiegów placebo. Spośród dwóch domen jakości życia, ozonoterapia pozytywnie wpłynęła na wymiar fizyczny jakości życia (p<0,01), podczas gdy suche kąpiele w dwutlenku węgla poprawiły wymiar mentalny (p<0,01). Natomiast w grupie kontrolnej zaobserwowano zmiany zarówno w wymiarze fizycznym, jak i wymiarze mentalnym (p<0,05 dla obu parametrów). Omawiając poszczególne domeny, warto zauważyć, że funkcjonowanie fizyczne zostało poprawione wyłącznie na skutek ozonoterapii. Natomiast suche kąpiele CO₂ spowodowały jako jedyne, zmiany w ograniczeniach z powodu zdrowia fizycznego, witalności, funkcjonowaniu emocjonalnym i zdrowiu psychicznym. Zarówno w grupie CO₂ jak i placebo, po terapii pacjenci wykazali lepsze funkcjonowanie socjalne. We wszystkich grupach nastąpiła poprawa w następujących domenach jakości życia: odczuwanie bólu i ogólne poczucie zdrowia. Suche kąpiele w dwutlenku węgla spowodowały najbardziej znaczące zmiany w indeksie jakości życia (z średnio 68,5 punktów na 49,5, p=0,001) oraz w poszczególnych domenach. Dlatego też po terapii zaobserwowano znaczącą różnicę w jakości życia pomiędzy grupami. Istotnie statystyczna różnica pomiędzy grupami badanymi pojawiła się również dla wymiaru mentalnego oraz domen, takich jak odczuwanie bólu i funkcjonowanie emocjonalne.

Na koniec przeanalizowano wpływ terapii na sprawność fizyczną oraz podejmowaną aktywność fizyczną (tabela 6). Dystans 6-minutowego testu marszu, który przeszli pacjenci po terapii ozonem oraz dwutlenkiem węgla znacząco wydłużył się, co świadczy o poprawie

sprawności fizycznej. Ozonoterapia spowodowała zwiększenie dystansu o 60 metrów (z średnio 422,7 m na 482,1 m), a terapia CO₂ o 28 m (z średnio 440,7 m na 468,8 m). Natomiast dystans, który przeszli pacjenci grupy kontrolnej praktycznie nie zmienił się. Całkowita aktywność fizyczna wyliczona na podstawie kwestionariusza IPAQ znacząco zwiększyła się w grupie O₃ i placebo. Podobnie w tych grupach zaobserwowano istotne zmiany w kategoriach aktywności fizycznej w postaci mniejszej liczby osób o niskim poziomie aktywności fizycznej, a większej liczby osób z umiarkowaną i wysoką aktywnością. Warto zauważyć, że grupa CO₂ charakteryzowała się najwyższym wyjściowym poziomem aktywności fizycznej, aczkolwiek różnica ta nie była istotna statystycznie. Poziom ten został nieznacznie zwiększony, w sposób nieosiągający istotności statystycznej. Ponadto grupa ta nie zmieniła żadnej z domen aktywności fizycznej, jak i żadnego rodzaju wysiłku. Natomiast ozonoterapia wywołała znaczącą zmianę w poziomie aktywności fizycznej związanej z przemieszczaniem się, pracami domowymi i porządkowymi oraz chodzeniem i umiarkowanym wysiłkiem fizycznym. Aktywność fizyczna, która znacząco zmieniała się na skutek zabiegów placebo to: prace domowe i porządkowe, rekreacja, sport i aktywność fizyczna w czasie wolnym oraz umiarkowany wysiłek fizyczny. Czas spędzony siedząc został zredukowany jedynie w grupie O₃. W grupie CO₂ zmiana ta nie osiągnęła poziomu istotności statystycznej, a w grupie kontrolnej czas spędzony siedząc został wręcz nieznacznie wydłużony po terapii. Po przebytym cyklu zabiegów suchych kąpeli grupy badane nie różniły się znacząco pomiędzy sobą zarówno pod względem sprawności fizycznej, podejmowanej aktywności fizycznej czy czasu spędzonego siedząc.

Tabela 4. Wpływ terapii na wybrane wskaźniki.

	Grupa O ₃ (n = 24)			Grupa CO ₂ (n = 24)			Grupa kontrolna (n = 23)			
	przed terapią	po terapii	wartość p	przed terapią	po terapii	wartość p	przed terapią	po terapii	wartość p	wartość p
ABI	1,12 ± 0,09	1,16 ± 0,11	0,01*	1,01 ± 0,19	1,04 ± 0,18	0,02*	1,10 ± 0,18	1,11 ± 0,20	0,16	0,147
BMI, kg/m ²	31,8 ± 4,7	31,8 ± 5,1	0,16	30,9 ± 5,2	30,7 ± 5,2	0,008**	29,2 ± 6,6	29,0 ± 6,6	0,10	0,209
Stosunek talia:biodra	0,93 ± 0,06	0,91 ± 0,05	0,02*	0,93 ± 0,06	0,95 ± 0,04	0,24	0,91 ± 0,07	0,90 ± 0,06	0,13	0,924
Tkanka tłuszczowa, %	39,0 ± 8,3	36,8 ± 8,6	0,004**	37,3 ± 8,9	37,1 ± 9,1	0,81	35,2 ± 9,4	33,0 ± 10,2	0,004**	0,004 ^{††}
Glukoza, mg/dl	114,3 ± 29,3	101,5 ± 32,5	0,83	111,3 ± 26,5	118,5 ± 34,2	0,20	108,4 ± 29,3	109,7 ± 22,2	0,64	0,297
HbA _{1c} , %	6,39 ± 1,68	6,04 ± 0,89	0,03*	6,06 ± 0,68	6,07 ± 0,71	0,90	5,94 ± 0,53	5,99 ± 0,56	0,03*	0,958
SBP, mmHg	146,3 ± 21,2	139,7 ± 20,1	0,05	157,8 ± 23,3	153,5 ± 19,4	0,49	140,9 ± 21,9	140,6 ± 22,6	1,00	0,057
DBP, mmHg	76,8 ± 11,7	74,2 ± 8,7	0,03*	79,4 ± 11,6	80,0 ± 10,5	0,43	72,3 ± 10,4	72,4 ± 10,6	0,66	0,034 [†]
Tętno, bpm	71,3 ± 10,9	68,3 ± 8,6	0,19	69,4 ± 15,2	66,9 ± 15,6	0,04*	66,3 ± 10,2	70,1 ± 15,6	0,44	0,034 [†]
Cholesterol całkowity, mg/dl	193,2 ± 48,0	189,9 ± 45,6	0,77	180,5 ± 41,0	174,6 ± 39,8	0,25	184,8 ± 42,3	183,6 ± 36,3	0,66	0,425
LDL-cholesterol, mg/dl	125,7 ± 48,5	117,3 ± 46,0	0,37	116,1 ± 40,4	110,9 ± 40,8	0,38	112,9 ± 39,5	113,3 ± 33,9	0,51	0,782
HDL-cholesterol, mg/dl	57,94 ± 18,3	54,7 ± 18,0	0,09	52,3 ± 13,3	53,5 ± 12,4	0,47	61,2 ± 16,3	59,6 ± 16,3	0,58	0,297
Triacyloglicerole, mg/dl	133,3 ± 62,1	156,9 ± 122,3	0,96	166,7 ± 102,5	135,5 ± 66,6	0,009**	135,0 ± 66,4	133,9 ± 67,0	0,74	0,815
Homocysteina, μmol/l	15,1 ± 3,7	15,1 ± 4,1	0,60	16,3 ± 6,1	15,7 ± 5,5	0,30	13,4 ± 2,5	13,5 ± 3,1	0,63	0,233
CRP, mg/l	2,82 ± 2,78	2,56 ± 2,19	0,82	2,62 ± 1,77	4,09 ± 4,35	0,26	2,76 ± 2,43	2,99 ± 3,50	0,40	0,332
O ile nie jest podane inaczej, prezentowane dane to średnia ± odchylenie standardowe n – liczba badanych, ABI – indeks kostka-ramię, BMI – Body Mass Index, HbA_{1c} – hemoglobina glikowana, SBP – skurczowe ciśnienie tętnicze, DBP – rozkurczowe ciśnienie tętnicze, LDL-cholesterol – low density lipoprotein cholesterol, HDL-cholesterol – high density lipoprotein cholesterol, CRP – białko C reaktywne * – istotność statystyczna pomiędzy wartościami przed i po terapii, gdzie *p<0,05, **p<0,01 [†] – istotność statystyczna pomiędzy grupami badanymi po terapii, gdzie [†]p<0,05, ^{††}p<0,01										

Tabela 5. Wpływ terapii na jakość życia.

	Grupa O ₃ (n = 24)			Grupa CO ₂ (n = 24)			Grupa kontrolna (n = 23)			
Jakość życia badanych - kwestionariusz SF-36	przed terapią	po terapii	wartość p	przed terapią	po terapii	wartość p	przed terapią	po terapii	wartość p	wartość p
Indeks jakości życia, pkt	87,0 ± 35,0	72,0 ± 32,6	0,007**	68,5 ± 30,7	49,5 ± 23,2	0,001**	83,2 ± 22,2	67,3 ± 29,6	0,003**	0,041 [†]
Wymiar fizyczny, pkt	55,2 ± 23,3	45,2 ± 22,9	0,004**	39,7 ± 20,9	32,5 ± 16,5	0,051	83,2 ± 22,2	41,5 ± 21,8	0,013*	0,103
Wymiar mentalny, pkt	28,7 ± 14,8	24,5 ± 11,9	0,159	25,3 ± 13,7	15,0 ± 8,5	0,000**	29,9 ± 10,2	23,7 ± 11,9	0,012*	0,005 ^{††}
Funkcjonowanie fizyczne, pkt	25,9 ± 13,8	22,2 ± 11,5	0,034*	16,5 ± 12,3	16,2 ± 10,6	0,912	21,3 ± 10,4	19,8 ± 12,8	0,154	0,348
Ograniczenia z powodu zdrowia fizycznego, pkt	11,9 ± 9,3	8,9 ± 8,9	0,094	8,8 ± 8,8	3,8 ± 6,3	0,008**	13,3 ± 8,9	8,5 ± 8,7	0,069	0,054
Odczuwanie bólu, pkt	4,7 ± 2,1	4,6 ± 6,0	0,028*	3,8 ± 2,1	2,3 ± 1,8	0,003**	4,2 ± 2,2	3,3 ± 1,7	0,003**	0,028 [†]
Ogólne poczucie zdrowia, pkt	12,7 ± 3,4	10,6 ± 3,6	0,007*	11,7 ± 2,8	10,4 ± 3,0	0,005**	12,1 ± 3,0	10,4 ± 3,1	0,002**	0,756
Witalność, pkt	10,3 ± 4,3	9,6 ± 3,6	0,586	8,4 ± 3,8	6,7 ± 3,9	0,007**	9,6 ± 2,7	8,8 ± 3,5	0,273	0,071
Funkcjonowanie socjalne, pkt	2,7 ± 2,5	2,3 ± 2,1	0,827	2,2 ± 2,2	1,0 ± 1,4	0,025*	3,0 ± 2,2	1,9 ± 2,0	0,026*	0,151
Funkcjonowanie emocjonalne, pkt	5,6 ± 7,0	3,9 ± 6,0	0,353	6,0 ± 6,8	0,8 ± 1,9	0,003**	8,0 ± 6,2	4,7 ± 5,4	0,054	0,005 ^{††}
Zdrowie psychiczne, pkt	10,1 ± 5,4	9,4 ± 5,0	0,768	8,6 ± 3,5	6,4 ± 3,1	0,001**	9,3 ± 3,6	8,4 ± 4,1	0,054	0,065

O ile nie jest podane inaczej, prezentowane dane to średnia ± odchylenie standardowe

n – liczba badanych, SF-36 – kwestionariusz jakości życia

* – istotność statystyczna pomiędzy wartościami przed i po terapii, gdzie *p<0,05, **p<0,01

† – istotność statystyczna pomiędzy grupami badanymi po terapii, gdzie †p<0,05, ††p<0,01

Tabela 6. Wpływ terapii na sprawność fizyczną i podejmowaną aktywność fizyczną.

	Grupa O ₃ (n = 24)			Grupa CO ₂ (n = 24)			Grupa kontrolna (n = 23)			
	przed terapią	po terapii	wartość p	przed terapią	po terapii	wartość p	przed terapią	po terapii	wartość p	wartość p
Sprawność fizyczna, m	422,7 ± 113,9	482,1 ± 82,7	0,002**	440,7 ± 99,1	468,8 ± 115,4	0,001**	432,5 ± 103,2	432,8 ± 90,0	0,278	0,113
Całkowita aktywność fizyczna, MET-min/wk	4161,8 ± 3167,7	8510,8 ± 5142,6	0,000**	6525,3 ± 5170,0	7553,3 ± 6900,2	0,524	5240,7 ± 3911,4	8577,0 ± 5897,7	0,001**	0,328
Aktywność fizyczna związana z pracą zawodową, MET-min/wk	274,3 ± 1030,2	296,9 ± 115,6	1	55,7 ± 211,2	294,4 ± 1028,2	0,162	304,8 ± 866,2	939,4 ± 3113,1	0,480	0,895
Aktywność fizyczna związana z przemieszczaniem się, MET-min/wk	1340,9 ± 1078,7	2623,6 ± 2616,9	0,049*	2592,1 ± 2437,4	3012,1 ± 2816,0	0,574	1768,4 ± 1616,1	1980,1 ± 2042,0	0,857	0,130
Prace domowe, ogólne prace porządkowe, MET-min/wk	1740,0 ± 1750,2	4186,1 ± 4115,1	0,003**	2324,6 ± 2540,6	2986,3 ± 4290,6	0,596	2449,3 ± 3382,8	3827,8 ± 3586,8	0,012*	0,250
Rekreacja, sport i aktywność fizyczna w czasie wolnym, MET-min/wk	809,6 ± 1311,7	1185,1 ± 1583,1	0,341	1552,9 ± 1593,1	1800,6 ± 1500,8	0,476	718,1 ± 874,2	1829,7 ± 2646,4	0,012*	0,447
Chodzenie, MET-min/wk	1834,3 ± 1552,8	3179,5 ± 2287,3	0,007**	3599,1 ± 2810,7	4415,4 ± 3580,1	0,525	2430,5 ± 1740,0	3051,8 ± 2875,1	0,578	0,170
Umiarkowany wysiłek, MET-min/wk	2207,5 ± 2396,1	5091,3 ± 4494,4	0,002**	2534,6 ± 2931,2	3113,7 ± 4689,0	0,623	2737,2 ± 3602,2	4502,6 ± 3485,8	0,001**	0,036
Intensywny wysiłek, MET-min/wk	120,0 ± 587,9	240,0 ± 923,9	0,307	121,7 ± 491,7	316,7 ± 903,4	0,504	73,0 ± 302,2	974,8 ± 2239,3	0,071	0,372
Czas spędzony siedząc, min/ wk	2259,6 ± 680,5	1866,6 ± 979,0	0,014*	2078,8 ± 1064,0	1889,5 ± 772,0	0,313	1937,0 ± 1142,5	1944,4 ± 1392,1	0,960	0,639
IPAQ – niska aktywność	9	3	0,004**	4	3	0,670	7	2	0,002**	0,920
IPAQ – umiarkowana	13	15		16	17		15	15		
IPAQ – wysoka aktywność	2	6		4	4		1	6		
O ile nie jest podane inaczej, prezentowane dane to średnia ± odchylenie standardowe n – liczba badanych, IPAQ – Międzynarodowy Kwestionariusz Aktywności Fizycznej * – istotność statystyczna pomiędzy wartościami przed i po terapii, gdzie *p<0,05, **p<0,01 † – istotność statystyczna pomiędzy grupami badanymi po terapii, gdzie †p<0,05, ††p<0,01										

4. Zależności pomiędzy ABI a wybranymi wskaźnikami ryzyka PAD

W niniejszym badaniu przeanalizowano występowanie zależności pomiędzy współczynnikiem kostka-ramię a ciśnieniem tętniczym krwi oraz wskaźnikami biochemicznymi krwi i analizy składu ciała (tabela 7). Wykazano słabą, ujemną korelację pomiędzy poziomem glikemii na czczo a ABI ($r=-0,12$). Istotność statystyczna została potwierdzona, aczkolwiek była ona graniczna ($p=0,046$). Korelację tę ukazano na rycinie 3. Kolejnym znaczącym parametrem okazało się stężenie HDL-cholesterolu (rycina 4). Wraz ze wzrostem stężenia HDL-cholesterolu we krwi ABI było wyższe ($r=0,21$, $p=0,033$). Według klasyfikacji Guilford'a korelacja ta jest o słabej sile. Z kolei skurczowe jak i rozkurczowe wartości ciśnienia tętniczego krwi wykazuje słabą, lecz ujemną korelację z ABI (odpowiedni $r=-0,22$, $p=0,003$ i $r=-0,20$, $p=0,016$) (rycina 5 i 6).

Tabela 7. Zależności pomiędzy wskaźnikiem kostka-ramię a wybranymi parametrami.

	Współczynnik korelacji liniowej Pearsona (r)	Istotność statystyczna (wartość p)
Glikemia na czczo	-0,12	0,046*
HbA _{1c}	0,00	0,97
Cholesterol całkowity	0,20	0,11
LDL-cholesterol	0,11	0,42
HDL-cholesterol	0,21	0,033*
Triacyloglicerole	-0,04	0,41
Homocysteina	-0,02	0,78
Białko C reaktywne	-0,13	0,26
Skurczowe ciśnienie tętnicze	-0,22	0,003*
Rozkurczowe ciśnienie tętnicze	-0,20	0,016*
Tętno	0,01	0,78
Body Mass Index	-0,09	0,25
Stosunek talia:biodra	-0,21	0,23
Procentowa zawartość tkanki tłuszczowej w organizmie	0,12	0,96
HbA _{1c} – hemoglobina glikowana, LDL-cholesterol – low density lipoprotein cholesterol, HDL-cholesterol – high density lipoprotein cholesterol * – istotność statystyczna korelacji, gdzie * $p<0,05$, ** $p<0,01$		

Następnie zbadane zostały wzajemne zależności pomiędzy wartościami wskaźnika kostka-ramię a wynikami osiąganymi w ocenie jakości życia badanych (tabela 8). Analizie zostały poddane zarówno dwa wymiary jakości życia (wymiar fizyczny oraz mentalny), jak i wszystkie składowe jakości życia, jakie kwestionariusz SF-36 wyodrębnia. Indeks kostka-ramię wykazał negatywny współczynnik korelacji dla większości wyznaczników jakości życia. Warto przypomnieć, że w kwestionariuszu SF-36 wyższa wartość punktowa oznacza niższy poziom jakości życia. Niestety żaden z wyżej omawianych współczynników korelacji nie osiągnął poziomu istotności statystycznej.

Tabela 8. Wpływ wskaźnika kostka-ramię na jakość życia badanych.

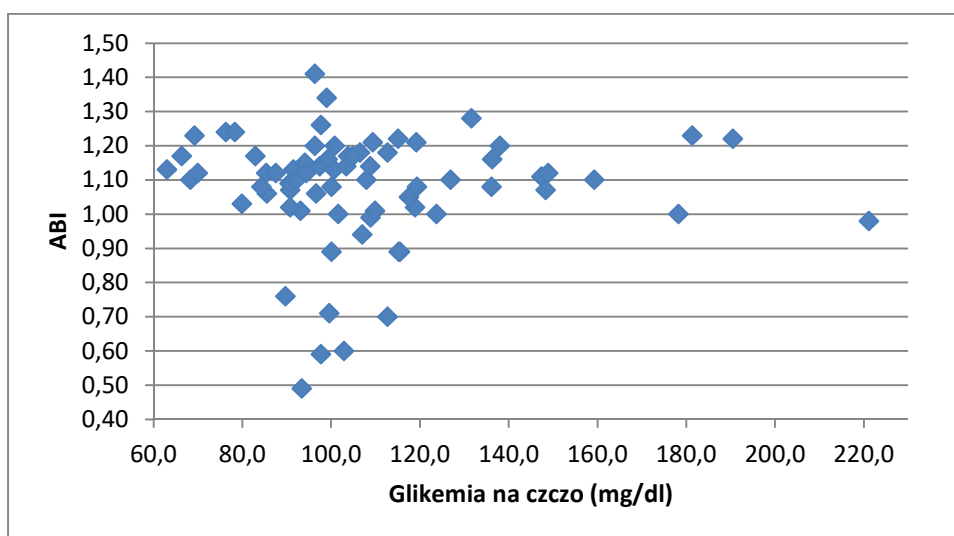
	Współczynnik korelacji liniowej Pearsona (r)	Istotność statystyczna (wartość p)
Indeks jakości życia (SF-36)	0,02	0,58
Wymiar fizyczny jakości życia (SF-36)	0,05	0,31
Wymiar mentalny jakości życia (SF-36)	-0,04	0,95
Funkcjonowanie fizyczne (SF-36)	-0,04	0,67
Ograniczenia z powodu zdrowia fizycznego (SF-36)	0,16	0,15
Odczuwanie bólu (SF-36)	0,11	0,40
Ogólne poczucie zdrowia (SF-36)	-0,06	0,84
Witalność (SF-36)	-0,04	0,54
Funkcjonowanie socjalne (SF-36)	-0,12	0,55
Funkcjonowanie emocjonalne (SF-36)	0,004	0,44
Zdrowie psychiczne (SF-36)	-0,03	0,81
SF-36 – kwestionariusz jakości życia * – istotność statystyczna korelacji, gdzie * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$		

Wpływ aktywności fizycznej oraz sprawności fizycznej na ABI również został zweryfikowany. W tabeli 9 zaprezentowano analizę wszystkich wymiarów aktywności fizycznej oraz wszystkich rodzajów wysiłku fizycznego, jakie wyodrębnia kwestionariusz IPAQ. Całkowita aktywność fizyczna oraz umiarkowany wysiłek fizyczny wykazały pozytywną korelację z ABI (odpowiednio $r=0,21$ i $r=0,13$). Obie te zależności charakteryzują się słabą siłą, a zaprezentowane zostały na rycinach 7 i 8. Ponadto czas spędzony na siedząco był negatywnie skorelowany z indeksem kostka-ramię (rycina 9). Korelacja ta była o słabej

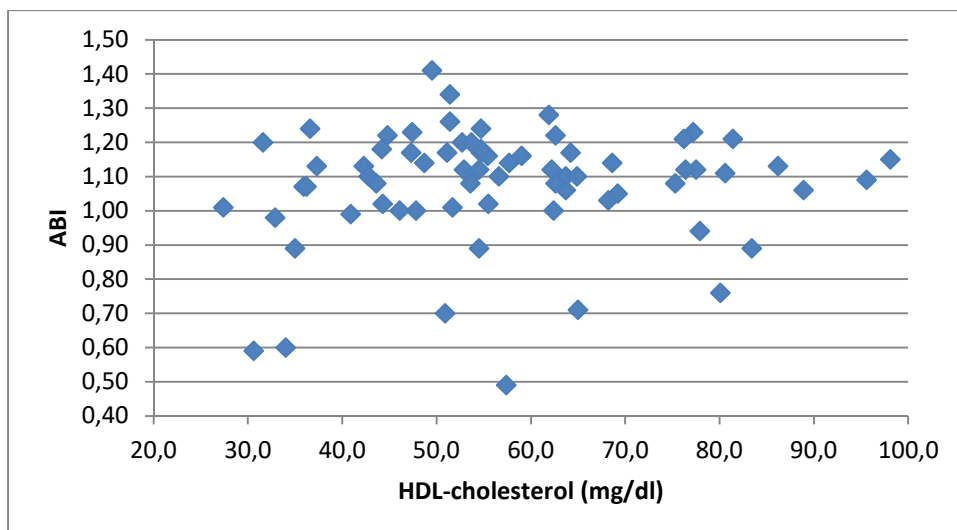
sile według klasyfikacji Guilford'a oraz osiągnęła poziom istotności ($r=-0,25$, $p=0,03$). Natomiast sprawność fizyczna zmierzona za pomocą 6-minutowego testu marszu wykazała pozytywną korelację (rycina 10). Korelacja ta była o przeciętnej sile, jak również osiągnęła poziom istotności statystycznej ($r=0,36$, $p=0,009$).

Tabela 9. Wpływ aktywności fizycznej i sprawności fizycznej na wskaźnik kostka-ramię.

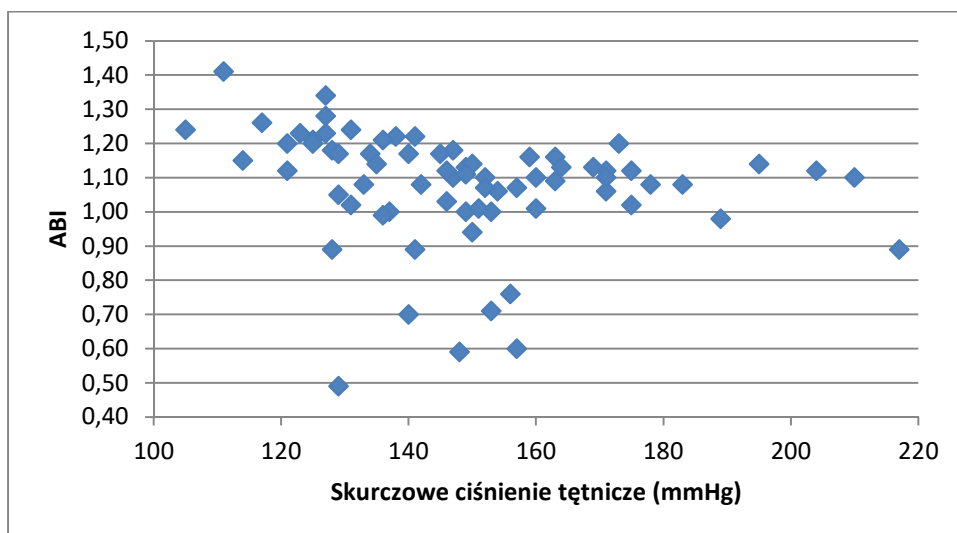
	Współczynnik korelacji liniowej Pearsona (r)	Istotność statystyczna (wartość p)
Całkowita aktywność fizyczna (IPAQ)	0,21	0,004**
Aktywność fizyczna związana z pracą zawodową (IPAQ)	0,14	0,48
Aktywność fizyczna związana z przemieszczaniem się (IPAQ)	0,13	0,14
Prace domowe, ogólne prace porządkowe (IPAQ)	0,08	0,28
Rekreacja, sport i aktywność fizyczna w czasie wolnym (IPAQ)	0,16	0,30
Chodzenie (IPAQ)	0,16	0,20
Umiarkowany wysiłek (IPAQ)	0,13	0,04*
Intensywny wysiłek (IPAQ)	0,14	0,10
Czas spędzony siedząc (IPAQ)	-0,25	0,03*
Sprawność fizyczna (6MWT)	0,36	0,009**
IPAQ – Międzynarodowy Kwestionariusz Aktywności Fizycznej, 6MWT – test 6 minutowego marszu * – istotność statystyczna korelacji, gdzie $*p<0,05$, $**p<0,01$		



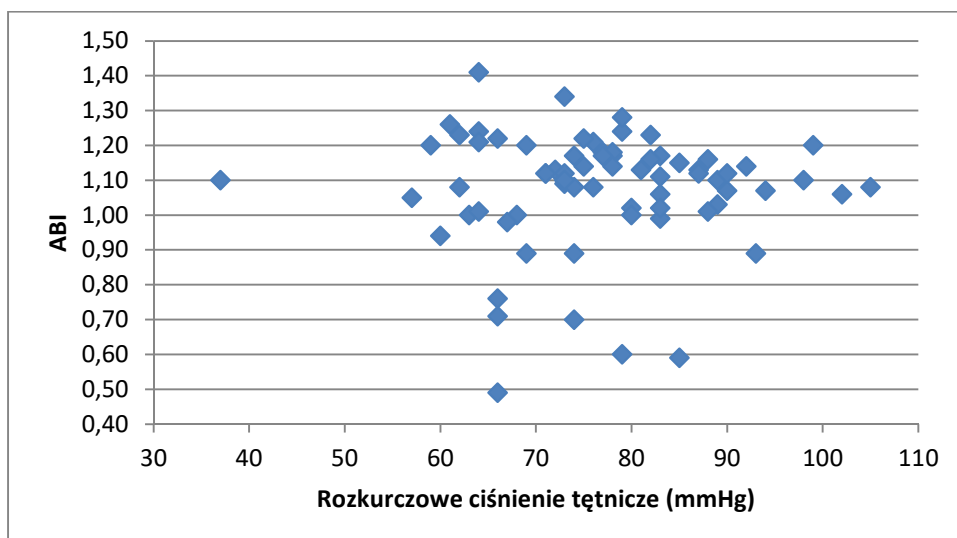
Rycina 3. Zależność pomiędzy wartościami glikemii na czczo a wskaźnikiem kostka-ramię.



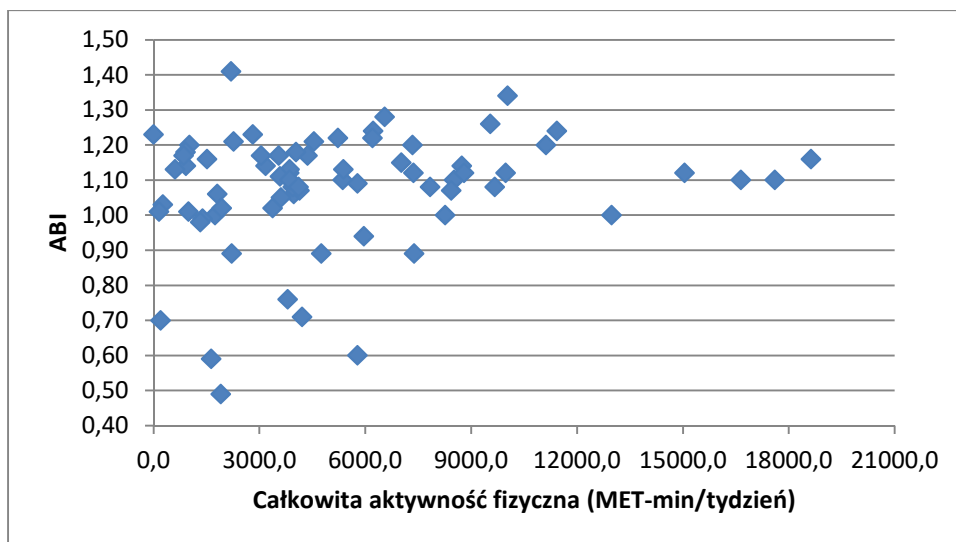
Rycina 4. Zależność pomiędzy wartościami stężenia HDL-cholesterolu a wskaźnikiem kostka-ramię.



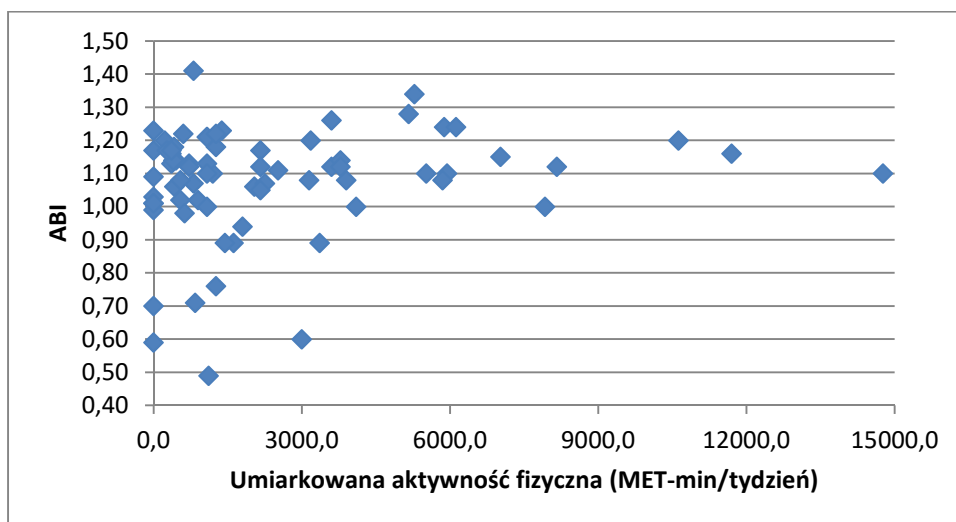
Rycina 5. Zależność pomiędzy wartościami skurczowego ciśnienia tętniczego a wskaźnikiem kostka-ramię.



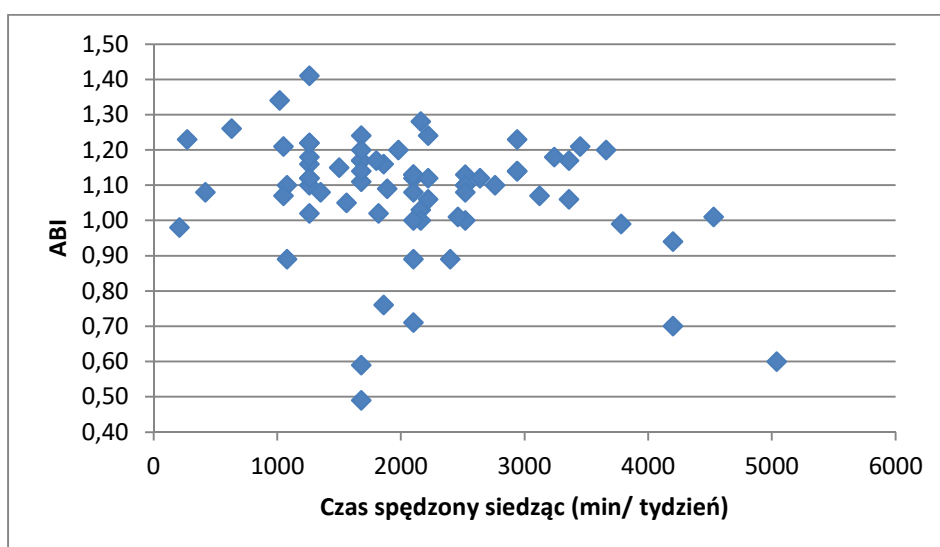
Rycina 6. Zależność pomiędzy wartościami rozkurczowego ciśnienia tętniczego a wskaźnikiem kostka-ramię.



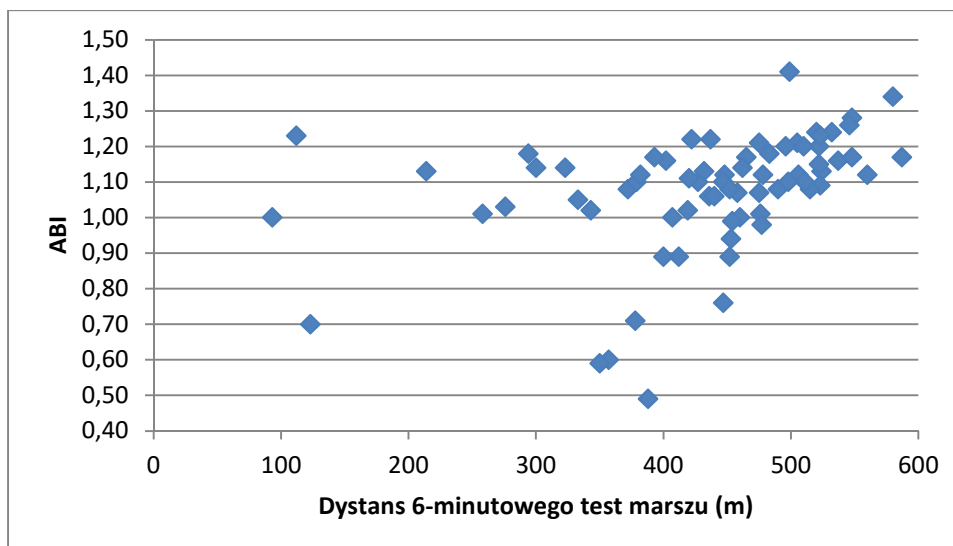
Rycina 7. Zależność pomiędzy aktywnością fizyczną a wskaźnikiem kostka-ramię.



Rycina 8. Zależność pomiędzy umiarkowaną aktywnością fizyczną a wskaźnikiem kostka-ramię.



Rycina 9. Zależność pomiędzy ilością czasu spędzonego siedząc a wskaźnikiem kostka-ramię.



Rycina 10. Zależność pomiędzy sprawnością fizyczną na wskaźniku kostka-ramię.

Dodatkowo wykonana została analiza wpływu poziomu aktywności fizycznej na wartość ABI (tabela 10). Przed terapią, w grupie z umiarkowaną aktywnością fizyczną, średnia wartość wskaźnika ABI wynosiła 1,088, a w grupie z wysoką aktywnością fizyczną 1,081. Po terapii w grupie z umiarkowaną aktywnością średnia wartość ABI wzrosła do 1,106, a w grupie z wysoką aktywnością do 1,167. Odchylenia standardowe były małe. Jednak nie osiągnięto progu istotności statystycznej dla korelacji pomiędzy poziomem aktywności fizycznej a ABI, zarówno przed terapią jak i po terapii.

Pośród wszystkich rodzajów produktów spożywczych zawartych w ankiecie FFQ, osiem wykazało zależność z indeksem kostka-ramię. Pozytywną słabą korelację z ABI wykazała częstość spożycia awokado ($r=0,24$), kiwi i cytrusów ($r=0,17$) oraz ziaren dyni, sezamu, słonecznika i zarodków pszennych ($r=0,25$). Najsilniejszą, bo przeciętną pozytywną korelację zaobserwowano pomiędzy spożyciem oliwek a ABI ($r=0,45$). Zanotowano również negatywne korelacje z trzema rodzajami produktów spożywczych, a mianowicie z wędlinami ($r= -0,03$), wyrobami wędliniarskimi ($r= -0,17$) oraz mięsem czerwonym ($r= -0,17$). Pozostałe produkty żywieniowe z kwestionariusza FFQ nie zostały przedstawione w tabeli 11, gdyż nie wykazały statystycznie istotnej zależności z ABI.

Tabela 10. Wpływ poziomu aktywności fizycznej na wskaźnik kostka-ramię.

ABI	Przed terapią			Po terapii		
	Niska aktywność	Umiarkowana aktywność	Wysoka aktywność	Niska aktywność	Umiarkowana aktywność	Wysoka aktywność
Średnia	1,052	1,088	1,081	0,970	1,106	1,167
Odchylenie standardowe	0,196	0,038	0,168	0,250	0,160	0,111
Mediana	1,075	1,120	1,090	1,035	1,125	1,170
Max	1,410	1,340	1,120	1,230	1,390	1,240
Min	0,490	0,590	1,000	0,490	0,590	0,890
Wartość p	0,335			0,057		

Tabela 11. Wpływ wybranych spożycia wybranych produktów na wskaźnik kostka-ramię.

	Współczynnik korelacji Kendalla (tau)	Istotność statystyczna (wartość p)
Awokado	0,24	0,039*
Oliwki	0,45	0,027*
Kiwi i cytrusy, np. pomarańcze, mandarynki, grejpfruty, cytryny	0,17	0,011*
Orzechy naturalne, np. ziemne, laskowe, włoskie, migdały, pistacje, nerkowce, kasztany	0,32	0,013*
Ziarna dyni, sezamu, słonecznika, zarodki pszenne	0,25	0,035*
Wędliny, np. szynka, polędwica	-0,03	0,047*
Wyroby wędliniarskie, np. kaszanka, salceson, pasztety	-0,17	0,017*
Mięso czerwone, np. mięso wieprzowe, wołowe, cielęce	-0,17	0,008**
FFQ –food frequency questionnaire * – istotność statystyczna korelacji, gdzie *p<0,05, **p<0,01		

V. Omówienie wyników i dyskusja

1. Ocena grupy badanej w relacji do ogólnej populacji pacjentów z PAD

Średni wiek populacji badanych wyniósł 71,1 lat. Trzeba zauważyć, że wiek był jednym z podstawowych kryteriów włączenia i wszyscy uczestnicy z założenia mieli powyżej 65 lat. Niemniej jednak wiek uczestników jest dobrym odzwierciedleniem populacji z PAD. Globalnie PAD występuje pośród 5,56% populacji powyżej 25 roku życia. Natomiast ponad 2/3 tej grupy to osoby powyżej 65 roku życia (61,61%). Dla wieku 65 – 69 choroba tętnic obwodowych występuje wśród 9,16% (95% CI 6,92–12,08) ludzi na świecie. Natomiast procent występowania PAD przekracza 10% właśnie dla wieku powyżej 70 roku życia (10,85%; 95% CI 8,39-14,01 dla wieku 70 – 74 lat), czyli dla grupy, do której zaliczyć można populację naszego badania. Osoby w wieku 70–74 lata stanowią 7% wszystkich pacjentów z PAD. Oszacowano, że w 2015 roku globalnie na chorobę tętnic obwodowych cierpi 236,62 mln osób. Spośród nich 16,7 mln należało do grupy wiekowej 70–74 lat (Song i wsp., 2020).

W badaniach własnych płeć żeńska liczbowo zdecydowanie przeważała nad płcią męską, gdyż stosunek mężczyzn do kobiet wynosił 22:49. Według danych pochodzących z badań epidemiologicznych, do wieku około 60–70 lat, płeć męska jest bardziej zagrożona chorobami miażdżycowymi, takimi jak choroba wieńcowa serca czy udar mózgu, w porównaniu z płcią żeńską. Jedynie nieliczne badania wykazują, że częstość występowania PAD jest podobna wśród mężczyzn i kobiet w każdym wieku (McDermott i wsp., 2005). Przykładowo analiza wizyt lekarskich pacjentów z PAD w latach 2005–2012 w Stanach Zjednoczonych wykazała, że kobiety stanowiły 51,8% chorych (Berger i Ladapo, 2017). Ta opisywana, podobna częstość występowania PAD wśród mężczyzn i kobiet może częściowo odzwierciedlać właściwość potencjalnie niższego ciśnienia w okolicy stawu skokowego u osób o niższej wysokości ciała. Niektórzy eksperci wręcz zaproponowali próg ABI specyficzny dla płci podczas diagnozowania PAD (Kapoor i wsp., 2018). Jednak główne wytyczne kliniczne nie przyjęły progów ABI specyficznych dla płci i konsekwentnie zalecają $ABI \leq 0,9$ do wykrywania PAD niezależnie od płci (Aboyans i wsp., 2018). Warto zauważyć, że w badaniach obejmujących około 1 800 pozornie zdrowych osób dorosłych oszacowano, że potencjalny wpływ płci żeńskiej na ABI jest niewielki (tj. około -0,02) po uwzględnieniu innych głównych czynników demograficznych i klinicznych (Aboyans i wsp., 2007). Niemniej jednak liczba kobiet i mężczyzn nie była zbliżona do siebie w badaniach własnych. Pod względem płci populacja tego badania nie jest więc wiernym odzwierciedleniem ogólnej populacji pacjentów z PAD. Z drugiej strony nasza populacja nie jest jedynym badaniem ze znaczącą przewagą kobiet. W badaniu przekrojowym przeprowadzonym w Peru

scharakteryzowano pacjentów pod względem PAD, gdzie 28,8% stanowili mężczyźni, a 71,2% kobiety (Chávez-Sosa i wsp., 2021). Kolejnym przykładem jest populacja 8 330 pacjentów z PAD ze Stanów Zjednoczonych, gdzie 57,9% stanowiły kobiety (Kou i wsp., 2021).

Występujący w badaniach własnych stosunek mężczyzn do kobiet można wytłumaczyć przez fakt, że kobiety chętniej niż mężczyźni uczestniczą w proponowanych im badaniach. W badaniach naukowych związanych ze zdrowiem podaje się większą niechęć do udziału w badaniach wśród mężczyzn niż wśród kobiet (32,9% vs 22,9%; $p < 0,001$) (Markanday i wsp., 2013). Najpopularniejszymi podawanymi powodami braku uczestnictwa mężczyzn to: problemy personalne, brak zainteresowania, jak również ograniczenia czasowe i niezdolność do radzenia sobie z wymogami badań. Inne doniesienia naukowe podają podobne bariery, które wymieniają mężczyźni, jak na przykład obojętność na przedmiot badania, wymagający styl życia czy zbyt duże poświęcenie/wymagania uczestniczenia w próbie klinicznej (Galea i Tracy, 2007). W innym przeglądzie systematycznym zidentyfikowano najpopularniejsze powody braku uczestnictwa w badaniach mężczyzn jako ogólną nieufność wobec szpitali i placówek medycznych oraz strach przed nieznanym (Dunn i wsp., 2004).

Średnia wartość stosunku masy ciała do wysokości ciała uczestników wahała się pomiędzy nadwagą a otyłością, w zależności od konkretnej grupy badanej (średnia BMI wszystkich uczestników to $30,6 \pm 5,5 \text{ kg/m}^2$). WHO definiuje otyłość jako wskaźnik masy ciała większy lub równy 30 kg/m^2 (World Health Organisation, 2021a). Zgodnie z tym kryterium i według najnowszych danych, w krajach Unii Europejskiej otyłość dotyka 10–30% dorosłych, a nadwaga 30–70% (World Health Organisation, 2021b). Odsetek osób otyłych wzrasta w grupie wiekowej powyżej 60 lat i w 2016 roku osiągnął 41% (Hales i wsp., 2018). W naszym badaniu jedna czwarta badanych miała nadwagę (23,9%), a ponad połowa (59,2%) miała zdiagnozowaną otyłość, a więc 83,1% osób miało BMI poza górną granicą normy. Obserwacja wśród 1 045 Serbów z chorobą wieńcową lub PAD również wykazała, że ponad połowa pacjentów (65,45%) ma nadwagę lub otyłość (Maksimovic i wsp., 2020). Pośród badań epidemiologicznych najmniejszy odsetek osób z nadwagą czy otyłością można zauważyć w Południowej Afryce, gdzie 50,6% pacjentów z przewlekłym, zagrażającym kończynom niedokrwieniem miało BMI powyżej 25 kg/m^2 (Wu i wsp., 2021). Wysoką częstotliwość występowania nadwagi i otyłości można zauważyć także pośród pacjentów z PAD z Kosowa, gdzie średnia wartość BMI mieściła się w górnych granicach nadwagi ($28,17 \pm 3,32 \text{ kg/m}^2$) (Rashiti i wsp., 2017). Takim samym średnim poziomem BMI ($28,2$

kg/m²) charakteryzowała się populacja Peruwianczyków z PAD (Chávez-Sosa i wsp., 2021). Podobne wartości zostały zaobserwowane w Stanach Zjednoczonych, gdzie pacjenci z PAD mieli średnio 28,6±5,6 kg/m² (Kou i wsp., 2021). Wyniki te są również zgodne z populacją pacjentów z PAD z Nigerii, gdzie średnia BMI wyniosła 27,8±0,22 kg/m² (Umueri i Obasohan, 2018).

Chociaż BMI jest odpowiednim narzędziem do obserwowania trendów w rozpowszechnieniu się otyłości na poziomie populacji, wskaźnik ten nie daje żadnych informacji o zawartości tkanki tłuszczowej ani jej rozmieszczenia. Istnieją publikacje naukowe, które wskazują, że w porównaniu z BMI, procent tkanki tłuszczowej (%BF, ang. percent body fat) może mieć większą wartość kliniczną przy rozpatrywaniu otyłości w kontekście chorób sercowo-naczyniowych. W badaniu obejmującym pacjentów ze szpitala w Korei Południowej wykazano, że ryzyko sercowo-naczyniowe było znacząco wyższe u dorosłych z normatywnymi wartościami BMI i wysokim procentem tkanki tłuszczowej w porównaniu z osobami o prawidłowej masie ciała i niskim %BF (Jo i Mainous, 2018). Co ważniejsze, w skorygowanym modelu uwzględniającym wiek, płeć, rasę/pochodzenie etniczne, cukrzycę, intensywne ćwiczenia i ćwiczenia wzmacniające mięśnie, ryzyko sercowo-naczyniowe było większe w populacji z prawidłową masą ciała i wysokim procentem tkanki tłuszczowej (OR 1,55; 95% CI 1,01-2,38) w porównaniu z osobami o BMI i %BF w normie. Ze względu na powyższe doniesienia, w projekcie badań własnych zostało uwzględnione wykonanie analizy składu ciała. W całej grupie badanej średnia zawartość tkanki tłuszczowej wyniosła 29,43±6,19% dla mężczyzn i 40,21±7,78% dla kobiet. Punkty odcięcia specyficzne dla płci i wieku dla %BF dla nadwagi wynoszą 23,6% dla mężczyzn i 37,0% dla kobiet w grupie wiekowej 70-79 lat (Pasco i wsp., 2014). Natomiast dla otyłości są to odpowiednio 30,5% i 44,4%. Można więc zauważyć, że populacja naszego badania (mężczyźni jak i kobiety) charakteryzowała się poziomem tkanki tłuszczowej oznaczającym nadwagę, z czego mężczyźni znajdowali się na granicy pomiędzy otyłością a nadwagą. W badaniu populacji pacjentów z PAD z Peru wykazano średni poziom procentowy tkanki tłuszczowej na poziomie 34,2±7,0% u mężczyzn i 32,9±6,2% u kobiet, a więc występowała nadwaga u mężczyzn i wartości normatywne u kobiet (Chávez-Sosa i wsp., 2021). Podobnie do wyników badań własnych, proporcje składu ciała u mężczyzn były w większym stopniu zaburzone niż u kobiet. Nadmiar tkanki tłuszczowej i jej trzewna dystrybucja to czynniki skorelowane z zaburzeniami metabolicznymi, prowadzącymi do chorób sercowo-naczyniowych (Silveira i wsp., 2021).

Kolejnymi ważnymi wskaźnikami antropometrycznymi w kontekście zdrowia i otyłości brzusznej są: obwód talii (WC, ang. waist circumference) i stosunek obwodu talii do bioder. Te wskaźniki również wydają się być bardziej diagnostycznie wartościowe niż BMI. Można to zaobserwować w badaniu z Nigerii, w którym pomiary otyłości centralnej i trzewnej były bardziej związane z rozwojem PAD niż BMI, który jest miarą otyłości ogólnej (Umuerrri i Obasohan, 2018). Podobnie w badaniu przeprowadzonym w Kosowie wykazano istotną dodatnią korelację ($p=0,0001$) między stosunkiem talii do bioder a występowaniem miażdżycy w tętnicach, a jednocześnie nie odnotowano takiej zależności dla BMI (Rashiti i wsp., 2017). Podobne wyniki uzyskano w dużej grupie pacjentów (3 128) z Chin (He i wsp., 2012). Występowanie podwyższonego obwodu talii zwiększało ryzyko wystąpienia PAD (OR 1,48; 95% CI 1,09–2,00; $p=0,012$), podczas gdy BMI powyżej 25 kg/m^2 wiązało się ze statystycznie nieistotnie większym ryzykiem (OR 1,37; 95% CI 0,99–1,88; $p=0,055$). Jak pokazują dane z badania przeprowadzonego w Peru, obwód talii, jako wskaźnik otyłości centralnej, był silnie związany ze wzrostem częstości występowania PAD (Chávez-Sosa i wsp., 2021). Mówiąc o konkretnych wartościach, obwód talii powyżej 102 cm u mężczyzn i 88 cm u kobiet wiąże się ze znacznie zwiększonym ryzykiem cukrzycy typu II, dyslipidemii, nadciśnienia tętniczego i chorób sercowo-naczyniowych u pacjentów z BMI wskazującym na nadwagę lub otyłość (NHLBI, 2013). Niemniej jednak zalecane punkty odcięcia są jeszcze niższe i wynoszą 94 cm dla mężczyzn i 80 cm dla kobiet (Alberti i wsp., 2009). Obwód talii dla obu płci ($105,3 \pm 10,4$ cm dla mężczyzn i $96,7 \pm 12,2$ cm dla kobiet) wskazuje na klasyfikację otyłości brzusznej wśród populacji naszego badania. Wniosek ten jest również poparty podwyższonym stosunkiem obwodu talii do bioder. Miara ta pojawia się jako jeden z elementów klasyfikacji WHO w definicji zespołu metabolicznego. W tym ujęciu, otyłość brzuszną definiuje się jako stosunek obwodu talii do bioder powyżej 0,90 dla mężczyzn i powyżej 0,85 dla kobiet (Nishida i wsp., 2010). Średnia wartość WHR w naszej grupie badanych wynosiła $0,98 \pm 0,04$ dla mężczyzn i $0,90 \pm 0,05$ dla kobiet. Obwód talii, jak i stosunek talii do bioder w innych populacjach pacjentów z PAD również przekracza zalecane wartości. Przykładowo, wśród 184 pacjentów z PAD z Ameryki Południowej WC średnio wynosił $88,8 \pm 8,9$ cm u mężczyzn i $89,3 \pm 10,4$ cm u kobiet, natomiast WHR $0,88 \pm 0,07$ u mężczyzn i $0,90 \pm 0,07$ u kobiet (Chávez-Sosa i wsp., 2021). W tej przykładowej populacji widać, że kobiety zdecydowanie mają zbyt duży obwód talii jak i stosunek talia:biodra, natomiast mężczyźni pozostają w normie. Warto zauważyć, że średnia wartość WHR u kobiet jest porównywalna dla populacji naszego badania oraz badanych z Peru. Kolejnym przykładem obserwacji, że pośród pacjentów z PAD wartości obwodu talii i stosunku talii do

bioder przekraczają normy jest badanie z Nigerii, gdzie średnia wartość WC wynosiła $96,8 \pm 0,52$ cm, a WHR $0,94 \pm 0,003$ (Umuerrri i Obasohan, 2018). Wyższa wartość WHR (0,96) została zaobserwowana u pacjentów z przewlekłym zagrażającym kończynom niedokrwieniu z Południowej Afryki (Wu i wsp., 2021). Bardzo podobną charakterystykę reprezentuje populacja pacjentów z PAD z Kosowa, gdzie średnia WC wynosiła $96,97 \pm 8,63$ cm, a WHR $0,93 \pm 0,06$ (Rashiti i wsp., 2017). Warto zauważyć, że wiele razy w doniesieniach naukowych podawano średnie wartości dla obwodu talii i stosunku talii do bioder dla całej grupy badanej, niezależnie od płci. Biorąc pod uwagę oddzielne normy dla kobiet i mężczyzn, podawanie uśrednionych danych dla obu płci wydaje się znacznie mniej wartościową informacją. Interpretacja takich wyników była więc utrudniona. Niemniej jednak w badaniu wśród ponad 350 tysięcy pacjentów z Europy potwierdzono silną zależność pomiędzy obwodem talii i stosunkiem talii do bioder a ryzykiem zgonu (Pischon i wsp., 2008). Względne ryzyko wśród mężczyzn i kobiet w najwyższym kwartylu WC wyniosło odpowiednio 2,05 (95% CI 1,80-2,33) i 1,78 (95% CI 1,56-2,04), a w najwyższym kwartylu WHR względne ryzyko wyniosło odpowiednio 1,68 (95% CI 1,53-1,84) i 1,51 (95% CI 1,37-1,66). Inne doniesienia naukowe także potwierdzają, że WHR jest lepszym niż BMI wskaźnikiem klinicznym w przewidywaniu śmiertelności ogólnej i sercowo-naczyniowej (Welborn i Dhaliwal, 2007, Srikanthan i wsp., 2009). Wydaje się więc faktem niezaprzeczalnym, że otyłość ogólna, a szczególnie brzuszna związana jest z ryzykiem zgonu.

W badanej przez nas populacji odsetek czynnych palaczy okazał się niewielki (12,7%). Deklarowaną przez te osoby dzienną liczbą wypalanych papierosów było $14,4 \pm 10,6$ papierosów. Spośród pozostałych uczestników badania, 43,7% zadeklarowało się jako byli palacze, z czego 75% osób rzuciło palenie ponad 5 lat temu. Zbliżone do powyższych proporcje palaczy dokumentowane są w literaturze naukowej. Przykładowo, w badaniu kohortowym w Stanach Zjednoczonych zaobserwowano 13,5% czynnych palaczy oraz 43,6% byłych palaczy (Kou i wsp., 2021). W innym badaniu ze Stanów Zjednoczonych, oceniającym opiekę medyczną pacjentów z PAD z lat 2005-12, przedstawiono następujące dane: 20% czynnych palaczy, 51% byłych palaczy (Berger i Ladapo, 2017). Podobne dane statystyczne pojawiły się w populacji pacjentów z PAD z Australii, gdzie wśród ponad 400 osób, 23,8% okazało się być palaczem, a 49,8% byłym palaczem (Golledge i wsp., 2021). Z drugiej strony bardzo wysokie występowanie (86%) palaczy w populacji pacjentów z przewlekłym zagrażającym kończynom niedokrwieniu zaobserwowano w Południowej Afryce (Wu i wsp., 2021). Z kolei w badaniu przekrojowym z Chin wykazano, że czynnych

palaczy było jedynie 7,7% wśród pacjentów z PAD z współwystępującym nadciśnieniem tętniczym (He i wsp., 2012).

W opisywanych badaniach własnych prawie połowa (47,9%) uczestników miała cukrzycę II typu. Jest to znacznie więcej niż procent chorych odnotowany w badaniu The Atherosclerosis Risk in Communities (28,3%) (Ding i wsp., 2018). W naszym badaniu średnie stężenie glukozy na czczo ($108,3 \pm 43,2$ mg/dl) przekraczało normę. Niemniej jednak był to poziom niższy niż pośród generalnej populacji pacjentów z PAD. W badaniu z udziałem ponad 11,5 tysiąca pacjentów z PAD wykazano średni poziom glikemii na czczo o wartości $144 \pm 73,8$ mg/dl (Ding i wsp., 2018). Średni wynik dla stężenia hemoglobiny glikowanej ($6,12 \pm 1,08\%$) w naszym badaniu także przekraczał wartości uznawane za normatywne. W badaniu kohortowym przeprowadzonym w Australii wykazano podobny, choć nieco wyższy średni poziom hemoglobiny glikowanej (6,9%) u pacjentów z chorobą tętnic obwodowych (Golledge i wsp., 2021). Natomiast znacznie wyższe poziomy hemoglobiny glikowanej zanotowano w wieloośrodkowym badaniu z Chin, gdzie wartość HbA_{1c} wynosiła średnio 9,5% (7,7–11,3) w grupie pacjentów z umiarkowaną chorobą tętnic obwodowych oraz 9,0% (7,3–11,4) w grupie zaawansowanej postaci PAD (Hong i wsp., 2021). W porównaniu z naszymi wynikami, wyższy wynik procentowy hemoglobiny glikowanej ($8,7 \pm 2,1\%$) został również odnotowany w badaniu przekrojowym w Jordani (Shatnawi i wsp., 2021). Należy jednak zauważyć, że we opisywanym badaniu wszyscy uczestnicy mieli zarówno chorobę tętnic obwodowych, jak i cukrzycę, co w pełni wyjaśnia wyższy poziom hemoglobiny glikowanej. Niemniej jednak wyższy poziom HbA_{1c} pośród populacji pacjentów z chorobą tętnic obwodowych potwierdza duże badanie The Atherosclerosis Risk in Communities, w którym to zanotowano wartość dla hemoglobiny glikowanej na poziomie $6,8 \pm 2,1\%$ (Ding i wsp., 2018). Wykazano również zależność pomiędzy stopniem zaawansowania choroby a wartością HbA_{1c} , gdyż pacjenci z PAD bez krytycznego niedokrwienia kończyn mieli $6,2 \pm 1,5\%$ hemoglobiny glikowanej, podczas gdy pacjenci z PAD z CLI $7,9 \pm 2,7\%$.

Około 35–55% pacjentów z PAD cierpi na nadciśnienie tętnicze (Clement i wsp., 2004). W badaniu włoskiej populacji wykazano, że w chwili diagnozy choroby tętnic obwodowych 35% osób ma nadciśnienie (Violi i wsp., 1996). Szeroki zakres występowania nadciśnienia tętniczego wśród pacjentów z PAD potwierdza również badanie ze Stanów Zjednoczonych, gdzie osoby z nadciśnieniem stanowiły 50,5% (Kou i wsp., 2021). W porównaniu z powyższymi statystykami w badaniach własnych nadciśnienie występowało częściej (63,9%). Porównywalnie w badaniu w Jordani nadciśnienie występowało w 61,1%

pośród pacjentów z PAD (Shatnawi i wsp., 2021). Z kolei jeszcze częstsze występowanie nadciśnienia pośród pacjentów z PAD odnotowano w wieloośrodkowym badaniu z Chin (52,8% dla umiarkowanej postaci PAD i 78,7% dla zaawansowanej postaci) (Hong i wsp., 2021). Średnia wartość skurczowego ciśnienia tętniczego krwi w grupie pacjentów z umiarkowaną postacią PAD wynosiła 141 ± 22 mmHg, a w grupie z zaawansowaną PAD 146 ± 21 mmHg, natomiast rozkurczowe ciśnienie tętnicze wynosiło odpowiednio 75 ± 12 mmHg i 76 ± 11 mmHg. W badaniach własnych wartości ciśnienia skurczowego jak i rozkurczowego były bardzo zbliżone do tych powyżej opisanych ($148,8 \pm 23,0$ mmHg i $76,6 \pm 11,8$ mmHg, odpowiednio). Podobnie badanie prowadzone w Australii dostarczyło informacji o wartości średniej skurczowego ciśnienia tętniczego na poziomie 139 mmHg wśród pacjentów z PAD (Golledge i wsp., 2021). W populacji The Rotterdam Study pomiary ciśnienia wykazały zbliżone do powyższych wartości (SBP: 139 ± 22 mmHg u mężczyzn, 140 ± 23 mmHg u kobiet; DBP: 75 ± 12 mmHg u mężczyzn, 73 ± 12 mmHg u kobiet) (Meijer i wsp., 2000). Wyraźnie niższe wartości skurczowego ciśnienia krwi ($129,3 \pm 21,6$ mmHg) odnotowano w badaniu The Atherosclerosis Risk in Communities (Ding i wsp., 2018). Bardzo duża różnica w częstości występowania PAD w kontekście nadciśnienia została wykazana w badaniu Novo i wsp., gdzie choroba tętnic obwodowych występowała pośród 51,9% osób z nadciśnieniem, a jedynie u 9,8% osób bez nadciśnienia (Novo i wsp., 1992). Z kolei w innym badaniu przekrojowym, badaniu z Chin oceniającym występowanie PAD pośród pacjentów z potwierdzonym nadciśnieniem, wykazano, że u 30% badanych występowało nadciśnienie tętnicze I stopnia, u 39,3% II stopnia, a u 30,7% III stopnia (He i wsp., 2012). Oceniając ryzyko występowania PAD wśród tych osób, okazało się, że statystycznie istotna zależność występuje zarówno dla nadciśnienia II stopnia (OR 1,47; 95% CI 1,05–2,04; $p = 0,023$), jak i III stopnia (OR 1,62; 95% CI 1,15–2,27; $p = 0,006$).

Najczęstszym czynnikiem ryzyka PAD, występującym pośród pacjentów naszej grupy badanej, było zaburzenie profilu lipidowego, które występowało aż u 95,8% osób. Średnie wartości stężeń dla cholesterolu całkowitego wynosiły $186 \pm 43,2$ mg/dl, dla LDL-cholesterolu $118,4 \pm 42,4$ mg/dl, dla HDL-cholesterolu $57,2 \pm 16,1$ mg/dl oraz $144,2 \pm 79,8$ mg/dl dla triacylogliceroli. W badaniu jordańskiej populacji pacjentów z PAD, którzy jednocześnie mieli cukrzycę i poziom hemoglobiny glikowanej $\leq 7,5\%$, wykazano bardzo podobne wartości stężeń cholesterolu całkowitego (186 ± 50 mg/dl) i LDL-cholesterolu (120 ± 39 mg/dl) oraz zdecydowanie gorsze wyniki dla triacylogliceroli (221 ± 133 mg/dl) i HDL-cholesterolu (35 ± 12 mg/dl) (Shatnawi i wsp., 2021). Charakterystyka profilu lipidowego grupy pacjentów z Bośni i Hercegowiny była porównywalna do naszej grupy badanej, zarówno pod względem

cholesterolu całkowitego (181 ± 23 mg/dl), jak i triacylogliceroli (131 ± 31 mg/dl) (Baltic i wsp., 2015). Istnieją jednak doniesienia naukowe wskazujące na znacznie wyższe średnie wartości stężeń cholesterolu całkowitego pośród populacji pacjentów z chorobą tętnic obwodowych. Przykładowo w badaniu The Atherosclerosis Risk in Communities stężenie cholesterolu całkowitego było na poziomie 217 ± 43 mg/dl (Ding i wsp., 2018). Co ciekawe poziom ten był dokładnie taki sam pośród pacjentów bez jak i z krytycznym niedokrwieniem kończyn, sugerując tym samym, że cholesterol całkowity nie wykazuje związku ze stopniem zaawansowania PAD. W tym samym badaniu zanotowano niższy poziom HDL-cholesterolu (43 ± 12 mg/dl) niż w badaniach własnych.

Średni poziom homocysteiny pośród uczestników naszego badania wyniósł $14,9 \pm 4,5$ $\mu\text{mol/l}$, a hiperhomocysteinemia obecna była pośród 38% badanych. W badaniu dużej grupy pacjentów z PAD (The Rotterdam Study) wykazano zbliżony poziom homocysteiny, a dokładniej mówiąc $15,7 \pm 4,3$ $\mu\text{mol/l}$ u mężczyzn oraz $14,5 \pm 4,4$ $\mu\text{mol/l}$ u kobiet (Meijer i wsp., 2000). Można więc stwierdzić, że pod względem stężenia homocysteiny, badana populacja dobrze odzwierciedla cechy ogólnej populacji pacjentów z chorobą tętnic obwodowych. Uważa się, że zbyt wysoki poziom homocysteiny prowadzić może do uszkodzenia komórek śródbłonna i zmniejszenia elastyczności naczyń krwionośnych (Ganguly i Alam, 2015). Inne mechanizmy działania hiperhomocysteinemii obejmują wzrost proliferacji komórek mięśni gładkich naczyń krwionośnych, uszkodzenia oksydacyjne, czy wzrost syntezy kolagenu (Chen i wsp., 2018). Co więcej hiperhomocysteinemia może prowadzić do nasilenia się niekorzystnych skutków innych czynników ryzyka PAD, takich jak nadciśnienie, palenie, zaburzony metabolizm lipidów, a także może promować rozwój stanu zapalnego. Przykładowo, poziom homocysteiny koreluje zarówno ze skurczowym jak i rozkurczowymi wartościami ciśnienia tętniczego krwi. Podwyższenie wartości homocysteiny o 5 $\mu\text{mol/l}$ jest związane ze wzrostem ciśnienia rozkurczowego i skurczowego odpowiednio o 0,5 i 0,7 mmHg u mężczyzn, a u kobiet o 0,7 i 1,2 mmHg (Lim i Cassano, 2002). W badaniach nad mechanizmem działania homocysteiny w patogenezie zmian miażdżycowych wykazano, że homocysteina znacząco indukuje mRNA i ekspresję CRP (Pang i wsp., 2014). Homocysteina zwiększa ekspresję podjednostki NR1 receptora N-metylo-D-asparagianu (NMDAr, ang. N-methyl-D-aspartate receptor). Oznacza to, że homocysteina może inicjować reakcje prozapalne w komórkach mięśni gładkich naczyń krwionośnych poprzez stymulację produkcji CRP. Homocysteina bierze także udział w stymulowaniu aktywności reduktazy HMG-CoA, która z kolei zwiększa syntezę

cholesterolu (Shenoy i wsp., 2014). Podwyższony poziom cholesterolu we krwi jest, jak już zostało to wcześniej omówione, niezależnym czynnikiem ryzyka rozwoju PAD.

Średnia wartość białka C-reaktywnego pośród pacjentów naszego badania wynosiła $2,81 \pm 2,4$ mg/l, a obecność stanu zapalnego została potwierdzona dla 32,4% osób. W australijskiej populacji pacjentów z PAD średni poziom CRP wyniósł 2,7 mg/l (Golledge i wsp., 2021). Bardzo podobną średnią wartość stężenia CRP (2,3 mg/l) podali badacze ze Stanów Zjednoczonych (Kou i wsp., 2021). Wyniki te są więc zbliżone, choć nieco niższe do poziomu obserwowanego w naszym badaniu. Białko C-reaktywne jest markerem zapalenia pochodzącym z leukocytów w odpowiedzi na IL-6 (Folsom i wsp., 2001). Białko to wywołuje kilka działań, takich jak uwalnianie MCP-1, które z kolei przyciąga monocyty w kierunku bariery śródbłonkowej. Białko C-reaktywne zwiększa również uwalnianie czynnika tkankowego i innych cytokin prozapalnych. Co więcej, CRP hamuje uwalnianie tlenu azotu. Obecnie w literaturze naukowej znaleźć można wiele badań klinicznych i histopatologicznych wykazujących nasilenie chorób naczyń krwionośnych związane bezpośrednio z poziomem CRP. Pośród 5 201 uczestników badania Cardiovascular Health Study zaobserwowano słabą, ale istotną korelację pomiędzy poziomem CRP a grubością warstwy środkowej i wewnętrznej tętnicy szyjnej ($r=0,12$; $p = 0,001$) (Cao i wsp., 2007). Co więcej w porównaniu 72 pacjentów ze zwężeniem tętnicy szyjnej z 74 zdrowymi osobami wykazano, że chore osoby miały prawie podwójnie wyższe stężenie CRP ($3,7 \pm 6,1$ vs $1,9 \pm 2,1$ mg/l, $p=0,02$) (Mullenix i wsp., 2007).

2. Wpływ ozonoterapii na ABI i czynniki ryzyka PAD

Chociaż choroba tętnic obwodowych ma wspólne czynniki ryzyka z innymi chorobami układu sercowo-naczyniowego, znacznie rzadziej uzyskuje się dobre wyniki kontroli klinicznej u pacjentów z PAD niż u pacjentów z chorobami wieńcowymi lub chorobami naczyń mózgowych. W badaniu Reduction of Atherothrombosis for Continued Health pacjenci z PAD nie osiągnęli takiej samej kontroli czynników ryzyka jak pacjenci z chorobą tętnic wieńcowych lub chorobą naczyń mózgowych, pomimo porównywalnych początkowych profili ryzyka sercowo-naczyniowego (Cacoub i wsp., 2009). Prewencja pierwotna PAD wymaga więc większej uwagi i zainteresowania zarówno wśród lekarzy i pracowników służby zdrowia, jak i naukowców i samych pacjentów. Na podstawie obecnej wiedzy, można stwierdzić, że modyfikacje stylu życia są najbardziej opłacalnymi interwencjami i istnieją przekonujące dowody na poparcie wysokiej efektywności zaprzestania palenia, wdrożenia zmian w diecie i włączenia regularnych ćwiczeń (Aggarwal

i wsp., 2012). Podczas gdy zalecenia modyfikacji stylu życia znane są lekarzom, jak i pacjentom od dłuższego czasu, częstość występowania choroby tętnic obwodowych nadal rośnie. Istnieje więc potrzeba wprowadzenia do standardowych procedur postępowania z pacjentem z PAD, metod leczenia, które są zarówno efektywne, praktyczne jak i opłacalne. Suche kąpiele ozonowe wydają się być odpowiednią propozycją dla pacjentów we wczesnym stadium rozwoju PAD.

W badaniach własnych wykazano znaczącą poprawę wartości indeksu kostka-ramię po cyklu 10 codziennych zabiegów suchych kąpiei w mieszanke tlenowo-ozonowej (zmiana z poziomu $1,12 \pm 0,09$ na $1,16 \pm 0,11$, $p=0,01$). Efekt ten był nieznacznie większy niż w przypadku suchych kąpiei w dwutlenku węgla, różnica pomiędzy grupami badanymi nie była istotna statystycznie. Zaobserwowano również poprawę w innych wskaźnikach ryzyka PAD, jak na przykład obniżenie wartości rozkurczowego ciśnienia tętniczego krwi (zmiana z $76,8 \pm 11,7$ mmHg na $74,2 \pm 8,7$ mmHg, $p=0,03$). Wyniki te są zgodne z wcześniejszymi doniesieniami na temat pozytywnego wpływ ozonoterapii na choroby układu sercowo-naczyniowego. Nasze badanie dodatkowo pokazały, że nawet w początkowym stadium choroby sercowo-naczyniowej, jaką jest choroba tętnic obwodowych ozonoterapia przynosi korzyści. Dotychczasowe dane piśmiennicze dostarczyły jedynie informacji o efektywności tej terapii w zaawansowanych stadiach chorób. Przykładem, gdzie ozonoterapia przyniosła efekty u pacjentów z gorszymi wynikami zdrowotnymi, jak i u starszych pacjentów, jest badanie wpływu ozonoterapii na przepływ krwi w mózgu (Clavo i wsp., 2004). Stwierdzono, że ozonoterapia powoduje wzrost prędkości rozkurczowej w tętnicach, czemu towarzyszy zmniejszenie oporu naczyniowego i poprawa właściwości reologicznych krwi. Zaobserwowano również korelację między poprawą tętniczego przepływu krwi a wartościami początkowymi. Autorzy podkreślili, że tkanki o wyższym stanie niedotlenienia są bardziej wrażliwe na leczenie. Co więcej, większy efekt zaobserwowano wśród starszych pacjentów. Kolejne badania dostarczyły dowodów na to, że pacjenci z ostrym zawałem mózgu mogą czerpać korzyści z terapii ozonem w postaci lepszego przywrócenia funkcji motorycznych (Wu i wsp., 2013). W badaniu tym pokazano, że ozonoterapia spowodowała poprawę wyników National Institutes of Health Stroke Scale and Modified Ranking Scale oraz szybkości wzrostu potencjału korowego kończyn górnych, skrócenie centralnego czasu przewodzenia ruchowego kończyny górnej, jak również zwiększenie amplitudy potencjału ruchowego kończyny górnej. Wpływ ozonoterapii został również zbadany pośród pacjentów z zarostową chorobą tętnic obwodowych (POAD, ang. peripheral occlusive arterial disease), gdzie wykazano, że terapia ta może przynieść korzyści w postaci poprawy właściwości

reologicznych krwi, jak i efektywniejszego dostarczania tlenu do tkanek (Giunta i wsp., 2001). Inne badania również potwierdziły, że ozon ma pozytywny wpływ na parametry krzepnięcia krwi (Biedunkiewicz i wsp., 2006).

Proponowany mechanizm umożliwiający powyższe efekty terapii obejmuje zwiększenie uwalniania substancji wazoaktywnych, zwiększenie elastyczności erytrocytów, a także poprawę właściwości reologicznych krwi. Terapia ozonem powoduje wzrost zawartości adenozynotrójfosforanu (ATP) i 2,3-difosfoglicerynianów w czerwonych krwinkach. Ozon promuje również szlak pentozofosforanowy, reakcje, które powodują uwolnienie fosforanu dinukleotydu nikotynamidoadeninowego. Ta cząsteczka ma kluczowe znaczenie dla integralności błony erytrocytów. Ponadto, ozon obniża lepkość krwi i stymuluje uwalnianie dwutlenku wodoru, który rozбивa skrzeplinę, dzięki czemu usprawnia się mikrokraężenie. Wpływ na krzepnięcie krwi ma również zmiana polimeryzacji płytek krwi. Wreszcie ozon stymuluje podstawowy metabolizm poprzez regulację w górę kwasu trikarboksylowego i pobudzanie katabolizmu tłuszczów. W rezultacie substancje tłuszczowe na ściankach naczynia mogą zostać usunięte (Giunta i wsp., 2001).

Ponadto wykazano, że ozonoterapia nasila działanie przeciwzakrzepowe aspiryny z polikozanolem bez zmiany czasu krwawienia. Jednocześnie w literaturze przedmiotu pojawiły się informacje o wzroście czasu protrombinowego na skutek terapii ozonem (Martinez-Sanchez i wsp., 2012). Znaczący wzrost czasu protrombinowego obserwowany w ozonoterapii, może być tłumaczony jako konsekwencja stymulacji receptorów adenozynowych A₂, wywołanej przez stres oksydacyjny (Johnston-Cox i Ravid, 2011). Wcześniejsze doniesienia mówiły o tym, że ozon może aktywować receptory adenozyny A₁ (León Fernández i wsp., 2008). Jeśli te same mechanizmy zachodzą również dla receptora adenozynowego A₂ w płytkach krwi, zwiększenie adenozynowych mechanizmów sygnalizacyjnych może działać stymulująco na płytkową cyklazę adenylanową i zwiększając poziom płytkowego cyklicznego-3',5'-adenozynomonofosforanu. W całym tym mechanizmie agregacja płytek krwi jest hamowana w odpowiedzi na różne bodźce, takie jak czynniki aktywujące płytki, kolagen i difosforan adenozyny.

Coraz więcej dowodów wskazuje na rolę stresu oksydacyjnego i stanu zapalnego w promowaniu miażdżycowych chorób sercowo-naczyniowych (Rao i Kiran, 2011). Wyjaśnione zostało działanie specyficznych mediatorów, które wydają się łączyć zarówno stres oksydacyjny, jak i stan zapalny z progresją oraz pęknięciem blaszki miażdżycowej w ścianie tętnicy (Uno i Nicholls, 2010). Pęknięcie płytki miażdżycowej może aktywować procesy krzepnięcia krwi, a w konsekwencji zwężenie tętnic, co z kolei może sprzyjać

zawałowi serca, udarowi mózgu, chorobie tętnic obwodowych (Rao i Kiran, 2011). Istnieją doniesienia naukowe mówiące, że ozon moduluje stres oksydacyjny, przez co może zapobiegać poważnym epizodom sercowo-naczyniowym. W badaniu klinicznym, gdzie wpływ ozonoterapii na chorobę wieńcową był głównym tematem, wykazano, że terapia ozonem zmniejsza stres oksydacyjny i procesy zapalne (Martinez-Sanchez i wsp., 2012). Odnotowano pozytywne zmiany w markerach, takich jak stopień aktywacji monocytów, dityrozyny, produktów końcowych zaawansowanej glikacji, neopteryny, stężeniach cytokin zapalnych. Ozonoterapia zwiększyła również całkowitą pojemność antyoksydacyjną, mierzoną poprzez zdolność redukcji jonów żelaza (FRAP, ang. ferric reducing ability of plasma). Wskaźnik FRAP jest markerem łączącym zmiany aktywności antyoksydacyjnej wielu związków. Zaobserwowana zmiana, wywierająca duży wpływ na stan oksydacyjny, wskazuje na przejście w stan niskiej produkcji reaktywnych form tlenu i wzrost detoksykacji H_2O_2 . Ozon może również poprawiać obronę przeciwutleniającą poprzez hamowanie wytwarzania reaktywnych form tlenu na drodze reakcji oksydazy ksantynowej. Ozonoterapia powoduje także obniżenie poziomów zaawansowanych produktów utleniania białek (AOPP, ang. advanced oxidation protein product). Poziom tych związków jest markerem stresu oksydacyjnego ściśle korelującym ze stopniem aktywacji monocytów, dityrozyną, produktami końcowymi zaawansowanej glikacji, neopteryną i cytokinami zapalnymi (tj. $TNF\ \alpha$, ang. tumor necrosis factor α i jego rozpuszczalnym receptorem) (Witko-Sarsat i wsp., 1999). Co więcej, indukowana przez AOPP produkcja reaktywnych form tlenu (ROS, ang. reactive oxygen species) w komórkach śródbłonna jest częściowo pośredniczona przez aktywację oksydazy NADPH. Wydaje się więc, że AOPP działają jak mediatory zapalne, ponieważ są w stanie wywołać wybuch tlenowy i syntezę cytokin (Martinez-Sanchez i wsp., 2005b). Efekt regulacji AOPP przez ozon jest pośrednim wskaźnikiem związanym z kontrolą procesu zapalnego.

W naszych badaniach ozonoterapia spowodowała znaczący spadek procentowej zawartości tkanki tłuszczowej (zmiana z $39,0 \pm 8,3\%$ na $36,8 \pm 8,6$, $p=0,004$) oraz zmniejszenie stosunku talia:biodra (zmiana z $0,93 \pm 0,06$ na $0,91 \pm 0,05$, $p=0,02$). Suche kąpiele w dwutlenku węgla nie wywarły takiego efektu. Poprawa tychże wskaźników mogła nastąpić z dwóch głównych powodów: stymulacji obrony antyoksydacyjnej oraz zwiększonej aktywności fizycznej pacjentów podczas trwania próby klinicznej.

Zarówno grupa eksponowana na suche kąpiele ozonowe, jak i grupa kontrolna, w czasie trwania terapii zwiększyła całkowity wymiar aktywności fizycznej. Efekt redukcji procentowej zawartości tkanki tłuszczowej także został zaobserwowany w grupie

ozonoterapii, jak i w grupie kontrolnej. Wpływ aktywności fizycznej na poziom tkanki tłuszczowej jest oczywisty i szeroko omówiony w literaturze naukowej. Dzięki niedawno opublikowanej metaanalizie można przyjrzeć się wysokiej jakości badaniom, gdzie głównym tematem była ocena korelacji między aktywnością fizyczną a składem ciała. Autorzy tej metaanalizy potwierdzili, że wyższe poziomy aktywności fizycznej związane są z większą masą mięśniową, zmniejszonym ryzykiem nadwagi i otyłości, niższym procentem tkanki tłuszczowej w organizmie oraz niższym obwodem talii (Milton i wsp., 2014). Obecnie wszystkie uznane rekomendacje dla osób z nadwagą i otyłością, osób starszych, pacjentów z chorobami sercowo-naczyniowymi zalecają aktywność fizyczną w celu poprawy składu ciała i parametrów zdrowotnych (Pérez i wsp., 2019). Dla osiągnięcia najbardziej optymalnych efektów, a więc redukcji tkanki tłuszczowej przy zachowaniu masy mięśniowej, polecany jest trening wielodyscyplinarny. Autorzy podkreślili jednak ogromny wpływ pozostałych aspektów zmian stylu życia, w tym odpowiednio dobraną dietę, spanie od 6 do 9 godzin nieprzerwanego snu, ograniczenie spożycia alkoholu do umiarkowanego i zaprzestanie palenia tytoniu. Z kolei w metaanalizie badań ukierunkowanych na ocenę poprawy zdrowia u pacjentów z miażdżycą oraz zmniejszenie ryzyka wystąpienia poważnych zdarzeń sercowo-naczyniowych wykazano, że o ile nie są zastosowane restrykcje kaloryczne, to minimum 250 minut umiarkowanej intensywności aktywności fizycznej tygodniowo jest potrzebne, aby uzyskać zmiany w składzie ciała (Ramos i wsp., 2015). Efektu, jakiego można oczekiwać przy aktywności 250 minut tygodniowo (>3 METs) i braku restrykcji kalorycznych, to 1-3% zmian w masie tkanki tłuszczowej. Natomiast dla osiągnięcia 5% redukcji masy ciała, może potrzebna być aktywność fizyczna na poziomie 26 MET-godzin na tydzień.

Proponowanym przez nas mechanizmem wyjaśniającym redukcję procentowej zawartości tkanki tłuszczowej oraz zmniejszenie wartości stosunku talia:biodra na skutek ozonoterapii, jest stymulacja obrony antyoksydacyjnej przez ozon. Z kolei efektywniejsza obrona antyoksydacyjna powoduje zmniejszenie stresu oksydacyjnego. Pomimo, że w badaniach własnych nie oceniano równowagi prooksydacyjno-antyoksydacyjnej ustroju osób badanych, co planuje się na dalszych etapach badań, to założenie takie można pośrednio poprzeć dotychczasowymi danymi naukowymi. Potwierdzonym jest, że stres oksydacyjny odgrywa istotną rolę w rozwoju otyłości i chorób współistniejących (Manna i Jain, 2015). Badania epidemiologiczne, kliniczne i na zwierzętach wykazały rolę stresu oksydacyjnego w patogenezie otyłości i związanych z nią czynników ryzyka (Savini i wsp., 2013). Stres oksydacyjny może wywołać otyłość poprzez stymulowanie odkładania się białej tkanki tłuszczowej i zmianę spożycia pokarmu. Zarówno hodowle komórkowe, jak i badania na

zwierzętach wykazały, że stres oksydacyjny może powodować wzrost proliferacji preadipocytów, różnicowanie adipocytów i wielkość dojrzałych adipocytów (Furukawa i wsp., 2004, Higuchi i wsp., 2013). Wykazano, że reaktywne formy tlenu są zaangażowane w kontrolę masy ciała wywierając różny wpływ na neurony podwzgórza, które kontrolują zachowanie sytości i głodu (Horvath i wsp., 2009). Otyłość sama w sobie może również wywoływać ogólnoustrojowy stres oksydacyjny poprzez wiele mechanizmów biochemicznych, takich jak wytwarzanie nadtlenku z oksydaz NADPH (NOX, ang. NADPH oxidase), fosforylacja oksydacyjna, samoutlenienie aldehydu glicerynowego, aktywacja kinazy białkowej C (PKC, ang. protein kinase C) oraz szlaki poliolowe i heksozaminowe (Serra i wsp., 2013). Do innych czynników, które również przyczyniają się do rozwoju otyłości, zaliczyć można hiperleptynemię, dysfunkcję tkanek, słabą obronę antyoksydacyjną, przewlekłe zapalenie, oraz poposiłkowe wytwarzanie ROS (Manna i Jain, 2015). W badaniach naukowych zaobserwowano istotną pozytywną korelację między BMI a biomarkerami stresu oksydacyjnego (Vincent i Taylor, 2006). Stwierdzono, że aktywność enzymów antyoksydacyjnych, dysmutazy nadtlenkowej (SOD, ang. superoxide dismutase) i peroksydazy glutationowej (GPx, ang. glutathione peroxidase) jest mniejsza w erytrocytach osób otyłych w porównaniu z ludźmi bez otyłości (Olusi, 2002). Całkowity stan antyoksydacyjny oraz FRAP zostały wykorzystane jako kompleksowe wyznaczniki zdolności wygaszania rodników przez przeciwutleniacze w osoczu. W badaniach naukowych wykazano niższe poziomy FRAP i TAS w osoczu u osób otyłych w porównaniu z tymi obserwowanymi w grupie kontrolnej bez otyłości (Vincent i Taylor, 2006).

Dowody zgromadzone w ciągu ostatnich dwóch dekad wskazują na istotne powiązania między stanem zapalnym a stresem oksydacyjnym, gdzie każdy proces przyczynia się do napędzania drugiego, tym samym ustanowienie błędnego cyklu podtrzymującego i propagującego odpowiedź zapalną (Roy i wsp., 2021). W tej korelacji pośredniczy obniżenie sygnalizacji NF-κB (ang. nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells), aktywacja domeny purynowej z rodziny NLR zawierającej 3 inflammasomu i receptorów Toll-podobnych (Lugrin i wsp., 2014). W receptorach Toll-podobnych domena zewnątrzkomórkowa łączy się poprzez domenę transbłonową z cytoplazmatyczną domeną receptora Toll/interleukiny-1, która oddziałuje z cząsteczkami adaptorowymi. W konsekwencji ekspresja mediatorów zapalnych jest zwiększona, obejmując w szczególności enzymy prooksydacyjne, takie jak oksydaza NADPH i indukowalna syntaza tlenu azotu. Tym samym wytwarzane są wysokie poziomy reaktywnych form tlenu.

Zaangażowanie Toll-podobnych receptorów ułatwia również wytwarzanie ROS w mitochondriach i promuje aktywację oksydazy NADPH.

Nadprodukcja ponadtlenku przez mitochondrialny łańcuch transportu elektronów oraz zaburzony stan antyoksydacyjny są procesami silnie skorelowanymi ze stanem hiperglikemii. U pacjentów z cukrzycą typu II wykazano niedobór antyoksydantów, któremu towarzyszyło zmniejszenie wychwytu glukozy. Wyniki 4-letniego prospektywnego badania doprowadziły do hipotezy, że brak równowagi w reaktywnych formach tlenu i przeciwutleniaczy jest ważnym czynnikiem patogennym prowadzącym do insulinooporności (Salonen i wsp., 1995). W naszym badaniu wykazano znaczną poprawę stężenia hemoglobiny glikowanej na skutek zastosowania ozonoterapii (zmiana z $6,39 \pm 1,68\%$ na $6,04 \pm 0,89\%$, $p=0,03$), podczas gdy w grupie terapii dwutlenkiem węgla nie odnotowano istotnej zmiany. Efektywność ozonu w tej kwestii znajduje potwierdzenie w innych doniesieniach naukowych. Pacjenci z cukrzycą typu II cierpiący na powikłania stopy cukrzycowej byli grupą badaną w próbie klinicznej sprawdzającej terapeutyczne działanie ozonu (Martinez-Sanchez i wsp., 2005). Wykazano, że terapia ozonem nie tylko zmniejsza hiperglikemię, ale także przywraca normoglikemię. Ta obserwacja została przypisana wpływowi ozonu na system antyoksydacyjny, a także zwiększonej wrażliwości na insulinę. W literaturze naukowej wykazano bezpośredni związek między obecnością stresu oksydacyjnego a upośledzonym wychwytem glukozy (Ceriello i wsp., 2001). W adipocytach wychwyt glukozy ulega gwałtownemu zmniejszeniu w obecności nadtlenu wodoru (H_2O_2), w badaniach przedklinicznych i klinicznych efekt ten został odwrócony przez ozonoterapię (Al-Dalain i wsp., 2001). Ozon obniża poziom nadtlenu wodoru, a tym samym stymuluje aktywność kinazy fosfatydyloinozytolu 3 i sprzyja translokacji transportera glukozy 4 z przedziału wewnątrzkomórkowego na powierzchnię komórki. Ozon wzmacnia działanie metaboliczne, zapobiegając ubytkowi glikogenu, ubytkowi ATP i zapewniając stałą dostępność wolnej glukozy. Inne badania naukowe potwierdzają, że ozon wpływa na działania metaboliczne związane z hamowaniem ubytku glikogenu oraz zmniejszeniem dostępności wolnej glukozy (Candelario-Jalil i wsp., 2001). Potwierdzono również, że w sytuacjach niedokrwienia ozonoterapia hamowała wyczerpywanie się ATP (Peralta i wsp., 2000). Doniesiono, że mitochondrialny przepływ elektronów zostaje odłączony od syntezy ATP w warunkach hiperglikemii, co sugeruje, że normalizacja mitochondrialnej produkcji anionu ponadtlenkowego blokuje negatywne skutki hiperglikemii (Nishikawa i wsp., 2000).

Jednymi z najpoważniejszych konsekwencji hiperglikemii są uszkodzenia naczyń występujące w neuroinfekcyjnej stopie cukrzycowej. Z czasem stan ten sprzyja powstawaniu

wrzodów i infekcji, często prowadząc do konieczności amputacji. Wykazano, że zarówno antybiotykoterapia jak i ozonoterapia sprzyjają bliznowaceniu, aczkolwiek leczenie ozonem wywiera silniejszy efekt (Martinez-Sanchez i wsp., 2005). Wyższość leczenia stopy cukrzycowej ozonem jest bezpośrednią konsekwencją jego działania przeciwcukrzycowego, a mianowicie jego zdolności do utrzymania komórkowej równowagi redoks i jego właściwościami przeciwdrobnoustrojowymi, które są wspólne dla obu metod leczenia i są głównym powodem stosowania antybiotykoterapii. Inne badania również sprawdzały skuteczność kąpiei ozonowych w odniesieniu do gojenia się ran i ekspresji czynników wzrostu, takich jak VEGF, transformujący czynnik wzrostu beta 1 (TGF- β 1, ang. transforming growth factor-beta 1) i płytkopochodny czynnik wzrostu (PDGF, ang. platelet derived growth factor) (Zhang i wsp., 2014). Terapia ozonem znacząco stymulowała gojenie się ran, dzięki czemu redukcja rany następowała znacznie szybciej. Efekt ten można wytłumaczyć wyższą zawartością kolagenu i czynników wzrostu, którą zaobserwowano w tym badaniu. W badaniu klinicznym dotyczącym krytycznego niedokrwienia kończyny również zaobserwowano poprawę gojenia ran oraz poprawę odczuwania bólu po ozonoterapii (Marfella i wsp., 2010). W kolejnym badaniu zbadano skuteczność ozonoterapii jako uzupełniającej metody leczenia owrzodzeń żylnych kończyn dolnych (Zhou i wsp., 2016). Po terapii ozonem zanotowano wyższy stopień wygojenia owrzodzeń, lepszą satysfakcję z leczenia wśród pacjentów i niższy odsetek nawrotów. Warto zauważyć, że wystarczyło jedynie od 7 do 13 sesji, aby wywołać długotrwałe efekty.

Wstępna ocena ekonomiczna wykazała, że zastosowanie ozonoterapii w leczeniu neuroinfekcyjnej stopy cukrzycowej powodowało zmniejszenie kosztów leczenia o około 25% w porównaniu ze stosowaniem antybiotyków (Martinez-Sanchez i wsp., 2005). Biorąc pod uwagę, że prawdopodobieństwo hospitalizacji i koszty opieki zdrowotnej są 3 do 5 razy wyższe dla pacjentów z cukrzycą niż dla pacjentów bez cukrzycy, oraz że badania epidemiologiczne wskazują na ciągły wzrost występowania cukrzycy, potrzebne są dalsze innowacje w leczeniu cukrzycy, aby poprawić leczenie i obniżyć jego koszt. Terapia ozonem może stanowić ważny element terapeutyczny w leczeniu cukrzycy.

3. Jakość życia badanych

Tradycyjne cele interwencji u pacjentów z PAD to łagodzenie objawów i uratowanie kończyny przed amputacją. W ostatnich latach cel interwencji chirurgicznej u pacjentów z PAD ewoluował, aby poprawić stan funkcjonalny. Pacjenci są wybierani do interwencji lub operacji w zależności od stopnia ograniczenia życia, owrzodzenia lub ryzyka utraty kończyny.

Chociaż ratowanie kończyn i poprawa stanu funkcjonalnego są nadal deklarowanymi celami interwencji lub operacji w PAD, znaczenie tych celów terapeutycznych polega na ich potencjale poprawy jakości życia związanej ze zdrowiem (HRQoL, ang. health-related quality of life). Czynniki fizyczne jak i składowe HRQoL, takie jak zdrowie fizyczne, stan psychiczny i relacje społeczne, również wpływają na wynik pooperacyjny, a tym samym na długoterminowe przeżycie po interwencji lub operacji (Long i wsp., 2004). Światowa Organizacja Zdrowia opisuje jakość życia jako „subiektywną ocenę przez jednostkę jej sytuacji życiowej w odniesieniu do kultury, w której ta jednostka żyje, jej systemu wartości, celów, oczekiwań, zainteresowań” (World Health Organization, 2012). Jakość życia związana ze zdrowiem obejmuje zwykłe lub oczekiwane stany fizyczne, emocjonalne i społeczne jednostki, na które ma wpływ sytuacja medyczna.

Wiadomym jest, że pacjenci z PAD mają obniżoną jakość życia w porównaniu z populacją ogólną (Mays i wsp., 2011). U pacjentów z PAD występuje wiele różnych problemów, takich jak ból, brak apetytu, depresja i problemy z poruszaniem się oraz ze snem. Wiadomo, że choroby współistniejące, takie jak cukrzyca, choroba niedokrwienna serca i obturacyjna choroba płuc, również mają negatywny wpływ zarówno na wyniki leczenia, jak i jakość życia pacjentów z PAD (Nehler i wsp., 2014). Analizując konkretne składowe jakości życia, można zauważyć, że pacjenci z PAD zgłaszają niższą jakość życia w zakresie funkcjonowania fizycznego, ograniczeń fizycznych i bólu ciała w porównaniu ze zdrowymi osobami z grupy kontrolnej i populacją ogólną (Myers i wsp., 2008). Inne badania wskazują gorsze wyniki pacjentów z PAD w domenach takich jak energia, ból, reakcje emocjonalne, sen i mobilność fizyczna, w porównaniu z grupą kontrolną dopasowaną pod względem wieku i płci (Mays i wsp., 2011). W kolejnym badaniu porównującym zdrowe osoby z pacjentami z chropaniem przestankowym podkreślono znaczącą różnicę w poziomie niezależności (Breck i wsp., 2001).

Znana jest również zależność pomiędzy jakością życia a stopniem zaawansowania choroby tętnic obwodowych (Maksimovic i wsp., 2014). Zależność tą pokazują między innymi wyniki badania, gdzie zastosowano Peripheral Artery Occlusive Disease 86 Questionnaire (Holler i wsp., 2004). Okazuje się, że pacjenci z PAD na poziomie IIb według klasyfikacji Fontaine'a (od umiarkowanego do ciężkiego chropania przestankowego) doświadczają większych zaburzeń w zakresie bólu i stanu funkcjonalnego w porównaniu z pacjentami na poziomie IIa (chropanie łagodne). W badaniu naukowym pośród szwedzkiej populacji pacjentów z PAD ujawniono znacząco niższą jakość życia pośród pacjentów z krytycznym niedokrwieniem kończyn w porównaniu z pacjentami z chropaniem

przestankowym (Lindgren i wsp., 2016). Wyniki tego badania obserwacyjnego ukazały, że chroniczny, rozległy ból jest związany ze znacznie gorszymi wynikami jakości życia pomimo zastosowania różnorodnych metod leczenia PAD. Kolejne badania również porównywały osoby z krytycznym niedokrwieniem kończyn z pacjentami z chromaniem przestankowym (Mays i wsp., 2011). Wyniki dostarczyły informacji, że obszary jakości życia, takie jak odczuwany ból, sen i aktywność fizyczna były znacznie lepsze u pacjentów z PAD z IC w porównaniu z pacjentami z CLI, bez różnic w energii, reakcji emocjonalnej czy izolacji społecznej. Wiadomym jest, że choroba tętnic obwodowych wpływa zarówno na funkcjonowanie fizyczne, jak i psychiczne. W literaturze naukowej może również znaleźć badania porównujące jakość życia pacjentów z objawową PAD z pacjentami z przewlekłą niewydolnością serca (Smolderen i wsp., 2009). Wyniki wskazują, że pacjenci z PAD mieli gorsze wyniki w domenach fizycznych, podczas gdy pacjenci z przewlekłą niewydolnością serca odczuwali większe obniżenie jakości życia w domenach psychicznych. Funkcjonowanie fizyczne w chorobie tętnic obwodowych jest najczęściej oceniane poprzez sprawdzanie lokomocyjnej funkcji chodu. Korzystając z Walking Impairment Questionnaire, ustalono, że u PAD pacjentów występują ograniczenia prędkości i odległości chodzenia oraz wchodzenia po schodach (Regensteiner i wsp., 2008). Wykazano również, że powyższe upośledzenia występowały nie tylko w zaawansowanych stanach PAD, ale również u pacjentów, którzy mieli łagodne objawy lub byli bezobjawowi (Mays i wsp., 2011).

Postępy w znieczuleniu okołoperacyjnym i intensywnej terapii spowodowały znaczne zmniejszenie śmiertelności w przebiegu okołoperacyjnym lub pooperacyjnym (Guzelhan i wsp., 2020). Biorąc pod uwagę fakt, że śmiertelność po operacjach naczyniowych jest stosunkowo niska, stan zdrowia, zmiany stanu funkcjonowania i samopoczucia stały się ważnymi wskaźnikami końcowego wyniku operacji naczyń obwodowych (Gosh i Majumder, 2018). Powrót do zdrowia po interwencji chirurga naczyniowego nie jest całkowicie zdeterminowany cechami fizycznymi i środkami medycznymi, gdyż czynniki społeczne i psychiczne mogą również wpływać na długoterminowe gojenie (Kolh, 2010). Pomimo dobrych wyników operacji, przebiegu bez zachorowalności i bez śmiertelności, same te parametry nie dają wystarczających danych na temat samopoczucia funkcjonalnego, emocjonalnego i psychicznego pacjenta (Feinglass i wsp., 2000). Jakość życia związana ze stanem zdrowia może mieć wpływ na życie pooperacyjne z kilku powodów: powikłań leczenia operacyjnego, nawrotu lub wystąpienia chorób nienaczyniowych, powikłań neurologicznych czy psychologicznych. Niepokój przed zabiegiem chirurgicznym uznano za szczególnie istotny aspekt powikłań pooperacyjnych. Wykazano również, że pacjenci

z wysokim stopniem lęku przedoperacyjnego gorzej reagują na leki przeciwbólowe niż pacjenci z niskim stopniem niepokoju (Greszta i Siemińska, 2008). Wśród pacjentów z chorobą niedokrwienną serca poddawanych pomostowaniu aortalno-wieńcowemu często stwierdzano niepokój i wykazywał on związek ze zwiększonym ryzykiem zgonu z jakichkolwiek przyczyn. Ze względu na wszystkie powyżej wymienione aspekty, pooperacyjna wysoka jakość życia stała się kluczowym miernikiem skuteczności zabiegu chirurgii naczyniowej. Z drugiej strony badania ostrzegają, że proces powrotu do zdrowia po operacji sercowo-naczyniowej może być bardziej skomplikowany niż oczekiwano (Uğurlucan i wsp., 2019). Szczególnie lęk i depresja wydają się wpływać na proces pooperacyjny i jakość życia po interwencji naczyniowej i/lub operacji (Remes i wsp., 2010). Do tej pory przeglądy systematyczne dotyczące korzyści z leczenia chirurgii naczyniowej koncentrowały się na pooperacyjnych subiektywnych wynikach zdrowotnych pod względem stanu funkcjonalnego, poziomu aktywności, codziennej aktywności życiowej, powrotu do pracy, samopoczucia psychicznego i samooceny stanu zdrowia stan funkcjonalny oraz obiektywne negatywne zdarzenia sercowe, przeżycie i wskaźniki powikłań (Gosh i Majumder, 2018). Jednak coraz powszechniej uznaje się wysokie znaczenie czynników psychospołecznych w procesie zdrowienia pacjentów z chorobami naczyń (Guzelhan i wsp., 2020). Ważnymi predyktorami jakości życia są wiek, płeć, poziom edukacji i choroby współistniejące. Przedoperacyjny nastrój i sprawność poznawcza są również istotnymi predyktorami wczesnych pooperacyjnych dysfunkcji psychicznych, które mogą być związane z przedłużoną hospitalizacją i śmiertelnością po operacji chirurgicznej (Gosh i Majumder, 2018). Lekarze, pacjenci i krewni powinni być świadomi tego prawdopodobieństwa i należy podjąć próbę przedoperacyjnej identyfikacji pacjentów predysponowanych do ciężkiego przewlekłego stresu (Sasajima i wsp., 2020). Co więcej, chirurdzy sercowo-naczyniowi muszą być świadomi funkcjonowania psychospołecznego swoich pacjentów i, jeśli to konieczne, doradzać im skorzystanie z porad ekspertów i pomoc w maksymalizacji dobrostanu. Co więcej, ocena dobrostanu przedoperacyjnego powinna być zintegrowana z rutynową opieką, aby identyfikować i wspierać pacjentów z wyższym poziomem lęku w celu pełnego zrozumienia, w jaki sposób choroba naczyń obwodowych wpływa indywidualnie na pacjentów.

Nasz cykl 10 zabiegów ozonoterapii spowodował poprawę jakości życia pacjentów z chorobą tętnic obwodowych. Wynik ten jest spójny z wcześniejszymi doniesieniami naukowymi. Przykładem może być inna próba kliniczna sprawdzająca terapeutyczne działanie ozonu, u pacjentów z cukrzycą typu II cierpiących na powikłania stopy

cukrzycowej, pacjenci szybciej wrócili do zdrowia i lepiej postrzegali swoją jakość życia właśnie dzięki terapii tlenowo-ozonowej (Martinez-Sanchez i wsp., 2005).

Wiadomym jest, że jednym z głównych czynników wpływających na jakość życia pacjentów z chorobą tętnic obwodowych jest odczuwany ból, szczególnie podczas chodzenia (Spronk i wsp., 2007). W prezentowanych badaniach pośród osób otrzymujących ozonoterapię odnotowano znaczącą poprawę w domenie bólu. Ta obserwacja również jest zgodna z innymi badaniami naukowymi nad terapią ozonem. Jednym z najważniejszych wskaźników efektywności ozonoterapii był właśnie obniżony poziom bólu w badaniu, w którym wzięli udział pacjenci z chronicznym bólem lędźwiowo-krzyżowym (Cantele i wsp., 2021). Zauważono również, że pacjenci z wyższym poziomem uczucia niepokoju związanego z bólem na początku leczenia wykazywali lepsze wyniki w zakresie zmniejszenia bólu i poprawy niepełnosprawności pod koniec leczenia.

Mechanizm wyjaśniający efektywność ozonoterapii w kontekście poprawy jakości życia można znaleźć w roli układu serotonergicznego. Wiadomym jest, że deficyt w szlaku serotonergicznym związany jest z zaburzeniami nastroju, lękiem i większą podatnością na ból (Bakshi i Tadi, 2021). Serotonina jest kluczowym neuromodulatorem w przenoszeniu bólu w zstępujących szlakach modulacyjnych w nocycepcji. Osoby z niższym poziomem serotoniny mogą wykazywać wyższy poziom centralnej nadwrażliwości na bodźce (Kranzler et al. i wsp., 2002). W niektórych badaniach wykazano, że osoby z przewlekłym bólem wykazują niższy poziom serotoniny w surowicy w porównaniu z osobami zdrowymi (Farhanchi i wsp., 2018). Z kolei w innych badaniach udowodniono, że ozonoterapia zastosowana u pacjentów z przewlekłym bólem spowodowała umiarkowany wzrost poziomu serotoniny (Moreno-Fernández i wsp., 2019). Dlatego też wydaje się prawdopodobne, że osobom z niedoborem serotoniny, a co za tym idzie wyższym poziomem niepokoju związanego z bólem, ozonoterapia będzie sprzyjać właśnie poprzez wzrost poziomu serotoniny indukowanego przez mieszaną O_2-O_3 . Efekt ten może klinicznie zmniejszyć ból i w konsekwencji stopień niepełnosprawności oraz poprawić jakość życia.

Warto zauważyć, że w naszym badaniu jakość życia poprawiła się nie tylko w grupie ozonoterapii, ale również w grupie CO_2 i kontrolnej. Wszystkie grupy odnotowały znaczącą poprawę w dwóch domenach - odczuwanie bólu i ogólne poczucie zdrowia. Wydaje się więc, że samo w sobie uczestnictwo w badaniach wiązało się z poprawą jakości życia. Dlatego też warto zastanowić się nad czynnikami innymi niż suche kąpiele ozonowe czy w dwutlenku węgla, które mogłyby wywrzeć wpływ na jakość życia uczestników badania. Można przypuszczać, że za zaobserwowaną poprawą jakości życia może odpowiadać również

odnotowana w naszym badaniu aktywność fizyczna zwiększona na skutek uczestnictwa w badaniach. Wiadomym jest, że rehabilitacja ruchowa, która zwiększa wydolność funkcjonalną i zdolność do wykonywania codziennych czynności, poprawia jakość życia pacjentów z PAD (Tsai i wsp., 2002). W literaturze naukowej zależność pomiędzy aktywnością fizyczną a jakością życia wielokrotnie została potwierdzona. Pośród pacjentów z chorobą tętnic obwodowych aktywność fizyczna w tej najprostszej formie jaką jest chodzenie wywiera pozytywny wpływ na jakość życia. W badaniu porównującym tradycyjne chodzenie z chodzeniem nordic walking wykazano poprawę funkcjonowania fizycznego w obydwu grupach (Collins i wsp., 2012). Po 24 tygodniach chodzenia trzy razy w tygodniu zaobserwowano poprawę funkcjonowania fizycznego (zmierzonego poprzez formularz SF-36) o 13% dla grupy chodzącej z kijkami oraz 21% dla grupy tradycyjnie chodzącej. Kolejne badanie oceniało efektywność programu rehabilitacyjnego, w którym pacjenci z PAD wykonywali ćwiczenia w domu (Malagoni et al., 2011). Uczestnicy wykonywali dwie 10-minutowe sesje chodzenia dziennie, sześć dni w tygodniu. Po 12 miesiącach zarówno całkowity wynik ankiety SF-36, jak i wszystkich poszczególnych domen uległy znaczącej poprawie ($p < 0,0001$ dla wszystkich domen). Inne badanie wykorzystało z kolei 12-tygodniowy protokół ćwiczeń, według którego pacjenci z PAD z chromaniem przestankowym trzy razy w tygodniu wykonywali trening chodzenia na bieżni (Tsai i wsp., 2002). Głównymi ustaleniami tego badania było to, że 12-tygodniowy trening wysiłkowy wydłużył czas wystąpienia bólu chromania o 88%, a maksymalny ból chromania o 70%. Co więcej, trening wysiłkowy poprawił jakość życia pacjentów. W porównaniu z danymi wyjściowymi, grupa ćwicząca wykazała istotnie wyższe wyniki w pięciu domenach SF-36 po 12-tygodniowym programie ćwiczeń (funkcjonowanie fizyczne, ograniczenia z powodu zdrowia fizycznego, odczuwanie bólu, zdrowie ogólne, vitalność). Poprawa w komponencie zdrowia fizycznego była wyraźniejsza niż w komponencie zdrowia psychicznego. Poprawa funkcjonowania fizycznego i odczuwania bólu dobrze korelowała z wydłużeniem czasu do maksymalnego bólu chromania (odpowiednio $r=0,66$; $r=0,65$; $p < 0,05$). Warto podkreślić, że w grupie kontrolnej cytowanego badania nie zaobserwowano żadnych zmian w jakichkolwiek domenach jakości życia. Ćwiczenia poprawiają fizyczne możliwości pacjentów z PAD do chodzenia na bieżni, zwiększają bezbolesny oraz maksymalny dystans chodzenia, jak i wynik 6 minutowego testu marszu (Treat-Jacobson i wsp., 2019). W niedawno opublikowanym badaniu wykazano, że większy wzrost w 6-Minute Walking Distance (6MWD) wiązał się z większą poprawą funkcjonowania fizycznego, obniżeniem poziomu bólu, poprawą ogólnego poczucia zdrowia, vitalności i funkcjonowania emocjonalnego SF-36 (Lanzi i wsp.,

2021). Większy wzrost 6MWD był związany z większą poprawą w ogólnym wymiarze fizycznym, jak i psychicznym. Z drugiej strony, poprawa fizycznych możliwości chodzenia na bieżni nie były związane z poprawą HRQoL. Wyniki te sugerują znaczenie zmian w chodzeniu funkcjonalnym dla poprawy jakości życia. Ciekawym jest również badanie, gdzie sprawdzano efekt programu ćwiczeń nie tylko bezpośrednio po ukończeniu rehabilitacji, ale również po roku od ukończenia 12-tygodniowego okresu nadzorowanych treningów (Guidon i McGee, 2013). W grupie ćwiczącej odnotowano długoterminowo utrzymującą się poprawę we wszystkich kategoriach Walking Impairment Questionnaire, przy czym największy wzrost w stosunku do wartości wyjściowej wyniósł w odniesieniu do dystansu (24%) i wchodzenia po schodach (12%). Po 12 tygodniach zaobserwowano poprawę także w wynikach Intermittent Claudication Questionnaire w obu grupach, z tym że różnice pomiędzy grupami graniczyły z istotnością statystyczną. Po roku, grupa kontrolna wykazywała pogorszenie jakości życia w stosunku do pomiaru wyjściowego, natomiast grupa ćwicząca miała znacząco lepsze wyniki niż pomiary wyjściowe, aczkolwiek gorsze wyniki niż bezpośrednio po ukończeniu rehabilitacji. Obserwacja ta odzwierciedla długoterminowe utrzymanie się korzyści osiągniętych po programie ćwiczeń. W kolejnym badaniu, sprawdzającym długotrwałą efektywność programu treningowego, wykazano, że po 12 miesiącach pozytywne zmiany utrzymały się jedynie w domenach dotyczących życia społecznego pacjentów (Mockford i wsp., 2014). W niedawno opublikowanym przeglądzie Cochrane zbiorczo ukazano efektywność różnych programów ćwiczeń w poprawie jakości życia (Lane i wsp., 2017). Czytając tę wysokiej jakości publikację również można zauważyć, że aktywność fizyczna nie tylko wywiera wpływ na jakość życia bezpośrednio po ukończeniu programu ćwiczeń, ale także długoterminowo. Domeny, w których stwierdzono poprawę jakości życia po trzech miesiącach to: funkcjonowanie fizyczne (średnia różnica (MD, ang. mean difference) 6,60; 95% CI 2,37-10,83), witalność (MD 5,55; 95% CI 1,54-9,56) i ograniczenia z powodu zdrowia fizycznego (MD 10,31; 95% CI 3,64–16,98) (Lane i wsp., 2017). Natomiast po sześciu miesiącach od zakończenia rehabilitacji, efekt obserwowany był zarówno dla wymiaru fizycznego (MD 2,15; 95% CI 1,26-3,04; $p < 0,00001$, dane naukowe umiarkowanej jakości) jak i mentalnego (MD 3,76; 95% CI 2,70-4,82; $p < 0,00001$, dane naukowe umiarkowanej jakości). W innej metaanalizie, tym razem 23 badań obejmujących 2 000 uczestników, podsumowano elementy programu rehabilitacyjnego niezbędne dla efektywnej poprawy jakości życia pacjentów z chorobą tętnic obwodowych (Pymer i wsp., 2021). Monitorowanie okazało się kluczowym elementem. Ponadto inne elementy, takie jak odpowiednia częstotliwość (≥ 3 razy w tygodniu), intensywność (do umiarkowanego lub

maksymalnego bólu chromania przestankowego), czas trwania (20 do 60 minut) i rodzaj (chodzenie) ćwiczeń także były bardzo ważne, podobnie jak edukacja pacjenta, samokontrola, wyznaczanie celów, informacje zwrotne i planowanie działań. Autorzy tejże metaanalizy podkreślili, że nadzorowane programy ćwiczeń przynoszą większe korzyści niż rehabilitacja wykonywana w domu. Pomimo dużej ilości dowodów naukowych potwierdzających efektywność aktywności fizycznej w poprawie jakości życia pacjentów z chorobą tętnic obwodowych, warto mieć na względzie, że czynniki, takie jak zmęczenie, utrudnione poruszanie się czy depresja, mogą powodować niższą jakość życia u pacjentów z PAD niż oczekiwano na podstawie stanu klinicznego i zastosowanej rehabilitacji (Liles i wsp., 2006).

4. Sprawność ruchowa i aktywność fizyczna badanych

W celu oceny wpływu terapii na aktywność fizyczną pacjentów z PAD, warto najpierw zastanowić się nad znaczeniem samej w sobie aktywności fizycznej w tej jednostce chorobowej. Wiadomym jest, że regularna aktywność fizyczna pozytywnie wpływa na profilaktykę, objawy oraz rozwój choroby tętnic obwodowych (Norgren i wsp., 2007). Zaleca się zwiększenie poziomu aktywności fizycznej wśród pacjentów z PAD oraz osób z czynnikami ryzyka. Zalecenia te opierają się na dużej liczbie badań epidemiologicznych, przekrojowych i interwencyjnych, które przedstawiają przekonujące dowody na temat korzystnego wpływu regularnej aktywności fizycznej na zdrowie fizyczne i poznawcze pacjentów oraz ich uczestnictwo w życiu społecznym (Yamamoto i wsp., 2020). Jednak wraz z wiekiem i postępem choroby szanse na spełnienie zaleceń niestety maleją (Sjöström i wsp., 2006). Pomoc osobom starszym z siedzącym trybem życia oraz problemami zdrowotnym w rozpoczęciu lub przestrzeganiu regularnych ćwiczeń może okazać się dużym wyzwaniem (Lee i wsp., 2008). Schorowane, starsze osoby mogą przypuszczać, że prozdrowotne komunikaty dotyczące ćwiczeń są skierowane do młodszych osób, lub że ich ograniczenia w funkcjonowaniu fizycznym uniemożliwiają podejmowanie ćwiczeń. Natomiast w literaturze naukowej jasno określa się, że regularność w podejmowaniu ćwiczeń zdrowotnych jest niezbędna do osiągnięcia pomyślnych wyników klinicznych, w tym poprawy jakości życia. Regularna, umiarkowana intensywna aktywność fizyczna została uznana za jedną z najefektywniejszych interwencji prozdrowotnych. Z dostępnego piśmiennictwa jasno wynika, że programy nadzorowanej terapii ruchowej stanowią skuteczną alternatywę dla procedur interwencyjnych i są skuteczniejsze od nienadzorowanych ćwiczeń (Fokkenrood i wsp., 2013). Niestety, dostępność nadzorowanych programów

rehabilitacyjnych jest ograniczona i nie wykorzystuje się w pełni korzyści, jakie takie tego typu interwencje mogłyby przynieść ze względu na czynniki związane z kosztami i przestrzeganiem zaleceń przez pacjentów (Shalhoub et al., 2009). Programy ćwiczeń w domu mogą być zarządzane przy niższych kosztach i mogą zapewniać lepsze przestrzeganie zaleceń. Programy te nie wymagają od pacjentów regularnych wizyt w szpitalu czy ośrodkach rehabilitacyjnych w celu wykonywania ćwiczeń. Ponadto w badaniach naukowych wykazano, że jakości życia w równym stopniu ulega poprawie zarówno po nadzorowanych programach jakich i po ćwiczeniach wykonywanych w domu (Bäck i wsp., 2015). Wśród ustrukturyzowanych treningów domowych, program test in-train out (Ti-To) okazał się bardziej skuteczny w przypadku pacjentów z PAD niż zwykły trening bez nadzoru, a jednocześnie program ten wiąże się z niskimi kosztami (Malagoni i wsp., 2011). Ti-To jest również odpowiedni dla populacji w zaawansowanych stadiach chorób. Ten przyjazny dla pacjenta trening opiera się na spersonalizowanym programie marszu interwałowego wykonywanym z kontrolowaną prędkością pozwalającą na uniknięcie bólu nóg i zmęczenia (Manfredini i wsp., 2004). Program Ti-To jest wykonywany w domu, a więc wymaga niewielkiej liczby wizyt w szpitalu/ ośrodku rehabilitacyjnym. Porównanie efektów programu Ti-To z leczeniem interwencyjnym daje ciekawe i nieco zaskakujące wyniki. Nie ma różnicy między tymi metodami leczenia pod względem poprawy wymiaru fizycznego jakości życia (Lamberti i wsp., 2016). Ponadto pozytywna zmiana hemodynamiczna w połączeniu ze zmianami tlenowymi wywołanymi treningiem Ti-To powoduje poprawę funkcjonalną, nieznacznie niższą dla wszystkich parametrów sprawności fizycznej niż leczenia inwazyjnego. Opłacalność programu Ti-To została potwierdzona przez badania naukowe (Malagoni i wsp., 2011). Koszt jest od 5 do 17 razy niższy niż dla leczenia inwazyjnego dla parametrów wydolności wysiłkowej i mobilności.

Aktywność fizyczna podejmowana przez uczestników naszego badania wzrosła w trakcie trwania badań. Dokładniej, całkowita aktywność fizyczna, aktywność związaną z przemieszczaniem się, prace domowe, chodzenie oraz umiarkowany wysiłek znacząco zmienił się po cyklu zabiegów ozonoterapii. Warto jednak zauważyć, że po cyklu zabiegów suchych kąpiei nie zaobserwowano statystycznie znaczącej różnicy pomiędzy grupami. Jednocześnie w grupie kontrolnej zanotowano znaczące zmiany w całkowitej aktywności fizycznej, pracach domowych, umiarkowanym wysiłku oraz dodatkowo w aktywności fizycznej w czasie wolnym. Wydaje się więc, że samo w sobie uczestnictwo w badaniu wpłynęło na podejmowaną aktywność fizyczną. Może to wynikać z faktu, że codzienne zabiegi pośrednio wymusiły na uczestnikach badania codzienny spacer oraz zwiększoną

aktywność fizyczną związaną z przemieszczaniem się. Uczestnicy naszego badania, będąc seniorami, w większości używali transportu miejskiego, aby przybyć na zabiegi. Wielokrotnie musieli również przebyć pieszo mniejszy lub większy dystans do przystanku komunikacji miejskiej.

W przeglądzie literatury analizującej jakościowe i ilościowe badania nad barierami do podejmowania aktywności fizycznej wśród osób starszych zidentyfikowano takie przeszkody, jak brak czasu, brak bezpiecznego miejsca, niesprzyjająca pogoda, czynniki środowiskowe, problemy fizyczne czy brak osoby towarzyszącej (Spiteri i wsp., 2019). Nowszy przegląd systematyczny ukazał główne bariery, takie jak brak czasu, niesprzyjającą pogodę oraz problemy zdrowotne (André i Agbangla, 2020). Z drugiej zaś strony najczęstszymi motywacjami schorowanych, starszych osób do podejmowania aktywności fizycznej były czynniki, takiej jak aspekt społeczny i jasno określony cel (Spiteri i wsp., 2019). Można powiedzieć, że uczestniczenie w naszych badaniach przełamuje większość wyżej wymienionych barier, a jednocześnie odpowiada powyższym motywacjom. Bariera braku czasu do podejmowania codziennego spaceru przestała mieć znaczenie, gdyż jako dobrowolni uczestnicy badania, nasi pacjenci musieli wcześniej zaplanować swój czas i ocenić możliwości czasowe względem uczestnictwa w badaniu. Wyniki naszych badań są wynikami osób, którym udało się wygospodarować odpowiednią ilość czasu zarówno na aktywne przemieszczanie się do miejsca przeprowadzania zabiegów, jak i na sam w sobie zabieg. Bariera w postaci braku bezpiecznego miejsca do uprawiania aktywności fizycznej również została zniwelowana. Zabiegi odbywały się w dogodnych porach dnia. Miejsce przeprowadzania zabiegów można uznać za bezpieczne, gdyż odbywały się one w budynku usytuowanym wśród kompleksu infrastruktury uniwersyteckiej. Przeszkoda w postaci problemów fizycznych mogła zostać przełamana przez jedną z głównych motywacji do podejmowania aktywności fizycznej, jaką jest jasno określony cel. Pacjenci uczestniczyli w naszym badaniu wiedząc, że jest to badanie sprawdzające efektywność terapii w zmniejszaniu czynników ryzyka choroby tętnic obwodowych. Pomimo, że była to podwójnie ślepa próba, uczestnicy mogli mieć nadzieję na korzyści zdrowotne płynące z zabiegów. Można więc podejrzewać, że odczuwane problemy fizyczne tym bardziej motywowały pacjentów do podjęcia chodzenia i aktywnego przemieszczania się, aby skorzystać z zabiegów, które potencjalnie mogą zmniejszyć te dolegliwości. Podobnie bariera w postaci braku osoby towarzyszącej w regularnych ćwiczeniach mogła zostać przełamana przez kolejną, główną motywację do podejmowania aktywności fizycznej, jaką jest aspekt społeczny. Niewątpliwą, choć niezmierzalną korzyścią z uczestnictwa w badaniu, jaką

zaobserwowali badacze, były kształtujące się podczas zabiegów więzi społeczne między uczestnikami. Pacjenci będący w podobnym wieku, mający przynajmniej jeden wspólny temat do rozmów (ich choroba, dolegliwości zdrowotne) codziennie przebywali w jednym miejscu (poczekalnia oraz sala zabiegowa). Dzięki temu w szybkim czasie uczestnicy wszystkich grup badanych chętnie podejmowali rozmowy, dzieli się swoimi przeżyciami dnia poprzedniego. Wydaje się więc, że aspekt społeczny był zarówno motywatorem do uczestnictwa w badaniu, jak i do podejmowania aktywności związanej z przemieszczaniem się, aby dotrzeć do miejsca przeprowadzania zabiegów. W literaturze naukowej można znaleźć dowody na to, że wśród osób starszych aktywność podejmowana w określonym celu poprawia samopoczucie oraz jakość życia (Owen i wsp., 2021). Z kolei pozytywne zmiany w nastroju u osób starszych skutkują większą motywacją do podejmowania aktywności fizycznej. W ten sposób można zaobserwować napędzający się mechanizm promujący zwiększoną aktywność fizyczną. Uczestnicy naszego badania wpisują się w ten schemat - mieli oni określony cel (zmniejszenie dolegliwości spowodowanych chorobą tętnic obwodowych, uczestnictwo w badaniu), zaobserwowano wśród nich zarówno poprawę w jakości życia, jak i w podejmowaniu regularnego ruchu.

W naszym badaniu zaobserwowano pozytywny wpływ suchych kąpielii na sprawność fizyczną zmierzoną poprzez 6-minutowy test marszu. Sprawność fizyczna badanych mogła ulec poprawie dzięki zwiększonej aktywności fizycznej. The Cochrane Library to zbiór wysokiej jakości, niezależnych dowodów, które mają pomóc w podejmowaniu decyzji dotyczących opieki zdrowotnej. Niedawno opublikowany Cochrane Review doskonale podsumował dotychczasowe badania opublikowane na temat efektywności ćwiczeń w chorobie tętnic obwodowych (Lane i wsp., 2017). Generalnie potwierdził on ustalenia z poprzednich tego typu przeglądów, a mianowicie, że ćwiczenia mają znaczący pozytywny wpływ na czas chodzenia i odległość pokonaną marszowo u osób z chorobą tętnic obwodowych, w porównaniu z placebo lub zwykłą opieką. Średnia poprawa odległości i czasu chodzenia podczas ćwiczeń była klinicznie i statystycznie istotna. Efektywne programy zazwyczaj obejmowały fizjoterapię z nadzorowanymi ćwiczeniami dwa lub trzy razy w tygodniu przez 30 do 60 minut, z chodzeniem, ćwiczeniami nóg lub treningiem na bieżni. Niektóre programy zachęcały do dodatkowych ćwiczeń w domu. Metaanaliza wykazała, że grupa ćwicząca osiągnęła ogólną poprawę w zakresie maksymalnego dystansu marszu (MD 120,36 m; 95% CI 50,79-189,92, $p < 0,00007$; dane naukowe wysokiej jakości). Dane pokazują również ogólną poprawę czasu chodzenia u osób, które brały udział w programie ćwiczeń (MD 4,51 minuty; 95% CI 3,11-5,92; $p < 0,00001$; dowody naukowe

wysokiej jakości). Ponadto wyniki wskazują na 100% poprawę czasu marszu bez bólu, co ma ogromne znaczenie kliniczne. W jeszcze nowszej metaanalizie wykazano, że w przeciągu 6-miesięcznego okresu obserwacji uczestnicy z PAD przydzieleni do ćwiczeń w domu poprawili swój dystans 6-minutowego testu marszu o 43,2 m, a osoby przydzielone do nadzorowanych ćwiczeń na bieżni o 25,0 m (McDermott i wsp., 2020). Różnica w zmianie dystansu 6-minutowego testu marszu pomiędzy rodzajami ćwiczeń wyniosła około 18,2 m na korzyść ćwiczeń w domu (95% CI 0,2-36,2; $p=0,0478$).

Najważniejszym znaczeniem klinicznym poprawy możliwości fizycznych chodu jest fakt praktycznego zwiększenia aktywności fizycznej przez pacjentów z PAD. Najnowsza literatura jasno pokazuje, że zmiany w 6MWD po 6-miesięcznej terapii wysiłkowej korelują ze zmianami w codziennej aktywności fizycznej i samoocenie odległości chodu u pacjentów z PAD (McDermott i wsp., 2020). Warto zauważyć, że istotną korelację między zmianami w 6MWD a codzienną aktywnością fizyczną odnotowano po różnych rodzajach interwencji ruchowych, tych nadzorowanych, jak i po treningach chodzenia w warunkach domowych. Można więc wysnuć wniosek, że zbyt duże ograniczenia w możliwościach fizycznych stanowią barierę do wykonywania aktywnych prac domowych oraz rekreacyjnej aktywności. Usuwając lub zmniejszając tę barierę, pacjenci z PAD podejmują więcej aktywności na co dzień, co przekłada się zarówno na ich jakość życia, jak i parametry zdrowotne. Wyniki naszego badania mogą stanowić potwierdzenie dla powyższych wniosków. Ozonoterapia poprawiła czynniki ryzyka choroby tętnic obwodowych, zmniejszyła odczuwany ból oraz zastymulowała uczestników do zwiększonej aktywności fizycznej. Dzięki tym zmianom, sprawność fizyczna uległa poprawie, przez co pacjenci chętniej podejmowali codzienną aktywność fizyczną, aktywne prace domowe, rekreacyjny ruch, jak również lepiej oceniali jakość swojego życia.

Podstawowe mechanizmy, dzięki którym ćwiczenia mogą wpływać na poprawę parametrów zdrowotnych w przypadku choroby tętnic obwodowych, obejmują zwiększoną i bardziej efektywną dystrybucję przepływu krwi do nóg, poprawę właściwości reologicznych krwi, mniejszą zależność od metabolizmu beztlenowego i większe zużycie tlenu (Lane i wsp., 2017). Sugeruje się, że ćwiczenia poprawiają chodzenie wśród osób z PAD poprzez angiogenezę. Biomechanizmy, dzięki którym może to nastąpić, obejmują niedokrwienie, naprężenie statyczne ścinające i przebudowę mięśni szkieletowych. Naukowcy przeprowadzili rozległe badania nad zmianami zachodzącymi w mięśniach szkieletowych pacjentów z PAD w wyniku ćwiczeń. Zmiany te polegały na modyfikacji gęstości naczyń włosowatych, stosunku włókien typu I do typu II lub wzroście arteriogenezy i aktywności

mitochondriów (Wang i wsp., 2009). Wpływ choroby tętnic obwodowych na mięśnie szkieletowe kończyn dolnych staje się oczywisty, gdy skupimy się na codziennych zadaniach lub pomiarze siły. Osoby z PAD mają zmniejszoną siłę, wytrzymałość i zdolność kończyn dolnych do wykonywania zadań, tj. zgięcia kolana, zgięcia grzbietowego lub zgięcia poduszki stóp, w porównaniu ze zdrowymi osobami z grupy kontrolnej (Câmara i wsp., 2012). Osoby z chorobą tętnic obwodowych charakteryzują się również gorszą stabilizacją i zmniejszonymi zdolnościami utrzymania równowagi (Mockford i wsp., 2014). Ponadto osoby, które jednocześnie mają PAD i zmniejszoną siłę mięśni wykazują wyższą śmiertelność z wszystkich przyczyn, w tym chorób sercowo-naczyniowych (McDermott i wsp., 2011).

5. Ocena zależności ze wskaźnikiem kostka-ramię

5.1. Glukoza

Cukrzyca wraz z paleniem jest uważana za jeden z najsilniejszych czynników ryzyka PAD. W metaanalizie wykazano najwyższy iloraz szans posiadania obniżonych wartości ABI dla bieżącego palenia (iloraz szans 2,1), a następnie cukrzycy (iloraz szans 1,7). Badania Copenhagen City Heart Study i Copenhagen General Population Study wykazały liniowy wzrost ryzyka wystąpienia niskich wartości ABI przy wyższych stężeniach glukozy, począwszy od 94 mg/dl (Emanuelsson i wsp., 2020). Podobną zależność liniową odnotowano w badaniu Atherosclerosis Risk In Community dla stężenia glukozy na czczo, co sugeruje, że ryzyko PAD jest zwiększone również poniżej punktu odcięcia dla rozpoznania cukrzycy, wzrastając od normoglikemii do stanu przedcukrzycowego i cukrzycy (Ding i wsp., 2018).

Zależność pomiędzy cukrzycą a wartościami wskaźnika kostka-ramię ma znaczenie pod względem przebiegu choroby oraz następstw klinicznych. Pacjenci z zarówno cukrzycą typu II jak i $ABI \leq 0,9$ wykazują gorsze funkcjonowanie kończyn dolnych i są bardziej podatni na nagłe niedokrwienie spowodowane zakrzepicą czy też niedokrwienne owrzodzenie kończyny dolnej (Jude i wsp., 2001). Ponadto w amerykańskim badaniu kohortowym stwierdzono, że współczynnik ryzyka krytycznego niedokrwienia kończyny wynosił 10,3 (95% CI 4,8–22,5) u dorosłych w średnim wieku z rozpoznaną cukrzycą w porównaniu z osobami bez rozpoznania cukrzy. Tym samym pacjenci ci byli bardziej narażeni na amputację kończyn dolnych. To właśnie pośród osób z cukrzycą występuje ponad 50% amputacji. Ponadto, połączenie cukrzy i ABI o wartościach niższych niż 0,9 jest silnie związane z chorobami sercowo-naczyniowymi i mózgowo-naczyniowymi, które z kolei przekładają się na wysoki wzrost śmiertelności (Tsai i wsp., 2001). Leczenie pacjentów z jednoczesną chorobą tętnic obwodowych i cukrzycą jest droższe niż u pacjentów z PAD bez

cukrzycy. Badanie przeprowadzone w Wielkiej Brytanii wykazało znaczące różnice w kosztach procedur rewaskularyzacji (Jude i wsp., 2001).

Stężenia glukozy w osoczu są regulowane przez złożony system metaboliczny, w tym sprzężenie zwrotne między wydzielaniem insuliny z komórek β trzustki a tkankami wrażliwymi na insulinę. Zaburzenia homeostazy glikemii mogą być wywołane czynnikami środowiskowymi, takimi jak niezdrowa dieta czy brak aktywności fizycznej, jednak stężenie glukozy w osoczu jest również częściowo determinowane przez zmienność genetyczną (Kahn i wsp., 2014). Wyniki badań asocjacyjnych całego genomu pozwoliły na identyfikację wariantów genetycznych związanych z cechami glikemicznymi, które można wykorzystać do oceny przyczynowości w badaniach genetycznych (Scott i wsp., 2012). Niedawno zostało opublikowane badanie, w którym to zbadano związek między genetycznie podwyższonym stężeniem glukozy a ryzykiem wystąpienia obwodowych chorób makro- i mikro-naczyniowych w populacji ogólnej (Bycroft i wsp.,). Znalezione pozytywne związki przyczynowe z ryzykiem zawału mięśnia sercowego, retinopatii, neuropatii obwodowej i nefropatii cukrzycowej. W badaniu Atherosclerosis Risk In Community zidentyfikowano związek o podłożu genetycznym między zwiększonym stężeniem glukozy a grubością błony wewnętrznej i środkowej tętnicy szyjnej, co wskazuje, że genetycznie uwarunkowane stężenie glukozy może mieć wpływ na miażdżycę obwodową (Rasmussen-Torvik i wsp., 2011).

Sugeruje się, że zwiększone stężenia glukozy promuje proces miażdżycowy przez kilka mechanizmów prowadzących do dysfunkcji komórek śródbłonna i mięśni gładkich (Orasanu i Plutzky, 2009). W komórkach śródbłonna aorty indukowana hiperglikemią aktywacja czynników transkrypcyjnych zwiększa ekspresję cząsteczek adhezyjnych, czynników chemotaktycznych i adhezyjność monocytów, stymulując miażdżycowy proces zapalny (Piga i wsp., 2007). Glikacja białek sprzyja powstawaniu zaawansowanych produktów glikacji, co stymuluje tworzenie reaktywnych form tlenu oraz cząsteczek adhezyjnych i monocytów do wydzielania zapalnych cytokin (Wasserman i wsp., 2018). Ponadto glikacja cząsteczek LDL-cholesterolu występuje u osób z cukrzycą, stanem przedcukrzycowym i zespołem metabolicznym. Glikowany LDL ma zmniejszone powinowactwo do receptora LDL-cholesterolu, co może przyczyniać się do wzrostu stężenia LDL-cholesterolu i potencjalnie większej liczby cząstek LDL-cholesterolu podatnych na miażdżycę u osób ze zwiększonym stężeniem glukozy (Soran i Durrington, 2011). Badania kliniczne wykazały, że osoby z cukrzycą mają wyższy frakcyjny wskaźnik migracji cząsteczek LDL-cholesterolu przez ścianę tętnicy w porównaniu z osobami bez cukrzycy, co może przyczyniać się do zwiększonej miażdżycy (Kornerup i wsp., 2003).

Uważa się, że komórka śródbłónka jest głównym celem uszkodzeń wywołanych hiperglikemią w patogenezie dysfunkcji mikrokrążenia (Stehouwer, 2018). Komórki śródbłónka naczyń włosowatych niektórych narządów, w tym siatkówki, kłębuszka nerkowego, neuronów i komórek Schwanna w nerwach obwodowych, są bardziej podatne na ekspozycję na hiperglikemię, ponieważ są niewrażliwe na insulinę i nie mają mechanizmu regulującego transport glukozy przez błonę komórkową, co prowadzi do hiperglikemii wewnątrzkomórkowej (Orasanu i Plutzky, 2009). Sugeruje się, że hiperglikemia wewnątrzkomórkowa indukuje zwiększony przepływ w szlaku poliolowym, aktywację kinazy białkowej C, zwiększoną aktywność w szlaku heksozaminy i wewnątrzkomórkowe wytwarzanie produktów zaawansowanej glikacji, co prowadzi do zwiększonej produkcji reaktywnych form tlenu w mitochondriach (Brownlee, 2005). Podobnie jak hiperglikemia na komórki śródbłónka makro-naczyniowego, mechanizmy te wywołują kaskadę zmian komórkowych, promując dysfunkcję sygnalizacji komórkowej, zapalenie, dysfunkcję komórek śródbłónka i mięśni gładkich i zwężenie naczyń. Dysfunkcja komórek śródbłónka naczyń indukowana zwiększonym stężeniem glukozy jest częstą cechą początkowych zmian patofizjologicznych zarówno mikro-, jak i makroangiopatii (Emanuelsson i Benn, 2021). Dysfunkcyjny śródbłonek i hiperglikemia wewnątrzkomórkowa prowadzą do kilku dalszych zmian molekularnych, powodując specyficzne narządowo objawy choroby naczyniowej, które różnią się w zależności od kilku czynników, w tym wielkości naczynia i budowy ściany naczynia.

5.2. HDL-cholesterol

Niskie stężenie HDL-cholesterolu jest jednym z najsilniejszych lipoproteinowych czynników wykazujących korelację z ABI. W badaniu Framingham Offspring Study każde 5 mg/dl zmniejszenie stężenia HDL-cholesterolu wiązało się z 10% wzrostem ryzyka nieprawidłowego ABI (Murabito i wsp., 2002). Podobnie w Cardiovascular Health Study wykazano 1% wzrost prawdopodobieństwa $ABI \leq 0,9$ dla każdego 1 mg/dl spadku HDL-cholesterolu (Aday i Everett, 2019). W badaniu w Rotterdamie wzięło udział 6 450 osób w wieku 55 lat i starszych. Wykazano, że stężenia HDL-cholesterolu ≥ 35 mg/dl było związane z ilorazem szans 0,7 (95% CI 0,5-0,8) dla $ABI \leq 0,9$ w porównaniu do poziomów < 35 mg/dl (Meijer i wsp., 2000). Badacze w Edinburgh Artery Study zebrali dane dotyczące chromania przestankowego, ABI i przekrwienia reaktywnego u 1 592 mężczyzn i kobiet w wieku 55-74 lat (Fowkes i wsp., 1992). Każde zwiększenie stężenia HDL-cholesterolu o 15,5 mg/dl wiązało się ze względnym ryzykiem chromania przestankowego 0,7 (95% CI

0,5-1,0) i wzrostem ABI o 0,012 ($\pm 0,006$). Dane z badań Atherosclerosis Risk In Communities, Women's Health Study oraz Physicians' Health Study wykazały silne powiązanie z HDL-cholesterolem i indeksem kostka-ramię (Kou i wsp., 2021, van Capelleveen i wsp., 2017). Pomimo, że wszystkie pomiary lipidów generalnie wykazywały zależność dawka-odpowiedź, HDL-cholesterol (HR 1,39; 95% CI 1,16–1,67) oraz apolipoproteina E (HR 1,27; 95% CI 1,07–1,51) wykazały największy gradient spadku ABI (Kou i wsp., 2021). Analiza literatury naukowej pod względem podfrakcji lipidów sugeruje, że HDL-cholesterol jest głównym czynnikiem ryzyka związanym w PAD oraz niskim ABI. Nasze badanie jest zgodne z powyższymi ustaleniami.

Istnieje kilka unikalnych funkcji HDL-cholesterolu, które czynią go chroniącym przed miażdżycą. Po pierwsze, HDL-cholesterol działa jako nośnik zwrotnego transportu cholesterolu, co ułatwia regresję zmian miażdżycowych (Brites i wsp., 2017). Po drugie, HDL-cholesterol zawiera kilka enzymów, które hydrolizują utlenione lipidy, hamując tym samym peroksydację lipidów. Tymi enzymami są paraoksonaza-1, fosfolipaza A2 związana z lipoproteiną i acylotransferaza lecytynowo-cholesterolowa. Po trzecie, główne białko HDL-cholesterolu, apolipoproteina A1 (apoA1, ang. apolipoprotein A1), działa jako przeciwutleniacz, chroniąc LDL-cholesterol przed modyfikacją oksydacyjną. Ze względu na to, że apoA1 jest podatna na utlenianie, reaguje z utlenionymi centrami utworzonymi w apolipoproteinie B lub zmiata reaktywne formy tlenu przed zaatakowaniem apolipoproteiny B. Ponadto wykazano, że Met112 silnie reaguje na utleniacze, a modyfikacja tej reszty metioninowej zmniejsza zdolność wpływu cholesterolu (Cukier i wsp., 2017). Białka skoniugowane z utlenioną fosfatydylocholiną przeanalizowano po wcześniejszej inkubacji utlenionej fosfatydylocholiny znakowanej biotyną z ludzkim osoczem. Stwierdzono, że najczęściej wykrywanym białkiem docelowym utlenionej fosfatydylocholiny C jest apoA1 (Szapacs i wsp., 2008). Ponadto niedawno opublikowane badania sugerują, że HDL-cholesterol działa jako nośnik sfingozyno-1-fosforanu (S1P, ang. sphingosine-1-phosphate), gdzie S1P wiąże się z jednym z białek HDL-cholesterolu, apolipoproteiną M. Następnie S1P związany z apolipoproteiną M łagodzi stan zapalny i apoptozę w naczyniach oraz utrzymuje funkcję bariery śródbłonkowej (Kurano i Yatomi, 2018).

Ponieważ niski poziom HDL-cholesterolu w osoczu jest potwierdzonym czynnikiem ryzyka sercowo-naczyniowego, koncepcja terapeutycznego podnoszenia HDL-cholesterolu zyskała popularność kilkadziesiąt lat temu jako nowatorskie podejście do ograniczania chorób sercowo-naczyniowych (Kontush i Chapman, 2006). Jednak nacisk na HDL-cholesterol jako cel terapeutyczny okazał się niepowodzeniem, pomimo że próbowano wiele metod, w tym

z inhibitorami białka przenoszącego estry cholesterolu (CETP, ang. cholesterol ester-transfer protein), fibratami, niacyną i innymi środkami. Inhibitory CETP silnie zwiększają HDL-cholesterol, a słabiej obniżają LDL-cholesterol, triacyloglicerole i apolipoproteinę B, wywierając spektrum efektów klinicznych od szkodliwych, niecelowych do umiarkowanie korzystnych (Tall i Rader, 2018). Fibraty i niacyna umiarkowanie podnoszą poziom HDL-cholesterol, silniej redukują triacyloglicerole i mogą zmniejszać ryzyko sercowo-naczyniowe u pacjentów nieleczonych statynami (Keene i wsp., 2014). Jednak badania sugerują, że pacjenci leczeni statynami z podwyższonym poziomem triacylogliceroli i niskim HDL-cholesterolem mogą nadal odnosić korzyści ze stosowania fibratów i niacyny (Guyton i wsp., 2013). Ze względu na silniejsze działanie tych środków na triacyloglicerole, a nie na HDL-cholesterol, trudno nazwać tę terapię jako terapię mającą na celu głównym podwyższanie poziomu HDL-cholesterolu.

Negatywne wyniki badań zwiększających poziom HDL-cholesterolu mogą być częściowo wyjaśnione nadmiernym wzrostem tychże lipidów. Istnieją doniesienia naukowe mówiące o zwiększonej śmiertelności obserwowanej przy skrajnie wysokim poziomie HDL-cholesterolu (Hirata i wsp., 2018). Ponadto, kluczowe znaczenie ma to, że wszystkie współczesne wielkoskalowe badania kliniczne leków podwyższających HDL-cholesterol przeprowadzono wśród pacjentów leczonych statynami (Kontush, 2020). Natomiast wcześniejsze badania (przeprowadzone zanim zaczęto powszechnie stosować statyny) nie wykazały oczekiwanego korzystnego wpływu na choroby sercowo-naczyniowe poprzez podniesienie HDL-cholesterolu (Keene i wsp., 2014). Leki podnoszące HDL-cholesterol były skuteczne tylko przy wysokim wyjściowym poziomie LDL-cholesterolu (Kühnast i wsp., 2015).

5.3. Skurczowe i rozkurczowe ciśnienie tętnicze

Aktualna literatura dotycząca zależności ciśnienia tętniczego i choroby tętnic obwodowych jest niejednoznaczna. Wyniki większych randomizowanych badań kontroli ciśnienia krwi, takich jak The Appropriate Blood-Pressure Control in Diabetes (Mehler i wsp., 2003), Heart Outcomes Prevention Evaluation (Ostergren i wsp., 2004), oraz Randomized Trial of Intensive versus Standard Blood-Pressure Control (SPRINT Research Group i wsp., 2015) sugerują, że leczenie hipotensyjne w PAD zmniejsza zachorowalność i śmiertelność z przyczyn sercowo-naczyniowych. Pokazują również, że niższe docelowe wartości SBP ≤ 120 mmHg u pacjentów z wysokim ryzykiem incydentów sercowo-naczyniowych prowadzą do znacznie niższej częstości incydentów sercowo-naczyniowych.

Zostało to potwierdzone również w niedawnej metaanalizie małych prospektywnych badań wskazujących, że leczenie nadciśnienia wiązało się z poprawą objawów i wyników w chorobie tętnic obwodowych, jak również może być związane z poprawą niedokrwienia kończyn dolnych (Manapurathe i wsp., 2017). W badaniach tych została opisana liniowa zależność między wartościami skurczowego i rozkurczowego ciśnienia tętniczego a indeksem kostka-ramię. Nasze badanie jest zgodne z powyższymi doniesieniami naukowymi wykazując dokładnie taką samą korelację o słabej sile.

Zgodnie z powyższymi dowodami naukowymi, aktualne wytyczne zalecają agresywne leczenie nadciśnienia tętniczego w przypadku choroby tętnic obwodowych (Whelton i wsp., 2018). Niemniej jednak ze względu na ograniczoną ilość danych naukowych o PAD, obecne cele leczenia nadciśnienia tętniczego u pacjentów z PAD opierają się głównie na zaleceniach dla pacjentów z rozpoznaną chorobą sercowo-naczyniową i zakładają obniżenie ciśnienia do wartości <130/90 mmHg.

Chociaż nadciśnienie tętnicze jest czynnikiem ryzyka rozwoju choroby sercowo-naczyniowej i zwiększa ryzyko incydentów sercowo-naczyniowych (zwłaszcza udaru), w przypadku osób z rozpoznaną chorobą tętnic obwodowych wydaje się, że jednocześnie występowanie PAD i wysokiego ciśnienia tętniczego nie jest bezpośrednio związane ze zwiększonym ryzykiem incydentów sercowo-naczyniowych po zastosowaniu skorygowanej analizy i uwzględnieniu wartości wyjściowych czynników ryzyka i chorób współistniejących (Fudim i wsp., 2020). Utrata statystycznie istotnego związku z analizy jednej zmiennej do w pełni skorygowanej analizy wielu zmiennych nie jest zaskakująca, ponieważ skorygowana analiza jest uważana za bardziej wiarygodną. Fakt ten oznaczać może, że czynniki ryzyka i choroby współistniejące uwzględnione w modelu wieloczynnikowym były związane z historią nadciśnienia tętniczego. Ten brak związku prawdopodobnie świadczy o wysokiej częstotliwości występowania nadciśnienia i podkreśla znaczenie profilaktyki i konieczności efektywnej kontroli ciśnienia krwi w początkowych stadiach rozwoju tejże choroby.

Istnieją również doniesienia z małych prospektywnych i retrospektywnych badań nad nadciśnieniem, które sugerują potencjalny związek w kształcie litery U pomiędzy ciśnieniem krwi a krytycznym niedokrwieniem kończyn u pacjentów z PAD (Itoga i wsp., 2018). Zwiększony gradient perfuzji przez zwężone naczynia krwionośne predysponuje do niedokrwienia dystalnej kończyny, co teoretycznie sprawia, że pacjenci z PAD są szczególnie podatni na niskie ciśnienie układowe. Badanie Examining the Use of Ticagrelor in Peripheral Artery Disease jest największym badaniem z udziałem stabilnych pacjentów z objawową PAD (n=13 885), jakie kiedykolwiek przeprowadzono i może stanowić niezwykle

wiarygodne źródło informacji (Hiatt i wsp., 2017). Do tego badania włączono dużą populację z objawową postacią choroby tętnic obwodowych, u której nadciśnienie było bardzo powszechne, gdyż dotyczyło 78% populacji badania. Badanie to pokazało, że zarówno niskie, jak i wysokie SBP i DBP wiązało się ze wzrostem skorygowanego ryzyka zdarzeń sercowo-naczyniowych lub kończynowych. Wartości skurczowego ciśnienia tętniczego około 125 mmHg i rozkurczowego około 80 mmHg były związane z najniższym ryzykiem niekorzystnych wyników. Chociaż wyższe wartości SBP były statystycznie istotnie związane ze wzrostem ryzyka zdarzeń sercowo-naczyniowych lub kończynowych, nie było konkretnego punktu odcięcia dla niskich wartości SBP lub DBP związanych ze zwiększonym ryzykiem zdarzeń sercowo-naczyniowych lub kończynowych. Analiza wykazała związek w kształcie litery J między ciśnieniem krwi a zdarzeniami klinicznymi w okresie obserwacji 30 miesięcy. Najczęściej występującymi interwencjami klinicznymi w zakresie SBP >125 mmHg były zabiegi rewaskularyzacji. Inne badania z kolei pokazują, że u pacjentów z nadciśnieniem tętniczym i chorobą tętnic obwodowych, średnie SBP od 135 do 145 mmHg okazało się optymalnym, podczas gdy wartości poniżej jak i powyżej tego zakresu wiązały się ze zwiększonym ryzykiem zdarzeń sercowo-naczyniowych lub kończynowych (Bavry i wsp., 2010). W analizie Antihypertensive and Lipid-Lowering Treatment to Prevent Heart Attack Trial również oceniono związek SBP w podgrupie pacjentów z PAD (Itoga i wsp., 2018). Ryzyko wystąpienia incydentów kończynowych związanych z PAD (hospitalizacja, leczenie lub zgony związane z PAD) było większe u pacjentów z SBP <120 lub ≥ 160 mmHg. Podobnie pacjenci z DBP <70 mmHg byli bardziej narażeni na incydenty niedokrwienne PAD. Warto zauważyć, że w tym badaniu leczenie nadciśnienia było aktywnie dostosowywane podczas trwania obserwacji.

Częstość występowania PAD jak i nadciśnienia wzrasta i pozostaje poważnym problemem zdrowotnym, ale ponieważ nowe wytyczne American College of Cardiology/American Heart Association nie określają niedopuszczalnie niskiego ciśnienia krwi, przyszłe badania powinny skupić się na określeniu najskuteczniejszych oraz bezpiecznych wartości docelowych ciśnienia skurczowego i rozkurczowego dla pacjentów z chorobą tętnic obwodowych.

5.4. Całkowita aktywność fizyczna, umiarkowany wysiłek, sprawność fizyczną, czas spędzony siedząc

Analiza statystyczna wykazała istnienie korelacji pomiędzy indeksem kostka-ramię a całkowitą aktywnością fizyczną oraz umiarkowanym wysiłkiem naszej grupy badanych.

Wynik ten jest zgodny z dotychczas opublikowanymi doniesieniami naukowymi. W badaniu z udziałem 300 pacjentów z chorobą tętnic obwodowych sprawdzano efektywność programu rehabilitacyjnego, gdzie uczestnicy w warunkach domowych wykonywali dwie 10-minutowe sesje chodzenia oraz serię kilku podstawowych ćwiczeń (np. wstawanie z krzesła) (Malagoni i wsp., 2011). Program rehabilitacyjny trwał 12 miesięcy. Po tym czasie zaobserwowano znaczącą poprawę ABI (zmiana z $0,60 \pm 0,16$ do $0,64 \pm 0,18$, $p < 0,0001$). Przegląd Cochrane również wykazał zmianę w ABI (MD 0,04; 95% CI 0,00-0,08; $p = 0,06$; dane naukowe umiarkowanej jakości) na skutek programów zwiększających aktywności fizycznej pacjentów z PAD (Lane i wsp., 2017). Metaanaliza prób klinicznych badających długoterminowe zmiany (pomiar po trzech miesiącach od ukończenia programu treningowego) potwierdziła niewielką różnicę w ABI (MD 0,06; 95% CI 0,01-0,11, $p = 0,02$, dane naukowe umiarkowanej jakości). Chociaż w większości badań oceniano wyniki po trzech lub sześciu miesiącach, warto zauważyć, że badania wykazały również, że korzyści utrzymują się aż do dwóch lat.

Sprawność fizyczna w prezentowanych badaniach własnych, oceniona przy pomocy 6-minutowego testu marszu, była pozytywnie skorelowana ze wskaźnikiem kostka-ramię. Związek pomiędzy stopniem zaawansowania choroby tętnic obwodowych a sprawnością fizyczną został potwierdzony również przez inne doniesienia naukowe. W badaniach przekrojowych wykazano, że niektóre nietypowe objawy kończyn dolnych w PAD są związane z większym lub mniejszym upośledzeniem czynnościowym w porównaniu z tymi z klasycznymi objawami chromania przestankowego. Na przykład, w analizie przekrojowej pacjenci z PAD z bólem wysiłkowym nóg, który czasami zaczynał się w spoczynku (tj. ból podczas wysiłku i odpoczynku) mieli większe upośledzenie czynnościowe (McDermott i wsp., 2004). Natomiast pacjenci, którzy kontynuowali chodzenie podczas bólu wysiłkowego nóg mieli mniejsze upośledzenie funkcji w porównaniu z osobami z PAD z chromaniem przestankowym. W badaniu pokazano również, że pacjenci z PAD z bólem nóg podczas wysiłku i odpoczynku cechowali się częstszym występowaniem chorób współistniejących, takich jak zwyrodnieniowa choroba kręgosłupa, zwężenie kanału kręgowego czy zapalenie stawów kończyn dolnych, które również mogły mieć wpływ na objawy związane z chorobą tętnic obwodowych. Wyniki innego badania pokazały, że określone typy objawów w obszarze kończyn dolnych były związane z różnym stopniem utraty mobilności wśród pacjentów z chorobą tętnic obwodowych (McDermott i wsp., 2010). Osoby, które zawsze były bezobjawowe oraz te z wysiłkowym bólem nóg, który czasami zaczynał się w spoczynku, miały wyższy wskaźnik utraty mobilności w porównaniu z osobami bez PAD lub z osobami z klasycznymi objawami chromania przestankowego. Ponadto pacjenci z chorobą tętnic

obwodowych z bólem nóg podczas wysiłku i odpoczynku oraz ci z chromaniem przestankowym byli bardziej narażeni na utratę zdolności do chodzenia przez sześć minut w sposób ciągły. To samo badanie wykazało również, że uczestnicy z bólem nóg podczas wysiłku i odpoczynku częściej doświadczali $\geq 20\%$ spadku wydajności chodu podczas 6-minutowego marszu w porównaniu z uczestnikami bez PAD. Przedstawione powyżej wyniki sugerują, że pacjenci z PAD, którzy chodzą z intensywnością wywołującą objawy wysiłkowe nóg, oraz pacjenci z PAD, którzy chodzą pomimo bólu wysiłkowego, mają większe szanse na zachowanie sprawności ruchowej w miarę upływu czasu.

Mechanizmy patofizjologiczne leżące u podstaw gorszego fizycznego funkcjonowania obserwowanego u pacjentów z PAD są złożone i jeszcze nie do końca poznane. Jednak obecne dowody wskazują, że głównymi przyczynami są zarówno anatomiczne, jak i funkcjonalne nieprawidłowości naczyniowe, prowadzące do ograniczenia przepływu krwi podczas wysiłku oraz strukturalne i patofizjologiczne nieprawidłowości w mięśniach szkieletowych łydki, które powodują upośledzenie kurczliwości (McDermott, 2015). U pacjentów z hemodynamicznie istotną chorobą tętnic obwodowych, podczas spoczynku spadek obwodowego oporu naczyniowego utrzymuje odpowiedni przepływ krwi w mięśniach łydki pomimo obniżenia ciśnienia tętniczego dystalnie do zwężenia. Jednak podczas wysiłku zwężenie zapobiega znacznemu zwiększeniu przepływu krwi wymaganego do spełnienia wymagań metabolicznych tkanki mięśniowej i tym samym prowadzi do niedokrwienia mięśnia (Bragadeesh i wsp., 2005). Ta upośledzona odpowiedź hemodynamiczna jest dodatkowo zaburzona przez dysfunkcję śródbłonna i związaną z tym wadliwą wazorelaksację naczyń krwionośnych (Grenon i wsp., 2014). Dzieje się tak prawdopodobnie za pośrednictwem zwiększonego uwalniania silnego peptydu zwężającego naczynia, endoteliny-1 (Mangiafico i wsp., 2000).

W badaniach z użyciem tomografii komputerowej wykazano, że pacjenci z PAD mieli zmniejszoną powierzchnię mięśni łydki i wyższą zawartość tłuszczu w mięśniach łydki w porównaniu z zdrowymi osobami. Parametry te były bezpośrednio skorelowane ze stopniem niedokrwienia łydki (McDermott i wsp., 2009). Niewydolność tętnic może być także związana z dystalną neuropatią ruchową. Ciężkie niedokrwienie kończyn dolnych jest związane z upośledzeniem funkcji nerwu strzałkowego (McDermott i wsp., 2006). Uszkodzenie niedokrwienne włókien nerwowych kończyn dolnych może powodować demielinizację i utratę aksonów, co skutkuje dalszą utratą funkcji nerwów (Garg i wsp., 2011). Dysfunkcja nerwów obwodowych kończyn dolnych może bezpośrednio upośledzać unerwienie mięśni łydki. W konsekwencji osoby dotknięte chorobą mogą mieć zmienioną

powierzchnię mięśni łydki i gorszą charakterystykę mięśni łydek, co może prowadzić do ograniczeń funkcjonalnych (Resnick i wsp., 2000). Ponadto wykazano istotną różnicę w związku między szybkością przewodzenia nerwu strzałkowego a dystansem 6-minutowego testu marszu między pacjentami bez i z PAD (Garg i wsp., 2011). Znacząca różnica między uczestnikami z i bez choroby tętnic obwodowych została również zidentyfikowana w związku między amplitudą nerwu strzałkowego a obszarem mięśni łydki i procentową zawartością tłuszczu w mięśniach łydek. Możliwe jest również, że neuropatia ruchowa jest związana z atrofią mięśni szkieletowych wynikającej ze zmniejszonych poziomów aktywności fizycznej wykonywanej przez pacjentów z PAD.

W badaniach z wykorzystaniem mikroskopu elektronowego wskazano, że PAD wiąże się również z zniekształceniem i upośledzeniem funkcji mitochondriów w mięśniach łydki, co prowadzi do zmniejszonej gospodarki energii (Makris i wsp., 2007). Przyczyną tego zjawiska jest przynajmniej częściowe uszkodzenie włókien mięśniowych i mitochondriów przez wystąpienie niedokrwienia podczas aktywności mięśni łydki, po którym następuje powrót odpowiedniego dopływu krwi w spoczynku. Cykle niedokrwienia/reperfuzji prowadzą do szeregu zmian, a wśród nich powstania reaktywnych form tlenu, stresu oksydacyjnego i stanu zapalnego, aktywacji śródbłonna, dysfunkcji mitochondriów, zmian typu włókien mięśniowych, aktywacji apoptozy, czy też zwyrodnienie włókien mięśniowych (Treat-Jacobson i wsp., 2019).

Te strukturalne i funkcjonalne zmiany w obrębie mięśni wydają się mieć istotny wpływ na wyniki czynnościowe i rokowanie u pacjentów z PAD, a także związane są z utratą mobilności. Korelacje te istnieją także po uwzględnieniu czynników ryzyka i chorób współistniejących (McDermott i wsp., 2009). Regularna aktywność fizyczna prowadzi do obniżenia poziomu markerów stanu zapalnego, poprawy zależnego od śródbłonna rozszerzenia naczyń krwionośnych, zwiększenia gęstości naczyń włosowatych mięśnia brzuchatego łydki, oraz zmiany metabolizmu mięśni szkieletowych poprzez zwiększenie aktywności oksydacyjnej (Treat-Jacobson i wsp., 2019). Mnogość efektów treningu wysiłkowego tłumaczy jego kliniczną skuteczność.

Analiza wyników uczestników naszego badania wykazała negatywną, słabą korelację pomiędzy czasem spędzonym na siedząco o indeksem kostka-ramię. Zależność ta jest spójna z wcześniejszymi doniesieniami naukowymi. Przykładowo badanie przeprowadzone przez National Health and Nutrition Examination Survey wykazało, że dłuższy czas siedzenia związany jest z wyższym prawdopodobieństwem $ABI < 1,0$ u blisko 1,5 tysiąca bezobjawowych Amerykanów (OR 1,22; 95% CI 1,03–1,43; $p = 0,02$) (Kulinski i wsp., 2015).

Badanie pośród tysiąca Brytyjczyków wykazało, że dłuższy czas siedzenia jest związany z większym prawdopodobieństwem $ABI < 0,9$ (Parsons i wsp., 2016). Każde dodatkowe 30 minut siedzenia wiązało się z ilorazem szans 1,19 (95% CI 1,07-1,33) dla niskiego ABI. W dużym badaniu populacyjnym pośród 7,5 tysiąca Latynosów dłuższy czas spędzony na siedząco wiązał się z większym prawdopodobieństwem wystąpienia PAD, a zależność ta utrzymywała się po wzięciu pod uwagę czynników takich jak sprawność fizyczna, ból nóg i tradycyjne czynniki ryzyka PAD (Unkart i wsp., 2020). Ciągła zależność dawka-odpowiedź była nieliniowa i wskazywała, że większe szanse na PAD były związane z dłuższym czasem siedzenia dla osób powyżej mediany czasu siedzenia ($\geq 12,2$ godzin/dzień). Nieliniowa zależność dawka-odpowiedź została zaobserwowana również w metaanalizie dziewięciu badań kohortowych z udziałem 720 tysięcy osób (Pandey i wsp., 2016). Wyniki ukazały nieliniową zależność między czasem siedzenia a wystąpieniem incydentu choroby sercowo-naczyniowej (HR 1,08; 95% CI 1,00–1,14), przy czym istotne powiązania pojawiały się po >10 godzinach czasu siedzenia. Kolejne doniesienia naukowe podkreśliły związek między nawykiem siedzenia a pogorszeniem funkcjonowania fizycznego i pogorszeniem chromania przestankowego pośród pacjentów z chorobą tętnic obwodowych (McDermott i wsp., 2011). Mówiąc dokładniej, większa liczba godzin spędzonych w pozycji siedzącej dziennie i większa łączna liczba godzin siedzących w ciągu dnia (zarówno w pozycji siedzącej, jak i leżącej) wiązały się z większymi średnimi rocznymi spadkami sprawności fizycznej, zwykłej prędkości marszu i prędkości marszu najszybszego tempa.

Korelacja pomiędzy większą liczbą godzin siedzących w ciągu dnia z szybszym spadkiem czynności może być wytłumaczona poprzez pogorszenie sprawności układu krążenia, nasilenie stanu zapalnego, upośledzenie funkcji mitochondriów mięśni łydki oraz większą progresję miażdżycy kończyn dolnych u pacjentów z PAD, którzy prowadzili siedzący tryb życia (McDermott i wsp., 2011). Ponadto długotrwała ekspozycja na siedzenie może sprzyjać dysfunkcji śródbłónka (Padilla i Fadel, 2017). Co ważne, dysfunkcja śródbłónka jest uważana za główną cechę inicjacji i progresji zmian miażdżycowych (Widlansky i wsp., 2003). Dysfunkcja śródbłónka będąca wynikiem długotrwałego siedzenia jest specyficzna dla układu naczyniowego nóg, czyli nie objawia się w kończynach górnych np. w tętnicy ramiennej (Thosar i wsp., 2014). Jest również przejściowa, a więc wznowienie chodzenia po okresie siedzenia przywraca normalną funkcję naczyniową nóg (Restaino i wsp., 2015). Jednak fakt krótkoterminowego zaistnienia dysfunkcji śródbłónki nie powinien być traktowany jako nieistotny, ponieważ w obecnych czasach przeciętna osoba spędza większą część dnia w pozycji siedzącej (Healy i wsp., 2008). Oznacza to, że śródbłonek tętnic

przewodzących kończyn dolnych może wykazywać dysfunkcyjny fenotyp przez większą część dnia. Przejściowy i powtarzający się charakter dysfunkcji śródbłonka kończyn dolnych spowodowany siedzeniem przypomina także przejściowe upośledzenie funkcji śródbłonka w stanie poposiłkowym (Wallace i wsp., 2010). Powtarzający się poposiłkowy stres oksydacyjny i w jego następstwie dysfunkcja śródbłonka jest jednym z kluczowych inicjatorów w etiologii chorób sercowo-naczyniowych. Podobnie waskulopatia w przypadku długotrwałego siedzenia, nawracające i przedłużające się epizody dysfunkcji śródbłonka tętnic kończyn dolnych, związane z przedłużającym się siedzeniem, mogą przyczyniać się do genezy PAD kończyn dolnych. Interesującą obserwacją jest to, że szkodliwy wpływ długotrwałego siedzenia na funkcję śródbłonka nóg wydaje się być mniej znaczący u młodych dorosłych kobiet niż u mężczyzn (Vranish i wsp., 2017).

Ważnym i szeroko udowodnionym faktem jest to, że podczas siedzenia przepływ krwi w nogach jest znacznie zmniejszony. Jednocześnie naprężenie ścinające jest ważnym sygnałem fizjologicznym dla utrzymania zdrowia śródbłonka (Davies, 2009). Liczne doniesienia naukowe podkreślają, że zapobieganie redukcji naprężeń ścinających podczas długotrwałego siedzenia znosi upośledzenie przepływu krwi w tętnicy podkolanowej. Oznacza to, że w dysfunkcji śródbłonka nóg wywołanej siedzeniem pośredniczy zmniejszenie naprężenia ścinającego (Restaino i wsp., 2016). Co najważniejsze, mechanizm ten znajduje kliniczne potwierdzenie. Okazuje się, że gdy aktywne osoby przyjęły siedzący tryb życia, charakteryzujący się nadmiernym siedzeniem i zmniejszoną liczbą kroków (zmiana z >10 000 do <5 000) przez pięć dni, dysfunkcja śródbłonka objawiła się w tętnicach podkolanowych, ale nie ramiennych (Boyle i wsp., 2013). Dzieje się tak gdyż, w pozycji siedzącej nogi podlegają większemu zmniejszeniu przepływu krwi, a tym samym naprężeniom ścinającym tętnic, w porównaniu z kończynami górnymi. Powyższe badanie dowodzi więc, że naprężenie ścinające jest rzeczywiście podstawowym czynnikiem pośredniczącym w dysfunkcji śródbłonka wynikającej z siedzącego trybu życia.

5.5. Dieta

W literaturze naukowej istnieje coraz więcej dowodów z badań eksperymentalnych i klinicznych, z których wynika, że dieta ma ogromny wpływ na procesy miażdżycowe. Dieta wpływa nie tylko na poziom lipidów we krwi, ale może również modulować procesy immunologiczne i zapalne obecne w nabłonku, które wpływają na rozwój blaszki miażdżycowej u pacjentów z PAD (Lane i wsp., 2008). Jednak nadal wiele badań klinicznych podaje sprzeczne wyniki w odniesieniu do suplementacji określonych składników

odżywczych (Carrero i Grimble, 2006). Natomiast wytyczne dietetyczne są często dostosowane do ogólnego stanu zdrowia układu sercowo-naczyniowego i nie koncentrują się konkretnie na chorobie tętnic obwodowych. Dlatego też tak ważnym jest, aby przyjrzeć się nawykom żywieniowym pacjentów z chorobą tętnic obwodowych oraz zidentyfikować zależności pomiędzy poszczególnymi składnikami odżywczymi a ryzykiem rozwoju PAD. Warto również podkreślić, że w porównaniu z innymi behawioralnymi (a tym samym modyfikowalnymi) czynnikami ryzyka (brak aktywności fizycznej, nadużywanie narkotyków i alkoholu, palenie tytoniu itp.) zmieniona dieta jest najskuteczniejszym sposobem zapobiegania przedwczesnym zgonom z powodu chorób sercowo-naczyniowych w Regionie Europejskim WHO (GBD 2016 Risk Factors Collaborators, 2017).

W naszym badaniu zaobserwowano występowanie pozytywnej korelacji pomiędzy ABI a spożyciem owoców takich jak awokado ($r=0,24$), oliwki ($r=0,45$), kiwi i cytrusy ($r=0,17$). Literatura naukowa potwierdza powyższą zależność, jednocześnie podkreślając, że spożycie owoców poniżej 200–300 g dziennie powoduje zwiększenie ryzyka śmierci spowodowanej zaburzeniami sercowo-naczyniowymi (Meier i wsp., 2019). Dane statystyczne pokazały, że w Europie tylko w 2016 roku dieta uboga w owoce spowodowała blisko 262 tys. śmierci z powodu choroby układu krążenia. Doniesienie naukowe dotyczące korzyści ze spożywania owoców są zgodne w przypadku chorób sercowo-naczyniowych, chociaż istnieją sugestie różnic w zależności od obszaru naczyniowego. Na przykład wielokrotnie zaobserwowano odwrotny związek spożycia owoców z chorobą niedokrwienną serca (Wang i wsp., 2014). Zmniejszenie ryzyka udaru mózgu jest również spójne i wręcz potencjalnie większe niż w przypadku choroby wieńcowej (He i wsp., 2007). Badanie nad tętniakiem aorty brzusznej także wykazało odwrotny związek pomiędzy występowaniem choroby a spożyciem owoców (Stackelberg i wsp., 2013). Pozytywna korelacja pomiędzy spożyciem owoców a ABI, występująca w naszym badaniu, jest obserwacją zgodną z wcześniejszymi doniesieniami naukowymi. W dużym przekrojowym badaniu wśród 1,6% populacji Amerykanów wykazano związek większej częstotliwości spożywania owoców z mniejszym prawdopodobieństwem występowania PAD, zdefiniowanego przez nieprawidłowy ABI lub historię wcześniejszej rewaskularyzacji kończyny dolnej (Heffron i wsp., 2015). Warto zauważyć, że niestety mniejszość uczestników zgłosiła spożywanie co najmniej trzech porcji owoców i warzyw dziennie. Zależność była silniejsza dla niższych wartości ABI oraz osób, które były obecnymi lub byłymi palaczami papierosów. Badanie Health Professionals Follow-Up Study również potwierdziło stopniową redukcję ryzyka wystąpienia PAD wraz ze wzrostem spożycia owoców (Hung i wsp., 2003). Zależność tą można dokładniej rozpatrywać

w kontekście literatury dotyczącej korelacji pomiędzy chorobą tętnic obwodowych a błonnikiem pokarmowym (w który bogate są owoce), nienasyconymi kwasami tłuszczowymi (tłuszczami, które są dominujące w awokado i oliwkach) oraz witaminą C (którą w dużych ilościach można znaleźć w kiwi i cytrusach). Przypuszcza się również kilka innych mechanizmów wyjaśniających ochronę przed chorobami sercowo-naczyniowymi nabytą przy częstym spożywaniu owoców. Jednym z nich jest kwas salicylowy obecny w tych produktach. Kwas salicylowy to naturalny związek fenolowy znany również jako aktywny składnik aspiryny. Jego obecność w źródłach roślinnych powoduje, że spożycie owoców powoduje wyższe stężenia kwasu salicylowego w surowicy. W badaniu klinicznym wykazano, że krążący we krwi kwas salicylowy był istotnie związany ze spożyciem owoców, zarówno ze średnim dziennym spożyciem ($r=0,13$; $p=0,03$), jak i ze spożyciem ostatniego dnia ($r=0,16$; $p=0,01$) (Spadafranca i wsp., 2007). Osoby w najwyższym kwartylu spożycia owoców w poprzednim dniu ($>4,75$ porcji) miały istotnie wyższe stężenia kwasu salicylowego niż w najniższym kwartylu ($<2,3$ porcji) (stężenia odpowiednio 0,188 i 0,112 $\mu\text{mol/l}$; $p=0,04$). Kolejnym proponowanym mechanizmem jest redukcja masy ciała, która jest osiągnięta poprzez większe spożycie owoców, a jednocześnie wywołuje protekcyjne działanie przeciwko występowaniu PAD. Jednak ta hipoteza nie ma mocnych podstaw dowodowych (Ledoux i wsp., 2011) i jej słuszność wydaje się być uzależniona od zastąpienia kalorycznie-gęstych, ubogich w błonnik i witaminy pokarmów przez owoce (Mytton i wsp., 2014).

Błonnik pokarmowy to niejednorodny składnik żywności składający się z różnych substancji roślinnych. Błonnik pokarmowy zazwyczaj zawiera polisacharydy nieskrobiowe, celulozę i hemicelulozę, oligosacharydy, pektyny, gumy i woski (James i wsp., 2003). Niejednorodny charakter błonnika oznacza, że można spodziewać się, że fizjologiczne skutki zwiększenia spożycia błonnika będzie wywierać różne skutki fizjologiczne, z czego nie wszystkie będą miały bezpośrednie znaczenie dla choroby tętnic obwodowych. Błonnik powoduje na przykład poprawę wypróżnień (częstotliwości i konsystencji) czy zahamowanie karcynogenezy, ale także obniżenie stężenia cholesterolu we krwi, poprawę kontroli glikemii oraz zwiększenie sytości, a tym samym zmniejszenie masy ciała, co ma już większy wpływ na PAD. W ostatnich latach wiele uwagi poświęca się roli błonnika pokarmowego w zapobieganiu chorobom układu krwionośnego. Zbiorcza analiza ponad dziesięciu badań kohortowych zajmujących się tym tematem wykazała ochronny wpływ błonnika pokarmowego względem udaru, zawału mięśnia sercowego i śmierci z powodów choroby wieńcowej (Pereira i wsp., 2004). W duże, prospektywnym badaniu wykazano negatywną korelację między spożyciem pokarmów bogatych w błonnik a rozwojem choroby wieńcowej

i udaru mózgu (Diehr i Beresford, 2003). Obecne zalecenia żywieniowe mówią, że spożycie błonnika poniżej 19–28 g/dzień powoduje zwiększenie ryzyka śmierci spowodowanej chorobami sercowo-naczyniowymi (Meier i wsp., 2019). Dane statystyczne pokazały, że w Europie tylko w 2016 roku dieta uboga w błonnik spowodowała ponad 120 tys. śmierci z powodu chorób układu krążenia.

Doniesienia naukowe pokreślają, że bardzo niewiele osób z PAD i chromaniem przestankowym, zwłaszcza pośród tych palących, spełniało dzienne zalecenia dotyczące błonnika pokarmowego (Gardner i wsp., 2011). Wskazuje to, że pacjenci z PAD mają dietę ubogą w owoce, jak również w warzywa, rośliny strączkowe i produkty pełnoziarniste. Błonnik może być korzystny w zmniejszaniu stanu zapalnego. Istnieje silny związek między zwiększonym spożyciem błonnika a niższym poziomem białka C-reaktywnego (King i wsp., 2003). Istnieją dowody naukowe, które wykazały, że spożywanie pokarmów bogatych w błonnik wiązało się z mniejszą częstością występowania również innych czynników ryzyka PAD, takich jak nadciśnienie tętnicze, otyłość i cukrzyca typu II (Bazzano i wsp., 2003). Wynika z tego, że błonnik pokarmowy może mieć działanie ochronne przed rozwojem PAD. Pozytywny związek między błonnikiem zbożowym a ABI wykazano w badaniu Edinburgh Artery, The Health Professional's Follow-up Study oraz w raporcie analizującym dane z National Health and Nutrition Examination Survey (Lane i wsp., 2008, Merchant i wsp., 2003). Obserwacja fińskich palaczy pokazała odwrotny związek pomiędzy spożyciem błonnika a PAD (Törnwall i wsp., 2000). Głównym źródłem błonnika pokarmowego w tym badaniu był jednak chleb żytni, więc wyniki są prawdopodobnie spowodowane błonnikiem zbożowym, a nie owocowym. Na podstawie powyższych wyników można wywnioskować, że korzyści z błonnika pokarmowego zależą od dawki. Zatem osoby z PAD i chromaniem przestankowym mogą odczuć pewne korzyści sercowo-naczyniowe poprzez zwiększenie spożycia błonnika, co może objawiać się zmniejszeniem stanu zapalnego oraz poprawą funkcji makronaczyniowej i mikronaczyniowej. Potencjalne korzyści wynikające ze zwiększenia spożycia błonnika pokarmowego mogą być zwiększone u osób palących.

Chociaż rozważano kilka etiologii, mechanizmy biologiczne, dzięki którym dieta bogata w błonnik może wywierać korzystny wpływ na układ sercowo-naczyniowy, dokładny mechanizm działania nie jest do końca poznany. Do tej pory niewiele badań zajmowało się epidemiologicznym powiązaniem między błonnikiem a PAD. Postawiono jednak hipotezę, że w widocznym korzystnym wpływie spożycia błonnika na PAD pośredniczy obniżony poziom cholesterolu, zwłaszcza dzięki rozpuszczalnemu błonnikowi, oraz obniżona aktywność inhibitora aktywatora plazminogenu typu 1 i czynnika VII (Carrero i Grimble, 2006). Inne

opisane efekty, dzięki którym spożycie błonnika może chronić przed PAD, to: (1) zwiększona wrażliwość na insulinę, ponieważ spożycie błonnika poprawia wrażliwość na insulinę poprzez spowolnienie wchłaniania składników odżywczych z jelit; (2) obniżenie poziomu glikemii; (3) wytwarzanie krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych przez bakterie jelitowe, co w konsekwencji obniża wartości ciśnienia tętniczego, poprawia metabolizm glukozy, jak również jest związane z niższym stężeniem LDL-cholesterolu i triacylogliceroli oraz wyższym stężeniem HDL-cholesterolu.

Oliwki szczególnie obficie występują w diecie śródziemnomorskiej. Oliwa z oliwek w tej diecie częściowo zastępuje szereg tłuszczów spożywanych w krajach zachodnich, w tym te bogate w nasycone kwasy tłuszczowe i omega-6. Coraz więcej dowodów sugeruje, że taka zmiana udziału tłuszczu w diecie może przynosić korzyści zdrowotne, w tym zmniejszenie czynników ryzyka chorób układu krążenia oraz modyfikację odpowiedzi immunologicznej i zapalnej (Carrero i Grimble, 2006). Terapeutyczne właściwości oliwy z oliwek często przypisuje się jej wysokiemu poziomowi jednonienasyconych kwasów tłuszczowych (MUFA, ang. monounsaturated fatty acids), ale i innym mniejszym składnikom, w tym przeciwutleniaczom i fitoskładnikom. Oliwa z oliwek ma tę zaletę, że jest mniej podatna na utlenianie niż oleje bogate w wielonienasycone kwasy tłuszczowe (PUFA, ang. polyunsaturated fatty acids). Wykazano, że oliwa z oliwek obniża całkowity poziom cholesterolu oraz LDL-cholesterolu w osoczu w podobnym stopniu jak wielonienasycone kwasy tłuszczowe (Stark i Madar, 2002). Mówiąc o pozytywnym działaniu oliwy z oliwek trudno nie wspomnieć o działaniu antyoksydacyjnym. Dowiedziono również, że oliwa z oliwek ma korzystny wpływ na ciśnienie krwi oraz modyfikuje odpowiedź immunologiczną (Alarcón de la Lastra i wsp., 2001). Jednak, co najważniejsze, dowody naukowe potwierdzają zaobserwowaną przez nas zależność i sugerują, że spożycie oliwy z oliwek jest wskazane w chorobie tętnic obwodowych. W dużym badaniu z udziałem ponad 8,5 tysiąca osób wykazano, że dieta śródziemnomorska z dodatkiem oliwy z oliwek z pierwszego tłoczenia obniża prawdopodobieństwo wystąpienia choroby tętnic obwodowych o blisko 70% (HR 0,32; 95% CI 0,19–0,56) (Ruiz-Canela i wsp., 2014). Z kolei w randomizowanym, naprzemiennym badaniu porównano wpływ oliwy z oliwek z pierwszego tłoczenia i rafinowanej oliwy z oliwek u mężczyzn z PAD (Carrero i Grimble, 2006). Zasadniczo oleje różniły się profilem antyoksydacyjnym (α -tokoferol 300 vs 200 mg/kg, związki fenolowe 800 vs 60 mg/kg) i stężeniem, ale nie składem kwasów tłuszczowych. Po interwencji odporność cząsteczek LDL-cholesterolu na utlenianie była wyższa po spożyciu oliwy z oliwek z pierwszego tłoczenia, ale nie po spożyciu rafinowanej oliwy z oliwek, co sugeruje, że

przeciwutleniacze obecne w oliwie z oliwek z pierwszego tłoczenia mogą być odpowiedzialne za ochronę LDL-cholesterolu przed utlenianiem.

Zgodnie z wynikami uzyskanymi w naszym badaniu, analiza literatury naukowej pozwala na stwierdzenie, że zwiększone spożycie witamin A, C i E jest związane ze zmniejszonym prawdopodobieństwem wystąpienia PAD. Witamina C (kwas askorbinowy) jest rozpuszczalnym w wodzie przeciwutleniaczem, najczęściej występującym w owocach cytrusowych. Jest dobrze znany ze swojej roli w zapobieganiu szkorbutowi, a także ze swojego znaczenia w funkcjonowaniu układu odpornościowego i utrzymywaniu korzystnego stanu redoks. Wcześniejsze badania kliniczne wykazały, że poziom witaminy C jest zmniejszony u pacjentów z PAD i koreluje ze skróceniem dystansu chodzenia, ogólnoustrojowym stanem zapalnym oraz ciężkością choroby (Langlois i wsp., 2001). Witamina C łagodzi uszkodzenia mięśni wywołane reperfuzją. Możliwe jest, że witamina C jest skuteczna w leczeniu PAD poprzez przywrócenie funkcji śródbłonna. Wykazano, że witamina C zapobiegała dysfunkcji śródbłonna podczas wysiłku fizycznego u pacjentów z chroaniem przestankowym (Silvestro i wsp., 2002). W badaniu z udziałem pacjentów z niedokrwieniem mięśni szkieletowych suplementacja witaminą C spowodowała zachowanie funkcjonalności mięśni i zmniejszenie ekspresji rozpuszczalnej wewnątrzkomórkowej cząsteczki adhezyjnej-1, infiltracji neutrofilii, jak również zahamowanie obrzęku (Kearns i wsp., 2004). Z kolei w badaniu pośród przedoperacyjnych pacjentów wieńcowych wykazano, że witamina C działała także jako silny środek rozszerzający naczynia krwionośne w tętnicach promieniowych (Drossos i wsp., 2003). Powyżej omówione badania dostarczają pewnych dowodów na zalecanie stosowania suplementacji witaminy C lub przynajmniej sugerują konieczność bardziej szczegółowych badań w celu wyjaśnienia tego tematu. Dotychczasowo nie wszystkie badania kliniczne, dotyczące suplementacji witaminy C, wykazały pozytywny wpływ na rozwój choroby tętnic obwodowych. Przykładowo w długotrwałej obserwacji suplementacja witamin E i C nie wykazała żadnej poprawy funkcji śródbłonna obwodowego (Kinlay i wsp., 2004).

W naszym badaniu zaobserwowano pozytywną zależność pomiędzy ABI a spożyciem orzechów ($r=0,32$) oraz ziaren dyni, sezamu, słonecznika i zarodków pszennych ($r=0,25$). Aktualna literatura naukowa potwierdza powyższą obserwację. Duża metaanaliza podsumowująca żywienie ludzi w 51 krajach wykazała, że spożycie orzechów i ziaren poniżej 16–25 g/ dzień powoduje zwiększenie ryzyka śmierci spowodowanej chorobami sercowo-naczyniowymi (Meier i wsp., 2019). Dane statystyczne pokazały, że w Europie tylko w 2016 roku dieta uboga w orzechy i ziarna spowodowała ponad 340 tys. śmierci z powodu chorób

układu krążenia. Spożywanie orzechów poprawia profil lipidowy (Sabaté i wsp., 2010), nadciśnienie oraz funkcje śródbłonna (Casas-Agustench i wsp., 2011), jak również wiąże się z niższymi poziomami markerów stanu zapalnego (Jiang i wsp., 2006) i zmniejsza rozwój cukrzycy (Salas-Salvadó i wsp., 2011). Przyglądając się bliżej poprawie powyższych czynników ryzyka PAD dzięki spożywaniu orzechów, warto zauważyć, że spożywanie 67 g orzechów dziennie spowodowało obniżenie cholesterolu całkowitego o 10,9 mg/dl (zmiana o 5,1%), LDL-cholesterolu o 10,2 mg/dl (zmiana o 7,4%), triacyloglicerole o 20,6 mg/dl (zmiana o 10,2%), stosunku LDL-cholesterolu do HDL-cholesterolu o 0,22 (zmiana o 8,3%) oraz stosunku całkowitego cholesterolu do HDL-cholesterolu o 0,24 (zmiana o 5,6%) (Sabaté i wsp., 2010). Efekt spożycia orzechów jest zależny od dawki. Co ciekawe, różne rodzaje orzechów miały bardzo podobny wpływ na poziom lipidów we krwi. Jeżeli chodzi o markery stanu zapalnego, analiza ponad 6 tysięcy osób wykazała, że częstsze spożycie orzechów związane było z obniżeniem następujących średnich poziomów biomarkerów w kategoriach wzrastającego spożycia: białko C-reaktywne: 1,98; 1,97; 1,80; 1,72 mg/l; interleukina-6: 1,25; 1,24; 1,21; 1,15 pg/ml; oraz fibrynogen: 343; 338; 338; 331 mg/dl (wszystkie $p < 0,01$) (Jiang i wsp., 2006). Czteroletnia obserwacja 418 osób pozwoliła na ukazanie wpływu jedzenia orzechów na wystąpienie cukrzycy typu II (HR 0,48; 95% CI 0,24–0,96) (Salas-Salvadó i wsp., 2011). Co najważniejsze poprawa czynników ryzyka ma rzeczywiste przełożenie na występowanie chorób układu krążenia. Częstsze spożywanie orzechów wiąże się z mniejszą częstością występowania choroby wieńcowej (Kris-Etherton i wsp., 2008), zawału mięśnia sercowego oraz niższą śmiertelnością ogólną i sercowo-naczyniową (Ellsworth i wsp., 2001). Duże, przekrojowe badanie potwierdziło związek pomiędzy spożyciem orzechów a ryzykiem wystąpienia choroby tętnic obwodowych. Analiza ponad trzech tysięcy osób w wieku średnio 63 lat wykazała zmniejszone o 21% ryzyko wystąpienia PAD u osób, które codziennie jedzą orzechy (Heffron i wsp., 2015). Związek ten został również zaobserwowany w grupie The Prevencion con Dieta Mediterranea, gdzie uczestnicy spożywali dietę śródziemnomorską uzupełnioną orzechami (Ruiz-Canela i wsp., 2014). W badaniu tym porównywano dietę śródziemnomorską z dodatkiem oliwy z oliwek z pierwszego tłoczenia z dietą śródziemnomorską z dodatkiem orzechów oraz z grupą kontrolną. W grupie spożywającej dodatkowe porcje orzechów ryzyko wystąpienia PAD zostało obniżone o blisko 50% (HR 0,51; 95% CI 0,32–0,83). Przyglądając się bliżej wpływowi orzechów, warto zwrócić uwagę na rolę wielonienasyconych kwasów tłuszczowych oraz mikroelementów, takich jak witamina E.

Wielonienasycone tłuszcze (PUFA, ang. polyunsaturated fatty acids) to głównie kwasy omega-3, powszechnie pozyskiwane z ryb i orzechów, pestek, ziaren oraz omega-6, które znajdują się w oliwie z oliwek, jak i w orzechach, pestkach, ziarnach. Pierwotna rola PUFA w zmniejszaniu ryzyka sercowo-naczyniowego wynika głównie z działania przeciwzapalnego. Zarówno PUFA omega-3, jak i omega-6 uczestniczą w szlaku kwasu arachidonowego i zmieniają stosunek produkcji prostaglandyn i leukotrienów (Calder, 2004). Eksperymentalnie wykazano, że to przeciwzapalne działanie omega-3 i 6 pomaga stabilizować blaszkę miażdżycową i promować naprawę blaszki (Thies i wsp., 2003). Uważa się, że efekt ochronny obserwowany w diecie śródziemnomorskiej zawdzięczamy kwasom tłuszczowym omega-6, zwłaszcza w postaci oliwy z oliwek. Wykazano, że oliwa z oliwek obniża poziom cholesterolu w osoczu i cholesterolu lipoprotein o niskiej gęstości w surowicy, a także ma działanie przeciwzapalne (Stark i Madar, 2002). Ponadto badania epidemiologiczne pokazują, że osoby z PAD mają zmniejszone spożycie PUFA. Odzwierciedla to ogólnie złe odżywianie pacjentów z PAD. W jednym z badań epidemiologicznych działanie ochronne PUFA przeciwko PAD zostało potwierdzone (OR 0,68; $p = 0,001$). W analizach kwantylowych nie zaobserwowano żadnych korzyści w zakresie wyższego poziomu tłuszczu. Odkrycia te potwierdzają rekomendacje Food and Drug Administration, że dieta uboga w tłuszcze nasycone i bogata w PUFA (zwłaszcza omega-3) zapewni efekt ochronny przed chorobą tętnic obwodowych. Obecne zalecenia żywieniowe proponują udział PUFA w całkowitym dziennym zapotrzebowaniu energetycznym na poziomie 9 – 13% w celu redukcji ryzyka śmierci spowodowanej chorobą układu krążenia (Meier i wsp., 2019).

Witamina E (tokoferol) jest związany z błoną przeciwutleniaczem, który został powiązany z redukcją uszkodzeń komórek obserwowanych w chorobach sercowo-naczyniowych. Występuje najczęściej w orzechach, olejach roślinnych i rybach. Suplementacja witaminą E jest od dawna stosowana jako profilaktyka chorób układu krążenia. Witamina E może poprawić tolerancję na niedokrwienie, które występuje w kończynach dolnych, gdyż eliminuje wolne rodniki (Carrero i Grimble, 2006). Może również wpływać na proces miażdżycy poprzez zatrzymanie dalszego progresu zmian chorobowych. Wykazano, że pacjenci z chorobą niedokrwinną serca i pacjenci z chorobą tętnic obwodowych mają wyższe stężenia nadtlenku lipidów w osoczu. Hamowanie peroksydacji przez witaminę E może korzystnie wpływać na równowagę między uszkodzeniami peroksydacyjnymi a mechanizmami naprawczymi organizmu. Witamina E może wpływać na agregację płytek krwi i wpływać na erytrocyty, poprawiając przepływ krwi,

co może mieć korzystny wpływ na objawy chromania przestankowego (Kleijnen i Mackerras, 2000). W badaniu Rotterdam poprawa spożycia witaminy E była skorelowana ze zmniejszeniem PAD i wzrostem ABI (Klipstein-Grobusch i wsp., 2001). Wzrost spożycia o 10 mg był związany ze wzrostem ABI o 0,015. Z kolei dla najwyższego kwartyłu spożycia witaminy E ($>8,58$ mg/dzień) iloraz szans wystąpienia PAD spada do wartości 0,60 ($p=0,039$). W literaturze pojawiły się również sugestie, że co najmniej 4–6 miesięcy suplementacji witaminy E jest konieczne, zanim nastąpi wyraźna poprawa. Niemniej jednak są również przeciwwstawne doniesienia naukowe. W dużym, randomizowanym badaniu Heart Outcomes Prevention Evaluation suplementacja diety witaminą E nie wykazała zmniejszenia częstości występowania incydentów sercowo-naczyniowych u pacjentów z cukrzycą lub chorobami naczyniowymi (Lonn i wsp., 2005).

Połączona strategia suplementacji omega-3 PUFA i witaminy E okazała się skuteczna w profilaktyce chorób układu krążenia (Carrero i Grimble, 2006). Efekt ten może być wynikiem faktu, że jedną z funkcji witaminy E w organizmie jest ochrona PUFA przed utlenianiem. Witamina E może poprawić rolę omega-3 PUFA poprzez ochronę przed peroksydacją lipidów, działając na ściśle powiązane mechanizmy aterogenne i zakrzepowe. Omega-3 PUFA są bardzo podatne na utlenianie przez endogenne wolne rodniki, które powstają i są potrzebne w normalnym metabolizmie komórkowym. Niemniej jednak w PAD uszkodzenie komórek, występujące w okresach niedokrwienia mięśnia łydki i kończyn dolnych, jest prawdopodobnie spowodowane właśnie przez wolne rodniki.

Nasze badanie wykazało negatywną korelację pomiędzy ABI a spożyciem wędlin ($r=-0,03$), wyrobów wędliniarskich ($r=-0,17$) oraz mięsa czerwonego ($r=-0,17$). Wyniki te zgodne są z dotychczasową literaturą naukową. W badaniu Atherosclerosis Risk in Communities Study, prospektywnym badaniu kohortowym, większe spożycie mięsa wiązało się z wyższym ryzykiem wystąpienia PAD, a mówiąc dokładniej dla drugiego kwintyli $HR=1,38$ (95% CI 1,16-1,65), dla trzeciego $HR=1,38$ (95% CI 1,16-1,65), dla czwartego $HR=1,45$ (95% CI 1,20-1,74), dla piątego $HR=1,66$ (95% CI 1,3-2,03) ($p = 0.001$) (Ogilvie i wsp., 2017). Obserwacje te są w zgodzie z zależnościami występującymi pomiędzy czerwonym i przetworzonym mięsie a występowaniem zdarzeń sercowo-naczyniowych oraz ogólną śmiertelnością. W dużej metaanalizie obejmującej blisko 4 miliony osób stwierdzono, że spożywanie przetworzonego mięsa wiąże się ze zwiększonym ryzykiem zgonu z powodu choroby układu krążenia oraz z jakiegokolwiek przyczyny (Abete i wsp., 2014). Osoby z najwyższej kategorii spożycia przetworzonego mięsa miały odpowiednio o 18 i 22% wyższe ryzyko zgonu z powodu chorób sercowo-naczyniowych i jakiegokolwiek przyczyny niż osoby

z najniższej kategorii spożycia. Natomiast spożywanie czerwonego mięsa wiązało się jedynie ze zwiększonym ryzykiem śmiertelności z powodu chorób sercowo-naczyniowych. Co ciekawe, gdy wszystkie rodzaje mięs zostały wzięte pod uwagę łącznie, nie znaleziono żadnego związku, co podkreśla wagę oddzielnego rozpatrywania każdego rodzaju mięsa.

Istnieje kilka potencjalnych mechanizmów, poprzez które konsumpcja mięsa może wpływać na PAD. Tłuszcze nasycone, cholesterol i zawartość hemowego żelaza w mięsie wydaje się być kluczowymi czynnikami biorącymi udział w procesach miażdżycowych sprzyjających pojawieniu się czynników ryzyka sercowo-naczyniowego i chorób przewlekłych, takich jak nadciśnienie, hipercholesterolemia, dysfunkcja śródbłónka, insulinooporność i cukrzyca typu II (Zhao i wsp., 2012). Z drugiej strony konserwanty, takie jak sód i azotany w przetworzonym mięsie, mogą wyjaśniać korelacje obserwowane w przypadku przetworzonego mięsa, ale nie w przypadku czerwonego mięsa (Micha i wsp., 2013). Doniesiono, że azotany i ich pochodne są związane z procesami stresu oksydacyjnego, promującymi zaburzenia metaboliczne w głównych narządach i tkankach, skutkujące insulinoopornością, dysfunkcją śródbłónka, cukrzycą typu II i niektórymi rodzajami nowotworów (Aune i wsp., 2009). Zarówno wędliny, jak i wyroby wędliniarskie charakteryzują się wysoką zawartością soli. W badaniu sprawdzającym nawyki żywieniowe pacjentów z PAD wykazano, że żaden z uczestników nie spełniał dziennych zaleceń Instytutu Medycyny dotyczących spożycia sodu, a 80% przekroczyło zalecenia Narodowego Programu Edukacji Cholesterolowej dotyczące spożycia tłuszczów nasyconych (Gardner i wsp., 2011). Zarówno dyslipidemia, jak i nadciśnienie są czynnikami ryzyka rozwoju PAD, objawowej PAD i są bardzo często występującymi stanami współistniejącymi u osób z chromaniem przestankowym (Norgren i wsp., 2007). Oczywiście zarówno dyslipidemia, jak i nadciśnienie może być farmakologicznie kontrolowane u pacjentów z PAD. Jednak wysokie spożycie tłuszczów nasyconych, cholesterolu i sodu częściowo przeciwdziała korzystnym wpływom terapii farmakologicznej. W związku z tym osoby z PAD i chromaniem przestankowym powinny być lepiej informowane i zachęcane do przestrzegania zaleceń dietetycznych dotyczących stosowania diety o niskiej zawartości tłuszczów nasyconych, cholesterolu i sodu w celu zmniejszenia ryzyka dalszych powikłań sercowo-naczyniowych. W tym kontekście ciekawym badaniem jest analiza wpływu zamiany spożywania przetworzonego czerwonego mięsa na rybę. Wyniki potwierdziły, że taka zmiana w diecie powoduje zmniejszenie ryzyka wystąpienia PAD o 16% (HR 0,84; 95% 0,78–0,09) (Lasota i wsp., 2019). Patrząc dokładniej na rodzaj ryby, spożywanie tłustych ryb wykazał znacznie większy pozytywny wpływ na redukcję ryzyka. Zamiana przetworzonego czerwonego mięsa na chudą rybę spowodowała

graniczne obniżenie ryzyka (HR 0,90; 95% CI 0,82 – 1,00), natomiast zamiana przetworzonego czerwonego mięsa na tłustą rybę jest znacznie bardziej wskazana (HR 0,76; 95% CI 0,67 – 0,87). Modyfikacja nawyków żywieniowych w kontroli klinicznej pacjentów z PAD jest absolutnie konieczna. Aktualne zalecenia żywieniowe podają, że ryzyko śmierci z powodu choroby układu krążenia wzrasta przy spożyciu soli większym niż 1–5 g/dzień, a teoretyczny minimalny poziom ekspozycji na ryzyko dla spożycia przetworzonego mięsa wynosi 0–4 g/ dzień (Meier i wsp., 2019). Warto zauważyć, że podczas tworzenia powyższych zaleceń przetworzone mięso zostało zdefiniowane jako poddane wędzeniu, peklowaniu, soleniu lub dodawaniu chemicznych konserwantów. Dane statystyczne pokazały, że dieta bogata w przetworzone mięso była odpowiedzialna za ponad 34 tys. śmierci z powodu chorób układu krążenia w Europie w 2016 roku.

VI. Wnioski

1. Cykl zabiegów suchych kąpiei ozonowych znacząco poprawia wartości wskaźnika kostka-ramię, który jest szeroko stosowany diagnostycznie w chorobie tętnic obwodowych. Porównywalny (choć nieznacznie mniejszy) efekt wywiera cykl zabiegów suchych kąpiei w dwutlenku węgla. Ozonoterapia korzystnie wpływa, redukując czynniki ryzyka PAD, takie jak rozkurczowe ciśnienie tętnicze, procentowa zawartość tkanki tłuszczowej w organizmie czy stosunek talia:biodra. Z kolei suche kąpiele CO₂ poprawiają wskaźniki, takie jak w indeks masy ciała, tętno spoczynkowe i stężenie triacylogliceroli we krwi.
2. Jakość życia (w tym funkcjonowanie fizyczne, ogólne poczucie zdrowia oraz odczuwanie bólu) pacjentów z chorobą tętnic obwodowych może zostać poprawiona zarówno w wyniku ozonoterapii jak i suchych kąpiei w dwutlenku węgla.
3. Jednym z pozytywnych efektów zabiegów fizykalnych, w tym suchych kąpiei O₃ i CO₂, jest podejmowanie zwiększonej aktywności fizycznej, która z kolei zmniejsza ryzyko rozwoju PAD i prowadzi do poprawy jakości życia.
4. Wskaźnik kostka-ramię wykazuje zależności z glikemią na czczo, HDL-cholesterolem oraz skurczowym i rozkurczowym ciśnieniem tętniczym krwi.
5. Wskaźnik kostka-ramię wykazuje zależność z aktywnością i sprawnością fizyczną, jak również z czasem spędzonym siedząc. Zwiększenie regularnej aktywności fizycznej i ograniczenie czasu spędzonego siedząc zmniejsza ryzyko rozwoju choroby tętnic obwodowych.
6. Dieta ma wpływ na rozwój chorób tętnic obwodowych. Większe spożycie owoców, orzechów i ziaren, jak również niższe spożycie wędlin, wyrobów wędliniarskich oraz czerwonego mięsa wywołuje efekt ochronny przeciwko rozwojowi PAD.

Piśmiennictwo

1. ABDULHAMZA, G. & AL-OMARY, H. 2018. Physiological effects of carbon dioxide treatment on diabetic foot ulcer patients. *J Pharm Biol Sci*, 5, 1-7.
2. ABETE, I., ROMAGUERA, D., VIEIRA, A., LOPEZ DE MUNAIN, A. & NORAT, T. 2014. Association between total, processed, red and white meat consumption and all-cause, CVD and IHD mortality: a meta-analysis of cohort studies. *The British journal of nutrition*, 112.
3. ABOYANS, V., CRIQUI, M., ABRAHAM, P., ALLISON, M., CREAGER, M., DIEHM, C., FOWKES, F., HIATT, W., JÖNSSON, B., LACROIX, P., MARIN, B., MCDERMOTT, M., NORGREN, L., PANDE, R., PREUX, P., STOFFERS, H. & D, T.-J. 2012. Measurement and interpretation of the ankle-brachial index: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation*, 126.
4. ABOYANS, V., CRIQUI, M. H., MCCLELLAND, R. L., ALLISON, M. A., MCDERMOTT, M. M., GOFF, D. C., JR. & MANOLIO, T. A. 2007. Intrinsic contribution of gender and ethnicity to normal ankle-brachial index values: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *J Vasc Surg*, 45, 319-27.
5. ABOYANS, V., RICCO, J., BARTELINK, M., BJÖRCK, M., BRODMANN, M., COHNERT, T., COLLET, J., CZERNY, M., DE CARLO, M., DEBUS, S., ESPINOLA-KLEIN, C., KAHAN, T., KOWNATOR, S., MAZZOLAI, L., NAYLOR, A., ROFFI, M., RÖTHER, J., SPRYNGER, M., TENDERA, M., TEPE, G., VENERMO, M., VLACHOPOULOS, C. & DESORMAIS, I. 2018. 2017 ESC Guidelines on the Diagnosis and Treatment of Peripheral Arterial Diseases, in collaboration with the European Society for Vascular Surgery (ESVS): Document covering atherosclerotic disease of extracranial carotid and vertebral, mesenteric, renal, upper and lower extremity arteries Endorsed by: the European Stroke Organization (ESO) The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Peripheral Arterial Diseases of the European Society of Cardiology (ESC) and of the European Society for Vascular Surgery (ESVS). *European heart journal*, 39.
6. ADAY, A. & EVERETT, B. 2019. Dyslipidemia Profiles in Patients with Peripheral Artery Disease. *Current cardiology reports*, 21.
7. ADAY, A. & MATSUSHITA, K. 2021. Epidemiology of Peripheral Artery Disease and Polyvascular Disease. *Circulation research*, 128.
8. AGGARWAL, S., LOOMBA, R. & ARORA, R. 2012. Preventive aspects in peripheral artery disease. *Therapeutic advances in cardiovascular disease*, 6.

9. AIRD, W. C. 2004. Endothelium as an organ system. *Crit. Care Med.*, 32, 271-279.
10. AL-DALAIN, S., MARTÍNEZ, G., CANDELARIO-JALIL, E., MENÉNDEZ, S., RE, L., GIULIANI, A. & LEÓN, O. 2001. Ozone treatment reduces markers of oxidative and endothelial damage in an experimental diabetes model in rats. *Pharmacological research*, 44.
11. ALAHDAB, F., WANG, A., ELRAIYAH, T., MALGOR, R., RIZVI, A., LANE, M., PROKOP, L., MONTORI, V., CONTE, M. & MURAD, M. 2015. A systematic review for the screening for peripheral arterial disease in asymptomatic patients. *Journal of vascular surgery*, 61.
12. ALARCÓN DE LA LASTRA, C., BARRANCO, M., MOTILVA, V. & HERRERÍAS, J. 2001. Mediterranean diet and health: biological importance of olive oil. *Current pharmaceutical design*, 7.
13. ALBERTI, K., ECKEL, R., GRUNDY, S., ZIMMET, P., CLEEMAN, J., DONATO, K., FRUCHART, J., JAMES, W., LORIA, C. & SMITH, S. 2009. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation*, 120.
14. ALLHAT OFFICERS AND COORDINATORS FOR THE ALLHAT COLLABORATIVE RESEARCH GROUP 2002. Major outcomes in high-risk hypertensive patients randomized to angiotensin-converting enzyme inhibitor or calcium channel blocker vs diuretic: The Antihypertensive and Lipid-Lowering Treatment to Prevent Heart Attack Trial (ALLHAT). *JAMA*, 288.
15. ALLISON, M. A., CRIQUI, M. H., MCCLELLAND, R. L., SCOTT, J. M., MCDERMOTT, M. M., LIU, K., FOLSOM, A. R., BERTONI, A. G., SHARRETT, A. R., HOMMA, S. & KORI, S. 2006. The effect of novel cardiovascular risk factors on the ethnic-specific odds for peripheral arterial disease in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *J Am Coll Cardiol*, 48, 1190-7.
16. ALLISON, M. A., HO, E., DENENBERG, J. O., LANGER, R. D., NEWMAN, A. B., FABSITZ, R. R. & CRIQUI, M. H. 2007. Ethnic-specific prevalence of peripheral arterial disease in the United States. *Am J Prev Med*, 32, 328-33.
17. ALTHOUSE, A., ABBOTT, J., FORKER, A., BERTOLET, M., BARINAS-MITCHELL, E., THURSTON, R., MULUKUTLA, S., ABOYANS, V. & BROOKS, M. 2014. Risk factors for incident peripheral arterial disease in type 2 diabetes: results from the Bypass

Angioplasty Revascularization Investigation in type 2 Diabetes (BARI 2D) Trial. *Diabetes care*, 37.

18. AMANN, B., LÜDEMANN, C., RÜCKERT, R., LAWALL, H., LIESENFELD, B., SCHNEIDER, M. & SCHMIDT-LUCKE, J. 2008. Design and rationale of a randomized, double-blind, placebo-controlled phase III study for autologous bone marrow cell transplantation in critical limb ischemia: the BONE Marrow Outcomes Trial in Critical Limb Ischemia (BONMOT-CLI). *VASA. Zeitschrift für Gefasskrankheiten*, 37.
19. ANDERSSON, S., SKINNER, J., ELLEGÅRD, L., WELCH, A., BINGHAM, S., MULLIGAN, A., ANDERSSON, H. & KHAW, K. 2004. Intake of dietary plant sterols is inversely related to serum cholesterol concentration in men and women in the EPIC Norfolk population: a cross-sectional study. *European journal of clinical nutrition*, 58.
20. ANDRÉ, N. & AGBANGLA, N. 2020. Are Barriers the Same Whether I Want to Start or Maintain Exercise? A Narrative Review on Healthy Older Adults. *International journal of environmental research and public health*, 17.
21. ANTHONISEN, N., SKEANS, M., WISE, R., MANFREDA, J., KANNER, R. & CONNETT, J. 2005. The effects of a smoking cessation intervention on 14.5-year mortality: a randomized clinical trial. *Annals of internal medicine*, 142.
22. ANTITHROMBOTIC TRIALISTS' COLLABORATION 2002. Collaborative meta-analysis of randomised trials of antiplatelet therapy for prevention of death, myocardial infarction, and stroke in high risk patients. *BMJ (Clinical research ed.)*, 324.
23. ARANY, Z., FOO, S., MA, Y., RUAS, J., BOMMI-REDDY, A., GIRNUN, G., COOPER, M., LAZNIK, D., CHINSOMBOON, J., RANGWALA, S., BAEK, K., ROSENZWEIG, A. & SPIEGELMAN, B. 2008. HIF-independent regulation of VEGF and angiogenesis by the transcriptional coactivator PGC-1 α . *Nature*, 451.
24. ARYA, S., BINNEY, Z., KHAKHARIA, A., BREWSTER, L., GOODNEY, P., PATZER, R., HOCKENBERRY, J. & WILSON, P. 2018. Race and Socioeconomic Status Independently Affect Risk of Major Amputation in Peripheral Artery Disease. *Journal of the American Heart Association*, 7.
25. ATS COMMITTEE ON PROFICIENCY STANDARDS FOR CLINICAL PULMONARY FUNCTION LABORATORIES 2002. ATS statement: guidelines for the six-minute walk test. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 166.
26. AUNE, D., URSIN, G. & VEIERØD, M. 2009. Meat consumption and the risk of type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. *Diabetologia*, 52.

27. BAFFOUR-AWUAH, B., DIEBERG, G., PEARSON, M. & SMART, N. 2020. Blood pressure control in older adults with hypertension: A systematic review with meta-analysis and meta-regression. *International Journal of Cardiology. Hypertension*, 6.
28. BAKER, J., SCHUMACHER, H. & KRISHNAN, E. 2007. Serum uric acid level and risk for peripheral arterial disease: analysis of data from the multiple risk factor intervention trial. *Angiology*, 58.
29. BAKSHI, A. & TADI, P. 2021. Biochemistry, Serotonin.
30. BALTIC, A., BALJIC, R., RADJO, I. & MLACO, A. 2015. Health Effects of the Programmed Physical Activities on Lipid Profile in Peripheral Arterial Disease of the Lower Extremities. *Medical archives (Sarajevo, Bosnia and Herzegovina)*, 69.
31. BARTER, P. & RYE, K. 2008. Is there a role for fibrates in the management of dyslipidemia in the metabolic syndrome? *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 28.
32. BAUERSACHS, R., ZEYMER, U., BRIÈRE, J., MARRE, C., BOWRIN, K. & HUELSEBECK, M. 2019. Burden of Coronary Artery Disease and Peripheral Artery Disease: A Literature Review. *Cardiovascular therapeutics*, 2019.
33. BAVRY, A., ANDERSON, R., GONG, Y., DENARDO, S., COOPER-DEHOFF, R., HANDBERG, E. & PEPINE, C. 2010. Outcomes Among hypertensive patients with concomitant peripheral and coronary artery disease: findings from the INternational Verapamil-SR/Trandolapril STudy. *Hypertension*, 55.
34. BAYSAN, A. & LYNCH, E. 2005. The use of ozone in dentistry and medicine. *Primary dental care : journal of the Faculty of General Dental Practitioners (UK)*, 12.
35. BAYSAN, A., LYNCH, E. & GROOTVELD, M. 2001. The use of ozone for the management of primary root carious lesions. Chapter 3. In: ALBREKTSSON, T., BRATTHALL, D., GLATZ, P.-O. & LINDHE, J. (eds.) *Tissue Preservation in Caries Treatment*. Chicago: Quintessence.
36. BAYSAN, A., WHILEY, R. & LYNCH, E. 2000. Antimicrobial effect of a novel ozone-generating device on micro-organisms associated with primary root carious lesions in vitro. *Caries research*, 34.
37. BAZZANO, L., HE, J., OGDEN, L., LORIA, C. & WHELTON, P. 2003. Dietary fiber intake and reduced risk of coronary heart disease in US men and women: the National Health and Nutrition Examination Survey I Epidemiologic Follow-up Study. *Archives of internal medicine*, 163.

38. BELCH, J., MACCUISH, A., CAMPBELL, I., COBBE, S., TAYLOR, R., PRESCOTT, R., LEE, R., BANCROFT, J., MACEWAN, S., SHEPHERD, J., MACFARLANE, P., MORRIS, A., JUNG, R., KELLY, C., CONNACHER, A., PEDEN, N., JAMIESON, A., MATTHEWS, D., LEESE, G., MCKNIGHT, J., O'BRIEN, I., SEMPLE, C., PETRIE, J., GORDON, D., PRINGLE, S. & MACWALTER, R. 2008. The prevention of progression of arterial disease and diabetes (POPADAD) trial: factorial randomised placebo controlled trial of aspirin and antioxidants in patients with diabetes and asymptomatic peripheral arterial disease. *BMJ (Clinical research ed.)*, 337.
39. BELLET, R. N., ADAMS, L. & MORRIS, N. R. 2012. The 6-minute walk test in outpatient cardiac rehabilitation: validity, reliability and responsiveness--a systematic review. *Physiotherapy*, 98, 277-86.
40. BEN-AMI, S., ORON, G., BEN-HAROUSH, A., BLICKSTEIN, D., HOD, M. & BAR, J. 2010. Primary atherothrombotic occlusive vascular events in premenopausal women with history of adverse pregnancy outcome. *Thrombosis research*, 125.
41. BENDERMACHER, B., TEIJINK, J., WILLIGENDAEL, E., BARTELINK, M., PETERS, R., DE BIE, R., BÜLLER, H., BOITEN, J., LANGENBERG, M. & PRINS, M. 2007. A clinical prediction model for the presence of peripheral arterial disease--the benefit of screening individuals before initiation of measurement of the ankle-brachial index: an observational study. *Vascular medicine (London, England)*, 12.
42. BEREK, K. & BOBIŃSKI, R. 2009. Miażdżyca - choroba wieloczynnikowa. *Problemy Pielęgniarstwa*, 17, 257-262.
43. BERGER, J., KRANTZ, M., KITTELSON, J. & HIATT, W. 2009. Aspirin for the prevention of cardiovascular events in patients with peripheral artery disease: a meta-analysis of randomized trials. *JAMA*, 301.
44. BERGER, J. & LADAPO, J. 2017. Underuse of Prevention and Lifestyle Counseling in Patients With Peripheral Artery Disease. *Journal of the American College of Cardiology*, 69.
45. BERTOIA, M. L., PAI, J. K., COOKE, J. P., JOOSTEN, M. M., MITTLEMAN, M. A., RIMM, E. B. & MUKAMAL, K. J. 2014. Plasma homocysteine, dietary B vitamins, betaine, and choline and risk of peripheral artery disease. *Atherosclerosis*, 235, 94-101.
46. BHASIN, N. & SCOTT, D. 2007. Ankle Brachial Pressure Index: identifying cardiovascular risk and improving diagnostic accuracy. *Journal of the Royal Society of Medicine*, 100.

47. BIEDUNKIEWICZ, B., LIZAKOWSKI, S., TYLICKI, L., SKIBOESKA, A., NIEWEGLOWSKI, T., CHAMIENIA, A., DEBSKA-SLIZIEN, A. & B, R. 2006. Blood coagulation unaffected by ozonated autohemotherapy in patients on maintenance hemodialysis. *Archives of medical research*, 37.
48. BIERNAT, E. 2013. Międzynarodowy Kwestionariusz Aktywności Fizycznej - Polska Długa Wersja. *Pol J Sport Med* 1, 1-15.
49. BISCETTI, F., NARDELLA, E., RANDO, M., CECCHINI, A., GASBARRINI, A., MASSETTI, M. & FLEX, A. 2021. Outcomes of Lower Extremity Endovascular Revascularization: Potential Predictors and Prevention Strategies. *International journal of molecular sciences*, 22.
50. BLOEMENKAMP, D., VAN DEN BOSCH, M., MALI, W., TANIS, B., ROSENDAAL, F., KEMMEREN, J., ALGRA, A., VISSEREN, F. & VAN DER GRAAF, Y. 2002. Novel risk factors for peripheral arterial disease in young women. *The American journal of medicine*, 113.
51. BOCCI, V. 1999. Biological and clinical effects of ozone. Has ozone therapy a future in medicine? *British journal of biomedical science*, 56.
52. BOCCI, V., BORRELLI, E., VALACCHI, G. & LUZZI, E. 1999. Quasi-total-body exposure to an oxygen-ozone mixture in a sauna cabin. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*, 80, 549-54.
53. BOCCI, V. & DI PAOLO, N. 2009. Oxygen-ozone therapy in medicine: an update. *Blood Purif*, 28, 373-6.
54. BONACA, M., GUTIERREZ, J., CREAGER, M., SCIRICA, B., OLIN, J., MURPHY, S., BRAUNWALD, E. & MORROW, D. 2016. Acute Limb Ischemia and Outcomes With Vorapaxar in Patients With Peripheral Artery Disease: Results From the Trial to Assess the Effects of Vorapaxar in Preventing Heart Attack and Stroke in Patients With Atherosclerosis-Thrombolysis in Myocardial Infarction 50 (TRA2°P-TIMI 50). *Circulation*, 133.
55. BONACA, M. & SABATINE, M. 2018. Response by Bonaca and Sabatine to Letters Regarding Article, "Low-Density Lipoprotein Cholesterol Lowering With Evolocumab and Outcomes in Patients With Peripheral Artery Disease: Insights From the FOURIER Trial (Further Cardiovascular Outcomes Research With PCSK9 Inhibition in Subjects With Elevated Risk)". *Circulation*, 138.

56. BOWLIN, S., MEDALIE, J., FLOCKE, S., ZYZANSKI, S. & GOLDBOURT, U. 1994. Epidemiology of intermittent claudication in middle-aged men. *American journal of epidemiology*, 140.
57. BOYLE, L., CREDEUR, D., JENKINS, N., PADILLA, J., LEIDY, H., THYFAULT, J. & FADEL, P. 2013. Impact of reduced daily physical activity on conduit artery flow-mediated dilation and circulating endothelial microparticles. *Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)*, 115.
58. BRAGADEESH, T., SARI, I., PASCOTTO, M., MICARI, A., KAUL, S. & LINDNER, J. 2005. Detection of peripheral vascular stenosis by assessing skeletal muscle flow reserve. *Journal of the American College of Cardiology*, 45.
59. BRANDI, C., D'ANIELLO, C., GRIMALDI, L., BOSI, B., DEI, I., LATTARULO, P. & C, A. 2001. Carbon dioxide therapy in the treatment of localized adiposities: clinical study and histopathological correlations. *Aesthetic plastic surgery*, 25.
60. BRANDI, C., GRIMALDI, L., NISI, G., BRAFA, A., CAMPA, A., CALABRÒ, M., CAMPANA, M. & D'ANIELLO, C. 2010. The role of carbon dioxide therapy in the treatment of chronic wounds. *In Vivo*, 24, 223-6.
61. BREEK, J., HAMMING, J., DE VRIES, J., AQUARIUS, A. & VAN BERGE HENEGOUWEN, D. 2001. Quality of life in patients with intermittent claudication using the World Health Organisation (WHO) questionnaire. *European journal of vascular and endovascular surgery : the official journal of the European Society for Vascular Surgery*, 21.
62. BRITES, F., MARTIN, M., GUILLAS, I. & KONTUSH, A. 2017. Antioxidative activity of high-density lipoprotein (HDL): Mechanistic insights into potential clinical benefit. *BBA clinical*, 8.
63. BROWN, B., ZHAO, X., CHAIT, A., FISHER, L., CHEUNG, M., MORSE, J., DOWDY, A., MARINO, E., BOLSON, E., ALAUPOVIC, P., FROHLICH, J. & ALBERS, J. 2001. Simvastatin and niacin, antioxidant vitamins, or the combination for the prevention of coronary disease. *The New England journal of medicine*, 345.
64. BROWNLEE, M. 2005. The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism. *Diabetes*, 54.
65. BYCROFT, C., FREEMAN, C., PETKOVA, D., BAND, G., ELLIOTT, L., SHARP, K., MOTYER, A., VUKCEVIC, D., DELANEAU, O., O'CONNELL, J., CORTES, A., WELSH, S., YOUNG, A., EFFINGHAM, M., MCVEAN, G., LESLIE, S., ALLEN, N.,

- DONNELLY, P. & MARCHINI, J. 2018. The UK Biobank resource with deep phenotyping and genomic data. *Nature*, 562.
66. BÄCK, M., JIVEGÅRD, L., JOHANSSON, A., NORDANSTIG, J., SVANBERG, T., ADANIA, U. & SJÖGREN, P. 2015. Home-based supervised exercise versus hospital-based supervised exercise or unsupervised walk advice as treatment for intermittent claudication: a systematic review. *Journal of rehabilitation medicine*, 47.
 67. BØNAA, K., NJØLSTAD, I., UELAND, P., SCHIRMER, H., TVERDAL, A., STEIGEN, T., WANG, H., NORDREHAUG, J., ARNESEN, E. & RASMUSSEN, K. 2006. Homocysteine lowering and cardiovascular events after acute myocardial infarction. *The New England journal of medicine*, 354.
 68. CACOUB, P., ABOLA, M., BAUMGARTNER, I., BHATT, D., CREAGER, M., LIAU, C., GOTO, S., RÖTHER, J., STEG, P. & HIRSCH, A. 2009. Cardiovascular risk factor control and outcomes in peripheral artery disease patients in the Reduction of Atherothrombosis for Continued Health (REACH) Registry. *Atherosclerosis*, 204.
 69. CALDER, P. 2004. n-3 Fatty acids and cardiovascular disease: evidence explained and mechanisms explored. *Clinical science (London, England : 1979)*, 107.
 70. CANDELARIO-JALIL, E., MOHAMMED-AL-DALAIN, S., FERNÁNDEZ, O., MENÉNDEZ, S., PÉREZ-DAVISON, G., MERINO, N., SAM, S. & AJAMIEH, H. 2001. Oxidative preconditioning affords protection against carbon tetrachloride-induced glycogen depletion and oxidative stress in rats. *Journal of applied toxicology : JAT*, 21.
 71. CANTELE, F., TOGNOLO, L., CANEVA, F., FORMAGGIO, E., COPETTI, V., VENTURIN, A., CAREGNATO, A. & MASIERO, S. 2021. Influence of pain-related psychological factors on therapeutic outcomes in patients with chronic low back pain after oxygen-ozone treatment: a case-series. *European journal of translational myology*.
 72. CAO, J. J., ARNOLD, A. M., MANOLIO, T. A., POLAK, J. F., PSATY, B. M., HIRSCH, C. H., KULLER, L. H. & CUSHMAN, M. 2007. Association of carotid artery intima-media thickness, plaques, and C-reactive protein with future cardiovascular disease and all-cause mortality: the Cardiovascular Health Study. *Circulation*, 116, 32-8.
 73. CARPENDALE, M. T. & FREEBERG, J. K. 1991. Ozone inactivates HIV at noncytotoxic concentrations. *Antiviral Res*, 16, 281-92.
 74. CARRERO, J. & GRIMBLE, R. 2006. Does nutrition have a role in peripheral vascular disease? *The British journal of nutrition*, 95.

75. CASAS-AGUSTENCH, P., LÓPEZ-URIARTE, P., ROS, E., BULLÓ, M. & SALAS-SALVADÓ, J. 2011. Nuts, hypertension and endothelial function. *Nutrition, metabolism, and cardiovascular diseases : NMCD*, 21 Suppl 1.
76. CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION NATIONAL CENTER FOR HEALTH STATISTICS. 2021. *National Vital Statistics System: public use data file documenta-tion: mortality multiple cause-of-death micro-data files* [Online]. Available: https://www.cdc.gov/nchs/nvss/mortality_public_use_data.htm [Accessed].
77. CERIELLO, A., MERCURI, F., QUAGLIARO, L., ASSALONI, R., MOTZ, E., TONUTTI, L. & TABOGA, C. 2001. Detection of nitrotyrosine in the diabetic plasma: evidence of oxidative stress. *Diabetologia*, 44.
78. CHEN, L., WANG, B., WANG, J., BAN, Q., WU, H., SONG, Y., ZHANG, J., CAO, J., ZHOU, Z., LIU, L., CAO, T., GAO, L., GUO, H., ZHANG, T., TANG, G., HUANG, X., ZHANG, Y., LI, J., HUO, Y., CHENG, X., ZANG, T., XU, X., ZHANG, H. & QIN, X. 2018. Association between serum total homocysteine and arterial stiffness in adults: a community-based study. *J Clin Hypertens (Greenwich)*, 20, 686-693.
79. CHOBANIAN, A., BAKRIS, G., BLACK, H., CUSHMAN, W., GREEN, L., IZZO, J., JONES, D., MATERSON, B., OPARIL, S., WRIGHT, J. & ROCCELLA, E. 2003. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: the JNC 7 report. *JAMA*, 289.
80. CHÁVEZ-SOSA, J., ROJAS-HUMPIRE, R., GUTIERREZ-AJALCRÍÑA, R. & HUANCAHUIRE-VEGA, S. 2021. Association between lifestyles, anthropometric measurements and peripheral arterial disease in public sector health workers. *American journal of cardiovascular disease*, 11.
81. CLARK, D., CAIN, L., BLAHA, M., DEFILIPPIS, A., MENTZ, R., KAMIMURA, D., WHITE, W., BUTLER, K., ROBERTSON, R., BHATNAGAR, A., BUTLER, J., CORREA, A., BENJAMIN, E. & HALL, M. 2019. Cigarette Smoking and Subclinical Peripheral Arterial Disease in Blacks of the Jackson Heart Study. *Journal of the American Heart Association*, 8.
82. CLAVO, B., CATALA, L., PEREZ, J. L., RODRIGUEZ, V. & ROBAINA, F. 2004. Ozone Therapy on Cerebral Blood Flow: A Preliminary Report. *Evid Based Complement Alternat Med*, 1, 315-319.
83. CLEMENT, D. L., DE BUYZERE, M. L. & DUPREZ, D. A. 2004. Hypertension in peripheral arterial disease. *Curr Pharm Des*, 10, 3615-20.

84. CLEMENTI, A., KIM, J. C., FLORIS, M., CRUZ, D. N., GARZOTTO, F., ZANELLA, M., NALESSO, F., BRENDOLAN, A., GIAVARINA, D., SOFFIATI, G. & RONCO, C. 2012. Statin therapy is associated with decreased small, dense low-density lipoprotein levels in patients undergoing peritoneal dialysis. *Contrib Nephrol*, 178, 111-115.
85. COCKERILL, G. & XU, Q. 2011. Artherosclerosis. In: FITRIDGE, R. & THOMPSON, M. (eds.) *Mechanisms of vascular disease: a reference book for vascular specialists*. Adelaide: The University of Adelaide, Barr Smith Press.
86. COLLINS, E., O'CONNELL, S., MCBURNEY, C., JELINEK, C., BUTLER, J., REDA, D., GERBER, B., HURT, C. & GRABINER, M. 2012. Comparison of walking with poles and traditional walking for peripheral arterial disease rehabilitation. *Journal of cardiopulmonary rehabilitation and prevention*, 32.
87. COOKE, E., POCKLEY, A., TUCKER, A., KIRBY, J. & BOLTON, A. 1997. Treatment of severe Raynaud's syndrome by injection of autologous blood pretreated by heating, ozonation and exposure to ultraviolet light (H-O-U) therapy. *International angiology : a journal of the International Union of Angiology*, 16.
88. COVAS, M., NYSSÖNEN, K., POULSEN, H., KAIKKONEN, J., ZUNFT, H., KIESEWETTER, H., GADDI, A., DE LA TORRE, R., MURSU, J., BÄUMLER, H., NASCETTI, S., SALONEN, J., FITÓ, M., VIRTANEN, J. & MARRUGAT, J. 2006. The effect of polyphenols in olive oil on heart disease risk factors: a randomized trial. *Annals of internal medicine*, 145.
89. CRAWFORD, F., WELCH, K., ANDRAS, A. & CHAPPELL, F. 2016. Ankle Brachial Index for the Diagnosis of Lower Limb Peripheral Arterial Disease. *The Cochrane database of systematic reviews*, 9.
90. CRIQUI, M. & ABOYANS, V. 2015. Epidemiology of peripheral artery disease. *Circulation research*, 116.
91. CRITCHLEY, J. & CAPEWELL, S. 2003. Mortality risk reduction associated with smoking cessation in patients with coronary heart disease: a systematic review. *JAMA*, 290.
92. CRITICAL LEG ISCHAEMIA PREVENTION STUDY (CLIPS) GROUP, CATALANO, M., BORN, G. & PETO, R. 2007. Prevention of serious vascular events by aspirin amongst patients with peripheral arterial disease: randomized, double-blind trial. *Journal of internal medicine*, 261.
93. CUKIER, A., THEROND, P., DIDICHENKO, S., GUILLAS, I., CHAPMAN, M., WRIGHT, S. & KONTUSH, A. 2017. Structure-function relationships in reconstituted

HDL: Focus on antioxidative activity and cholesterol efflux capacity. *Biochimica et biophysica acta. Molecular and cell biology of lipids*, 1862.

94. CURRY, S., KRIST, A., OWENS, D., BARRY, M., CAUGHEY, A., DAVIDSON, K., DOUBENI, C., EPLING, J., KEMPER, A., KUBIK, M., LANDEFELD, C., MANGIONE, C., SILVERSTEIN, M., SIMON, M., TSENG, C. & WONG, J. 2018. Screening for Peripheral Artery Disease and Cardiovascular Disease Risk Assessment With the Ankle-Brachial Index: US Preventive Services Task Force Recommendation Statement. *JAMA*, 320.
95. CZECH, B., KUCEWICZ, E. & PAWLAK, S. 2004. Rola procesów zapalnych i mikroorganizmów w etiopatogenezie miażdżycy — przegląd literatury. *Wiad. Lek.*, 11/12, 659-662.
96. CÂMARA, L., RITTI-DIAS, R., MENÊSES, A., D'ANDRÉA GREVE, J., FILHO, W., SANTARÉM, J., FORJAZ, C., PUECH-LEÃO, P. & WOLOSKEK, N. 2012. Isokinetic strength and endurance in proximal and distal muscles in patients with peripheral artery disease. *Annals of vascular surgery*, 26.
97. D'AGOSTINO, R., VASAN, R., PENCINA, M., WOLF, P., COBAIN, M., MASSARO, J. & KANNEL, W. 2008. General cardiovascular risk profile for use in primary care: the Framingham Heart Study. *Circulation*, 117.
98. DAVIES, P. 2009. Hemodynamic shear stress and the endothelium in cardiovascular pathophysiology. *Nature clinical practice. Cardiovascular medicine*, 6.
99. DE LUCA, L., BONACA, M. & MAGNANI, G. 2020. Antithrombotic strategies for patients with coronary and lower extremity peripheral artery diseases: a narrative review. *Expert review of cardiovascular therapy*, 18.
100. DE VOS, L., NOORDZIJ, M., MULDER, D., SMIT, A., LUTGERS, H., DULLAART, R., KAMPHUISEN, P., ZEEBREGTS, C. & LEFRANDT, J. 2013. Skin autofluorescence as a measure of advanced glycation end products deposition is elevated in peripheral artery disease. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 33.
101. DEMIRTAS, S., KARAHAN, O., YAZICI, S., GUCLU, O., CALISKAN, A., YAVUZ, C., KUCUKER, A. & MAVITAS, B. 2014. The relationship between complete blood count parameters and Fontaine's Stages in patients with peripheral arterial disease. *Vascular*, 22, 427-31.
102. DI ANGELANTONIO, E., SARWAR, N., PERRY, P., KAPTOGE, S., RAY, K. K., THOMPSON, A., WOOD, A. M., LEWINGTON, S., SATTAR, N., PACKARD, C. J.,

- COLLINS, R., THOMPSON, S. G. & DANESH, J. 2009. Major lipids, apolipoproteins, and risk of vascular disease. *Jama*, 302, 1993-2000.
103. DIEHM, C., ALLENBERG, J., PITTRROW, D., MAHN, M., TEPOHL, G., HABERL, R., DARIUS, H., BURGHHAUS, I. & TRAMPISCH, H. 2009. Mortality and vascular morbidity in older adults with asymptomatic versus symptomatic peripheral artery disease. *Circulation*, 120.
104. DIEHM, C., PITTRROW, D. & LAWALL, H. 2011. Effect of nebivolol vs. hydrochlorothiazide on the walking capacity in hypertensive patients with intermittent claudication. *Journal of hypertension*, 29.
105. DIEHM, C., SCHUSTER, A., ALLENBERG, J., DARIUS, H., HABERL, R., LANGE, S., PITTRROW, D., VON STRITZKY, B., TEPOHL, G. & TRAMPISCH, H. 2004. High prevalence of peripheral arterial disease and co-morbidity in 6880 primary care patients: cross-sectional study. *Atherosclerosis*, 172.
106. DIEHR, P. & BERESFORD, S. 2003. The relation of dietary patterns to future survival, health, and cardiovascular events in older adults. *Journal of clinical epidemiology*, 56.
107. DING, N., KWAK, L., BALLEW, S., JAAR, B., HOOGEVEEN, R., BALLANTYNE, C., SHARRETT, A., FOLSOM, A., HEISS, G., SALAMEH, M., CORESH, J., HIRSCH, A., SELVIN, E. & MATSUSHITA, K. 2018. Traditional and nontraditional glycemic markers and risk of peripheral artery disease: The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Atherosclerosis*, 274.
108. DOGLIOTTI, G., GALLIERA, E., IORIO, E., DE BERNARDI DI VALSERRA, M., SOLIMENE, U. & CORSI, M. M. 2011. Effect of immersion in CO₂-enriched water on free radical release and total antioxidant status in peripheral arterial occlusive disease. *Int Angiol*, 30, 12-7.
109. DORMANDY, J. A. & RUTHERFORD, R. B. 2000. Management of peripheral arterial disease (PAD). TASC Working Group. TransAtlantic Inter-Society Consensus (TASC). *J Vasc Surg*, 31, S1-s296.
110. DOROBISZ, A., KUCHARSKI, A., SIKORSKI, A., KOWALIK, Z. & HOBOT, J. 2005. [Morbidity of lower limbs obliterating atherosclerosis in the population of Opole Region]. *Przegląd epidemiologiczny*, 59.
111. DROSSOS, G., TOUMPOULIS, I., KATRITSIS, D., IOANNIDIS, J., KONTOGIORGI, P., SVARNA, E. & ANAGNOSTOPOULOS, C. 2003. Is vitamin C superior to diltiazem for radial artery vasodilation in patients awaiting coronary artery bypass grafting? *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, 125.

112. DUNN, K., JORDAN, K., LACEY, R., SHAPLEY, M. & JINKS, C. 2004. Patterns of consent in epidemiologic research: evidence from over 25,000 responders. *American journal of epidemiology*, 159.
113. ELLSWORTH, J., KUSHI, L. & FOLSOM, A. 2001. Frequent nut intake and risk of death from coronary heart disease and all causes in postmenopausal women: the Iowa Women's Health Study. *Nutrition, metabolism, and cardiovascular diseases : NMCD*, 11.
114. EMANUELSSON, F. & BENN, M. 2021. LDL-Cholesterol versus Glucose in Microvascular and Macrovascular Disease. *Clinical chemistry*, 67.
115. EMANUELSSON, F., MAROTT, S., TYBJÆRG-HANSEN, A., NORDESTGAARD, B. & BENN, M. 2020. Impact of Glucose Level on Micro- and Macrovascular Disease in the General Population: A Mendelian Randomization Study. *Diabetes care*, 43.
116. EMDIN, C., ANDERSON, S., CALLENDER, T., CONRAD, N., SALIMI-KHORSHIDI, G., MOHSENI, H., WOODWARD, M. & RAHIMI, K. 2015. Usual blood pressure, peripheral arterial disease, and vascular risk: cohort study of 4.2 million adults. *BMJ (Clinical research ed.)*, 351.
117. ESPINOLA-KLEIN, C., WEISSER, G., JAGODZINSKI, A., SAVVIDIS, S., WARNHOLTZ, A., OSTAD, M., GORI, T. & MUNZEL, T. 2011. β -Blockers in patients with intermittent claudication and arterial hypertension: results from the nebivolol or metoprolol in arterial occlusive disease trial. *Hypertension (Dallas, Tex. : 1979)*, 58.
118. EXPERT PANEL ON VASCULAR IMAGING, COOPER, K., MAJDALANY, B., KALVA, S., CHANDRA, A., COLLINS, J., FRANCOIS, C., GANGULI, S., GORNIK, H., KENDI, A., KHAJA, M., MINOCHA, J., NORTON, P., OBARA, P., REIS, S., SUTPHIN, P. & RYBICKI, F. 2018. ACR Appropriateness Criteria® Lower Extremity Arterial Revascularization-Post-Therapy Imaging. *Journal of the American College of Radiology : JACR*, 15.
119. FABRY, R., MONNET, P., SCHMIDT, J., LUSSON, J., CARPENTIER, P., BAGUET, J. & DUBRAY, C. 2009. Clinical and microcirculatory effects of transcutaneous CO₂ therapy in intermittent claudication. Randomized double-blind clinical trial with a parallel design. *VASA. Zeitschrift fur Gefasskrankheiten*, 38.
120. FAGLIA, E., CARAVAGGI, C., MARCHETTI, R., MINGARDI, R., MORABITO, A., PIAGGESI, A., UCCIOLI, L. & CERIELLO, A. 2005. Screening for peripheral arterial disease by means of the ankle-brachial index in newly diagnosed Type 2 diabetic patients. *Diabetic medicine : a journal of the British Diabetic Association*, 22.

121. FALCONE FERREYRA, M., RIUS, S. & CASATI, P. 2012. Flavonoids: biosynthesis, biological functions, and biotechnological applications. *Frontiers in plant science*, 3.
122. FARHANCHI, A., KARKHANEI, B., AMANI, N., AGHAJANLOO, M., KHANLARZADEH, E. & EMAMI, Z. 2018. Association of Serum Serotonin and Pain in Patients with Chronic Low Back Pain before and after Spinal Surgery. *Pain research and treatment*, 2018.
123. FEINGLASS, J., MORASCH, M. & MCCARTHY, W. 2000. Measures of success and health-related quality of life in lower-extremity vascular surgery. *Annual review of medicine*, 51.
124. FINZGAR, M., MELIK, Z. & CANKAR, K. 2015. Effect of transcutaneous application of gaseous carbon dioxide on cutaneous microcirculation. *Clin Hemorheol Microcirc*, 60, 423-35.
125. FINŽGAR, M., FRANGEŽ, H., CANKAR, K. & FRANGEŽ, I. 2021. Transcutaneous application of the gaseous CO₂ for improvement of the microvascular function in patients with diabetic foot ulcers. *Microvascular research*, 133.
126. FOKKENROOD, H., BENDERMACHER, B., LAURET, G., WILLIGENDAEL, E., PRINS, M. & TEIJINK, J. 2013. Supervised exercise therapy versus non-supervised exercise therapy for intermittent claudication. *The Cochrane database of systematic reviews*.
127. FOLSOM, A. R., PANKOW, J. S., TRACY, R. P., ARNETT, D. K., PEACOCK, J. M., HONG, Y., DJOUSSÉ, L. & ECKFELDT, J. H. 2001. Association of C-reactive protein with markers of prevalent atherosclerotic disease. *Am J Cardiol*, 88, 112-7.
128. FONTANA, L. 2018. Interventions to promote cardiometabolic health and slow cardiovascular ageing. *Nature reviews. Cardiology*, 15.
129. FORSYTHE, R., APELQVIST, J., BOYKO, E., FITRIDGE, R., HONG, J., KATSANOS, K., MILLS, J., NIKOL, S., REEKERS, J., VENERMO, M., ZIERLER, R., SCHAPER, N. & HINCHLIFFE, R. 2020. Effectiveness of bedside investigations to diagnose peripheral artery disease among people with diabetes mellitus: A systematic review. *Diabetes/metabolism research and reviews*, 36 Suppl 1.
130. FOWKES, F., HOUSLEY, E., RIEMERSMA, R., MACINTYRE, C., CAWOOD, E., PRESCOTT, R. & RUCKLEY, C. 1992. Smoking, lipids, glucose intolerance, and blood pressure as risk factors for peripheral atherosclerosis compared with ischemic heart disease in the Edinburgh Artery Study. *American journal of epidemiology*, 135.

131. FOWKES, F., MURRAY, G., BUTCHER, I., HEALD, C., LEE, R., CHAMBLESS, L., FOLSOM, A., HIRSCH, A., DRAMAIX, M., DEBACKER, G., WAUTRECHT, J., KORNITZER, M., NEWMAN, A., CUSHMAN, M., SUTTON-TYRRELL, K., FOWKES, F., LEE, A., PRICE, J., D'AGOSTINO, R., MURABITO, J., NORMAN, P., JAMROZIK, K., CURB, J., MASAKI, K., RODRÍGUEZ, B., DEKKER, J., BOUTER, L., HEINE, R., NIJPELS, G., STEHOUWER, C., FERRUCCI, L., MCDERMOTT, M., STOFFERS, H., HOOI, J., KNOTTNERUS, J., OGREN, M., HEDBLAD, B., WITTEMAN, J., BRETELER, M., HUNINK, M., HOFMAN, A., CRIQUI, M., LANGER, R., FRONEK, A., HIATT, W., HAMMAN, R., RESNICK, H., GURALNIK, J. & MCDERMOTT, M. 2008. Ankle brachial index combined with Framingham Risk Score to predict cardiovascular events and mortality: a meta-analysis. *JAMA*, 300.
132. FOWKES, F., PRICE, J., STEWART, M., BUTCHER, I., LENG, G., PELL, A., SANDERCOCK, P., FOX, K., LOWE, G. & MURRAY, G. 2010. Aspirin for prevention of cardiovascular events in a general population screened for a low ankle brachial index: a randomized controlled trial. *JAMA*, 303.
133. FOWKES, F. G., RUDAN, D., RUDAN, I., ABOYANS, V., DENENBERG, J. O., MCDERMOTT, M. M., NORMAN, P. E., SAMPSON, U. K., WILLIAMS, L. J., MENSAH, G. A. & CRIQUI, M. H. 2013. Comparison of global estimates of prevalence and risk factors for peripheral artery disease in 2000 and 2010: a systematic review and analysis. *Lancet*, 382, 1329-40.
134. FOWLER, M. 2008. Microvascular and Macrovascular Complications of Diabetes. *Clinical Diabetes*, 26, 72-82.
135. FUDIM, M., HOPLEY, C., HUANG, Z., KAVANAGH, S., ROCKHOLD, F., BAUMGARTNER, I., BERGER, J., BLOMSTER, J., FOWKES, F., KATONA, B., MAHAFFEY, K., NORNGREN, L., OSTROM, C., PATEL, M., JONES, W. & HIATT, W. 2020. Association of Hypertension and Arterial Blood Pressure on Limb and Cardiovascular Outcomes in Symptomatic Peripheral Artery Disease: The EUCLID Trial. *Circulation. Cardiovascular quality and outcomes*, 13.
136. FURUKAWA, S., FUJITA, T., SHIMABUKURO, M., IWAKI, M., YAMADA, Y., NAKAJIMA, Y., NAKAYAMA, O., MAKISHIMA, M., MATSUDA, M. & SHIMOMURA, I. 2004. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *The Journal of clinical investigation*, 114.
137. GALEA, S. & TRACY, M. 2007. Participation rates in epidemiologic studies. *Annals of epidemiology*, 17.

138. GALLINO, A., ABOYANS, V., DIEHM, C., COSENTINO, F., STRICKER, H., FALK, E., SCHOUTEN, O., LEKAKIS, J., AMANN-VESTI, B., SICLARI, F., POREDOS, P., NOVO, S., BRODMANN, M., SCHULTE, K., VLACHOPOULOS, C., DE CATERINA, R., LIBBY, P. & BAUMGARTNER, I. 2014. Non-coronary atherosclerosis. *European heart journal*, 35.
139. GANG, L., YANYAN, Z., ZHONGWEI, Z. & JUAN, D. 2017. Association between mean platelet volume and hypertension incidence. *Hypertens Res*, 40, 779-784.
140. GANGULY, P. & ALAM, S. F. 2015. Role of homocysteine in the development of cardiovascular disease. *Nutr J*, 14, 6.
141. GARDNER, A., BRIGHT, B., ORT, K. & MONTGOMERY, P. 2011. Dietary intake of participants with peripheral artery disease and claudication. *Angiology*, 62.
142. GARG, P. K., LIU, K., FERRUCCI, L., GURALNIK, J. M., CRIQUI, M. H., TIAN, L., SUFIT, R., NISHIDA, T., TAO, H., LIAO, Y. & MCDERMOTT, M. M. 2011. Lower extremity nerve function, calf skeletal muscle characteristics, and functional performance in peripheral arterial disease. *J Am Geriatr Soc*, 59, 1855-63.
143. GBD 2016 RISK FACTORS COLLABORATORS 2017. Global, regional, and national comparative risk assessment of 84 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet (London, England)*, 390.
144. GEORGE, J., RAPSOMANIKI, E., PUJADES-RODRIGUEZ, M., SHAH, A. D., DENAXAS, S., HERRETT, E., SMEETH, L., TIMMIS, A. & HEMINGWAY, H. 2015. How Does Cardiovascular Disease First Present in Women and Men? Incidence of 12 Cardiovascular Diseases in a Contemporary Cohort of 1,937,360 People. *Circulation*, 132, 1320-8.
145. GERHARD-HERMAN, M., GORNIK, H., BARRETT, C., BARSHES, N., CORRIERE, M., DRACHMAN, D., FLEISHER, L., FOWKES, F., HAMBURG, N., KINLAY, S., LOOKSTEIN, R., MISRA, S., MUREEBE, L., OLIN, J., PATEL, R., REGENSTEINER, J., SCHANZER, A., SHISHEHBOR, M., STEWART, K., TREAT-JACOBSON, D. & WALSH, M. 2017. 2016 AHA/ACC Guideline on the Management of Patients With Lower Extremity Peripheral Artery Disease: Executive Summary: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. *Journal of the American College of Cardiology*, 69.
146. GERSTEIN, H., MILLER, M., BYINGTON, R., GOFF, D., BIGGER, J., BUSE, J., CUSHMAN, W., GENUTH, S., ISMAIL-BEIGI, F., GRIMM, R., PROBSTFIELD, J.,

- SIMONS-MORTON, D. & FRIEDEWALD, W. 2008. Effects of intensive glucose lowering in type 2 diabetes. *The New England journal of medicine*, 358.
147. GHOSH, R., WALSH, S., TANG, T., NOORANI, A. & HAYES, P. 2008. Gene therapy as a novel therapeutic option in the treatment of peripheral vascular disease: systematic review and meta-analysis. *International journal of clinical practice*, 62.
 148. GIUNTA, R., COPPOLA, A., LUONGO, C., SAMMARTINO, A., GUASTAFIERRO, S., GRASSIA, A., GIUNTA, L., MASCOLO, L., TIRELLI, A. & COPPOLA, L. 2001. Ozonized autohemotransfusion improves hemorheological parameters and oxygen delivery to tissues in patients with peripheral occlusive arterial disease. *Annals of hematology*, 80.
 149. GLOBAL BURDEN OF DISEASE CANCER COLLABORATION 2019. Global, Regional, and National Cancer Incidence, Mortality, Years of Life Lost, Years Lived With Disability, and Disability-Adjusted Life-Years for 29 Cancer Groups, 1990 to 2017: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study. *JAMA oncology*, 5.
 150. GOLLEDGE, J., DROVANDI, A., ROWBOTHAM, S., VELU, R., QUIGLEY, F. & JENKINS, J. 2021. Control of modifiable risk factors and major adverse cardiovascular events in people with peripheral artery disease and diabetes. *World journal of diabetes*, 12.
 151. GOMARASCHI, M., ADORNI, M. P., BANACH, M., BERNINI, F., FRANCESCHINI, G. & CALABRESI, L. 2015. Effects of established hypolipidemic drugs on HDL concentration, subclass distribution, and function. *Handb Exp Pharmacol*, 224, 593-615.
 152. GOSH, S. & MAJUMDER, M. 2018. Quality of life as a predictor of postoperative outcome following revascularization of peripheral arterial disease. *Int Surg J*, 5, 315-319.
 153. GOTTO, A. 2007. Establishing the benefit of statins in low-to-moderate-risk primary prevention: the Air Force/Texas Coronary Atherosclerosis Prevention Study (AFCAPS/TexCAPS). *Atherosclerosis. Supplements*, 8.
 154. GREENLAND, P., ALPERT, J. S., BELLER, G. A., BENJAMIN, E. J., BUDOFF, M. J., FAYAD, Z. A., FOSTER, E., HLATKY, M. A., HODGSON, J. M., KUSHNER, F. G., LAUER, M. S., SHAW, L. J., SMITH, S. C., JR., TAYLOR, A. J., WEINTRAUB, W. S., WENGER, N. K., JACOBS, A. K., ANDERSON, J. L., ALBERT, N., BULLER, C. E., CREAGER, M. A., ETTINGER, S. M., GUYTON, R. A., HALPERIN, J. L., HOCHMAN, J. S., NISHIMURA, R., OHMAN, E. M., PAGE, R. L., STEVENSON, W. G., TARKINGTON, L. G. & YANCY, C. W. 2010. 2010 ACCF/AHA guideline for assessment of cardiovascular risk in asymptomatic adults: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *J Am Coll Cardiol*, 56, e50-103.

155. GRENON, S., CHONG, K., ALLEY, H., NOSOVA, E., GASPER, W., HIRAMOTO, J., BOSCARDIN, W. & OWENS, C. 2014. Walking disability in patients with peripheral artery disease is associated with arterial endothelial function. *Journal of vascular surgery*, 59.
156. GRESZTA, E. & SIEMIŃSKA, M. 2008. Relationship of preoperative anxiety-state and anxiety-trait in patients qualified for coronary artery bypass graft surgery to the perception of postoperative pain and other pain complaints. *Annales Academiae Medicae Stetinensis*, 54.
157. GRUNDY, S., STONE, N., BAILEY, A., BEAM, C., BIRTCHER, K., BLUMENTHAL, R., BRAUN, L., DE FERRANTI, S., FAIELLA-TOMMASINO, J. & FORMAN, D. 2019. Correction to: Systematic Review for the 2018 AHA/ACC/AACVPR/AAPA/ABC/ACPM/ADA/AGS/APhA/ASPC/NLA/PCNA Guideline on the Management of Blood Cholesterol: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. *Circulation*, 139.
158. GRUNDY, S. M., CLEEMAN, J. I., MERZ, C. N., BREWER, H. B., JR., CLARK, L. T., HUNNINGHAKE, D. B., PASTERNAK, R. C., SMITH, S. C., JR. & STONE, N. J. 2004. Implications of recent clinical trials for the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III guidelines. *Circulation*, 110, 227-39.
159. GUIDON, M. & MCGEE, H. 2013. One-year effect of a supervised exercise programme on functional capacity and quality of life in peripheral arterial disease. *Disability and rehabilitation*, 35.
160. GUPTA, D., SKALI, H., CLAGGETT, B., KASABOV, R., CHENG, S., SHAH, A., LOEHR, L., HEISS, G., NAMBI, V., AGUILAR, D., WRUCK, L., MATSUSHITA, K., FOLSOM, A., ROSAMOND, W. & SOLOMON, S. 2014. Heart failure risk across the spectrum of ankle-brachial index: the ARIC study (Atherosclerosis Risk In Communities). *JACC. Heart failure*, 2.
161. GUYTON, J., SLEE, A., ANDERSON, T., FLEG, J., GOLDBERG, R., KASHYAP, M., MARCOVINA, S., NASH, S., O'BRIEN, K., WEINTRAUB, W., XU, P., ZHAO, X. & BODEN, W. 2013. Relationship of lipoproteins to cardiovascular events: the AIM-HIGH Trial (Atherothrombosis Intervention in Metabolic Syndrome With Low HDL/High Triglycerides and Impact on Global Health Outcomes). *Journal of the American College of Cardiology*, 62.

162. GUZELHAN, Y., OZTAS, D., CONKBAYIR, C., RODOPLU, O., ERDINC, I., CANBAY, C., UGURLUCAN, M., ALPAGUT, U. & BOZBUGA, N. 2020. Assessment of anxiety and health-related quality of life in patients with lower extremity peripheral arterial occlusive disease. *Archives of medical sciences. Atherosclerotic diseases*, 5.
163. GUZIK, T. J. 2002. Znaczenie wolnych rodników tlenowych w patogenezie dysfunkcji śródbłonkowej. *Kardiologia Pol.*, 57, 36-45.
164. GUÉANT-RODRIGUEZ, R. M., SPADA, R., MORENO-GARCIA, M., ANELLO, G., BOSCO, P., LAGROST, L., ROMANO, A., ELIA, M. & GUÉANT, J. L. 2011. Homocysteine is a determinant of ApoA-I and both are associated with ankle brachial index, in an ambulatory elderly population. *Atherosclerosis*, 214, 480-5.
165. HAGSTROMER, M., OJA, P. & SJOSTROM, M. 2006. The International Physical Activity Questionnaire (IPAQ): a study of concurrent and construct validity. *Public Health Nutr*, 9, 755-62.
166. HALES, C., FRYAR, C., CARROLL, M., FREEDMAN, D. & OGDEN, C. 2018. Trends in Obesity and Severe Obesity Prevalence in US Youth and Adults by Sex and Age, 2007-2008 to 2015-2016. *JAMA*, 319.
167. HARRIS, S., ROOS, M. & LANDRY, G. 2016. Statin use in patients with peripheral arterial disease. *Journal of vascular surgery*, 64.
168. HARTMANN, B. R., BASSENGE, E. & HARTMANN, M. 1997. Effects of serial percutaneous application of carbon dioxide in intermittent claudication: results of a controlled trial. *Angiology*, 48, 957-63.
169. HE, F., NOWSON, C., LUCAS, M. & MACGREGOR, G. 2007. Increased consumption of fruit and vegetables is related to a reduced risk of coronary heart disease: meta-analysis of cohort studies. *Journal of human hypertension*, 21.
170. HE, M., QIN, X., CUI, Y., CAI, Y., SUN, L., XU, X., WANG, B., TANG, G., XING, H., WANG, X., XU, X. & HUO, Y. 2012. Prevalence of unrecognized lower extremity peripheral arterial disease and the associated factors in chinese hypertensive adults. *The American journal of cardiology*, 110.
171. HEALD, C., FOWKES, F., MURRAY, G. & PRICE, J. 2006. Risk of mortality and cardiovascular disease associated with the ankle-brachial index: Systematic review. *Atherosclerosis*, 189.
172. HEALY, G., WIJNDAELE, K., DUNSTAN, D., SHAW, J., SALMON, J., ZIMMET, P. & OWEN, N. 2008. Objectively measured sedentary time, physical activity, and metabolic risk: the Australian Diabetes, Obesity and Lifestyle Study (AusDiab). *Diabetes care*, 31.

173. HEART OUTCOMES PREVENTION EVALUATION STUDY INVESTIGATORS, YUSUF, S., SLEIGHT, P., POGUE, J., BOSCH, J., DAVIES, R. & DAGENAIS, G. 2000. Effects of an angiotensin-converting-enzyme inhibitor, ramipril, on cardiovascular events in high-risk patients. *The New England journal of medicine*, 342.
174. HEART PROTECTION STUDY COLLABORATIVE GROUP 2002. MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol lowering with simvastatin in 20,536 high-risk individuals: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet*, 360.
175. HEFFRON, S., ROCKMAN, C., GIANOS, E., GUO, Y. & BERGER, J. 2015. Greater frequency of nut consumption is associated with lower prevalence of peripheral arterial disease. *Preventive medicine*, 72.
176. HENEGHAN, H. M. & SULTAN, S. 2008. Homocysteine, the cholesterol of the 21st century. Impact of hyperhomocysteinemia on patency and amputation-free survival after intervention for critical limb ischemia. *J Endovasc Ther*, 15, 399-407.
177. HENRY, T., ANNEX, B., MCKENDALL, G., AZRIN, M., LOPEZ, J., GIORDANO, F., SHAH, P., WILLERSON, J., BENZA, R., BERMAN, D., GIBSON, C., BAJAMONDE, A., RUNDLE, A., FINE, J. & MCCLUSKEY, E. 2003. The VIVA trial: Vascular endothelial growth factor in Ischemia for Vascular Angiogenesis. *Circulation*, 107.
178. HESS, C., HUANG, Z., PATEL, M., BAUMGARTNER, I., BERGER, J., BLOMSTER, J., FOWKES, F., HELD, P., JONES, W., KATONA, B., MAHAFFEY, K., NORGREN, L., ROCKHOLD, F. & HIATT, W. 2019. Acute Limb Ischemia in Peripheral Artery Disease. *Circulation*, 140.
179. HIATT, W., FOWKES, F., HEIZER, G., BERGER, J., BAUMGARTNER, I., HELD, P., KATONA, B., MAHAFFEY, K., NORGREN, L., JONES, W., BLOMSTER, J., MILLEGÅRD, M., REIST, C. & PATEL, M. 2017. Ticagrelor versus Clopidogrel in Symptomatic Peripheral Artery Disease. *The New England journal of medicine*, 376.
180. HIATT, W. R. & BRASS, E. P. 2006. Pathophysiology of intermittent claudication. In: CREAGER, M. A., DZAU, V. J. & LOSCALZO, J. (eds.) *Vascular Medicine: A Companion to Braunwald's Heart Disease*. Philadelphia: Saunders, Elsevier.
181. HIGUCHI, M., DUSTING, G., PESHAVARIYA, H., JIANG, F., HSIAO, S., CHAN, E. & LIU, G. 2013. Differentiation of human adipose-derived stem cells into fat involves reactive oxygen species and Forkhead box O1 mediated upregulation of antioxidant enzymes. *Stem cells and development*, 22.
182. HIRATA, A., SUGIYAMA, D., WATANABE, M., TAMAKOSHI, A., ISO, H., KOTANI, K., KIYAMA, M., YAMADA, M., ISHIKAWA, S., MURAKAMI, Y.,

- MIURA, K., UESHIMA, H. & OKAMURA, T. 2018. Association of extremely high levels of high-density lipoprotein cholesterol with cardiovascular mortality in a pooled analysis of 9 cohort studies including 43,407 individuals: The EPOCH-JAPAN study. *Journal of clinical lipidology*, 12.
183. HIRSCH, A. T., CRIQUI, M. H., TREAT-JACOBSON, D., REGENSTEINER, J. G., CREAGER, M. A., OLIN, J. W., KROOK, S. H., HUNNINGHAKE, D. B., COMEROTA, A. J., WALSH, M. E., MCDERMOTT, M. M. & HIATT, W. R. 2001. Peripheral arterial disease detection, awareness, and treatment in primary care. *Jama*, 286, 1317-24.
184. HIRSCH, A. T., HASKAL, Z. J., HERTZER, N. R., BAKAL, C. W., CREAGER, M. A., HALPERIN, J. L., HIRATZKA, L. F., MURPHY, W. R., OLIN, J. W., PUSCHETT, J. B., ROSENFELD, K. A., SACKS, D., STANLEY, J. C., TAYLOR, L. M., JR., WHITE, C. J., WHITE, J., WHITE, R. A., ANTMAN, E. M., SMITH, S. C., JR., ADAMS, C. D., ANDERSON, J. L., FAXON, D. P., FUSTER, V., GIBBONS, R. J., HUNT, S. A., JACOBS, A. K., NISHIMURA, R., ORNATO, J. P., PAGE, R. L. & RIEGEL, B. 2006a. ACC/AHA 2005 guidelines for the management of patients with peripheral arterial disease (lower extremity, renal, mesenteric, and abdominal aortic): executive summary a collaborative report from the American Association for Vascular Surgery/Society for Vascular Surgery, Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, Society for Vascular Medicine and Biology, Society of Interventional Radiology, and the ACC/AHA Task Force on Practice Guidelines (Writing Committee to Develop Guidelines for the Management of Patients With Peripheral Arterial Disease) endorsed by the American Association of Cardiovascular and Pulmonary Rehabilitation; National Heart, Lung, and Blood Institute; Society for Vascular Nursing; TransAtlantic Inter-Society Consensus; and Vascular Disease Foundation. *J Am Coll Cardiol*, 47, 1239-312.
185. HIRSCH, A. T., HASKAL, Z. J., HERTZER, N. R., BAKAL, C. W., CREAGER, M. A., HALPERIN, J. L., HIRATZKA, L. F., MURPHY, W. R., OLIN, J. W., PUSCHETT, J. B., ROSENFELD, K. A., SACKS, D., STANLEY, J. C., TAYLOR, L. M., JR., WHITE, C. J., WHITE, J., WHITE, R. A., ANTMAN, E. M., SMITH, S. C., JR., ADAMS, C. D., ANDERSON, J. L., FAXON, D. P., FUSTER, V., GIBBONS, R. J., HUNT, S. A., JACOBS, A. K., NISHIMURA, R., ORNATO, J. P., PAGE, R. L. & RIEGEL, B. 2006b. ACC/AHA Guidelines for the Management of Patients with Peripheral Arterial Disease (lower extremity, renal, mesenteric, and abdominal aortic): a collaborative report from the American Associations for Vascular Surgery/Society for Vascular Surgery, Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, Society for Vascular Medicine and

- Biology, Society of Interventional Radiology, and the ACC/AHA Task Force on Practice Guidelines (writing committee to develop guidelines for the management of patients with peripheral arterial disease)--summary of recommendations. *J Vasc Interv Radiol*, 17, 1383-97; quiz 1398.
186. HOLLER, D., CLAES, C. & VON DER SCHULENBURG, J. 2004. Treatment costs and quality of life of patients with peripheral arterial occlusive disease--the German perspective. *VASA. Zeitschrift für Gefasskrankheiten*, 33.
 187. HOLMAN, R., PAUL, S., BETHEL, M., MATTHEWS, D. & NEIL, H. 2008. 10-year follow-up of intensive glucose control in type 2 diabetes. *The New England journal of medicine*, 359.
 188. HOMOCYSTEINE STUDIES COLLABORATION 2002. Homocysteine and risk of ischemic heart disease and stroke: a meta-analysis. *JAMA*, 288.
 189. HONARBAKHSI, S. & SCHACHTER, M. 2009. Vitamins and cardiovascular disease. *The British journal of nutrition*, 101.
 190. HONG, J., LIU, W., HU, X., JIANG, F., XU, Z., LI, F., SHEN, F. & ZHU, H. 2021. Association between heart rate-corrected QT interval and severe peripheral arterial disease in patients with type 2 diabetes and foot ulcers. *Endocrine connections*.
 191. HONG, Y., SEBASTIANSKI, M., MAKOWSKY, M., TSUYUKI, R. & MCMURTRY, M. 2016. Administrative data are not sensitive for the detection of peripheral artery disease in the community. *Vascular medicine (London, England)*, 21.
 192. HOOGERBRUGGE, N., DE GROOT, E., DE HEIDE, L., DE RIDDER, M., BIRKENHÄGER, J., STIJNEN, T. & JANSEN, H. 2002. Doxazosin and hydrochlorothiazide equally affect arterial wall thickness in hypertensive males with hypercholesterolaemia (the DAPHNE study). Doxazosin Atherosclerosis Progression Study in Hypertensives in the Netherlands. *The Netherlands journal of medicine*, 60.
 193. HOOI, J., KESTER, A., STOFFERS, H., OVERDIJK, M., VAN REE, J. & KNOTTNERUS, J. 2001. Incidence of and risk factors for asymptomatic peripheral arterial occlusive disease: a longitudinal study. *American journal of epidemiology*, 153.
 194. HORVATH, T., ANDREWS, Z. & DIANO, S. 2009. Fuel utilization by hypothalamic neurons: roles for ROS. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM*, 20.
 195. HU, F., RIMM, E., SMITH-WARNER, S., FESKANICH, D., STAMPFER, M., ASCHERIO, A., SAMPSON, L. & WILLETT, W. 1999. Reproducibility and validity of dietary patterns assessed with a food-frequency questionnaire. *The American journal of clinical nutrition*, 69.

196. HUMPHREY, L. L., FU, R., ROGERS, K., FREEMAN, M. & HELFAND, M. 2008. Homocysteine level and coronary heart disease incidence: a systematic review and meta-analysis. *Mayo Clin Proc*, 83, 1203-12.
197. HUNG, H., MERCHANT, A., WILLETT, W., ASCHERIO, A., ROSNER, B., RIMM, E. & JOSHIPURA, K. 2003. The association between fruit and vegetable consumption and peripheral arterial disease. *Epidemiology (Cambridge, Mass.)*, 14.
198. ICLI, A., AKSOY, F., DOGAN, A., ARSLAN, A., AKCAY, S., YÜCEL, H., ERSOY, I. & GORGULU, O. 2014. Increased mean platelet volume in hypertrophic cardiomyopathy. *Angiology*, 65, 420-4.
199. INGOLFSSON, I., SIGURDSSON, G., SIGVALDASON, H., THORGEIRSSON, G. & SIGFUSSON, N. 1994. A marked decline in the prevalence and incidence of intermittent claudication in Icelandic men 1968-1986: a strong relationship to smoking and serum cholesterol--the Reykjavik Study. *Journal of clinical epidemiology*, 47.
200. ITOGA, N., TAWFIK, D., LEE, C., MARUYAMA, S., LEEPER, N. & CHANG, T. 2018. Association of Blood Pressure Measurements With Peripheral Artery Disease Events. *Circulation*, 138.
201. JAMES, S., MUIR, J., CURTIS, S. & GIBSON, P. 2003. Dietary fibre: a roughage guide. *Internal medicine journal*, 33.
202. JIANG, R., JACOBS, D., MAYER-DAVIS, E., SZKLO, M., HERRINGTON, D., JENNY, N., KRONMAL, R. & BARR, R. 2006. Nut and seed consumption and inflammatory markers in the multi-ethnic study of atherosclerosis. *American journal of epidemiology*, 163.
203. JO, A. & MAINOUS, A. 2018. Informational value of percent body fat with body mass index for the risk of abnormal blood glucose: a nationally representative cross-sectional study. *BMJ open*, 8.
204. JOHNSTON-COX, H. & RAVID, K. 2011. Adenosine and blood platelets. *Purinergic signalling*, 7.
205. JONES, W., PATEL, M., DAI, D., SUBHERWAL, S., STAFFORD, J., CALHOUN, S. & PETERSON, E. 2012. Temporal trends and geographic variation of lower-extremity amputation in patients with peripheral artery disease: results from U.S. Medicare 2000-2008. *Journal of the American College of Cardiology*, 60.
206. JONES, W., PATEL, M., DAI, D., VEMULAPALLI, S., SUBHERWAL, S., STAFFORD, J. & PETERSON, E. 2013. High mortality risks after major lower extremity amputation in Medicare patients with peripheral artery disease. *American heart journal*, 165.

207. JOOSTEN, M., PAI, J., BERTOIA, M., RIMM, E., SPIEGELMAN, D., MITTLEMAN, M. & MUKAMAL, K. 2012. Associations Between Conventional Cardiovascular Risk Factors and Risk of Peripheral Artery Disease in Men. *JAMA*, 308.
208. JORENBY, D., LEISCHOW, S., NIDES, M., RENNARD, S., JOHNSTON, J., HUGHES, A., SMITH, S., MURAMOTO, M., DAUGHTON, D., DOAN, K., FIORE, M. & BAKER, T. 1999. A controlled trial of sustained-release bupropion, a nicotine patch, or both for smoking cessation. *The New England journal of medicine*, 340.
209. JUDE, E., OYIBO, S., CHALMERS, N. & BOULTON, A. 2001. Peripheral arterial disease in diabetic and nondiabetic patients: a comparison of severity and outcome. *Diabetes care*, 24.
210. JĘDRUSIK, P. 2010. Choroba tętnic obwodowych - aktualne poglądy na temat rozpoznawania i leczenia (cz. 1). *Medycyna po Dyplomie*, 19, 73-83.
211. KAHN, S., COOPER, M. & DEL, P., S 2014. Pathophysiology and treatment of type 2 diabetes: perspectives on the past, present, and future. *Lancet (London, England)*, 383.
212. KANNEL, W. & MCGEE, D. 1985. Update on some epidemiologic features of intermittent claudication: the Framingham Study. *Journal of the American Geriatrics Society*, 33.
213. KAPOOR, R., AYERS, C., VISOTCKY, A., MASON, P. & KULINSKI, J. 2018. Association of sex and height with a lower ankle brachial index in the general population. *Vascular medicine (London, England)*, 23.
214. KARAGOZ, I., AKTAS, G., YOLDAS, H., YILDIZ, I., OGUN, M. N., BILGI, M. & DEMIRHAN, A. 2019. Association Between Hemogram Parameters and Survival of Critically Ill Patients. *J Intensive Care Med*, 34, 511-513.
215. KATAN, M., GRUNDY, S., JONES, P., LAW, M., MIETTINEN, T. & PAOLETTI, R. 2003. Efficacy and safety of plant stanols and sterols in the management of blood cholesterol levels. *Mayo Clinic proceedings*, 78.
216. KEARNS, S., DALY, A., SHEEHAN, K., MURRAY, P., KELLY, C. & BOUCHIER-HAYES, D. 2004. Oral vitamin C reduces the injury to skeletal muscle caused by compartment syndrome. *The Journal of bone and joint surgery. British volume*, 86.
217. KEENE, D., PRICE, C., SHUN-SHIN, M. & FRANCIS, D. 2014. Effect on cardiovascular risk of high density lipoprotein targeted drug treatments niacin, fibrates, and CETP inhibitors: meta-analysis of randomised controlled trials including 117,411 patients. *BMJ (Clinical research ed.)*, 349.

218. KHAMMASH, M., OBEIDAT, K. & EL-QARQAS, E. 2008. Screening of hospitalised diabetic patients for lower limb ischaemia: is it necessary? *Singapore medical journal*, 49.
219. KHOT, U. N., KHOT, M. B., BAJZER, C. T., SAPP, S. K., OHMAN, E. M., BRENER, S. J., ELLIS, S. G., LINCOFF, A. M. & TOPOL, E. J. 2003. Prevalence of conventional risk factors in patients with coronary heart disease. *Jama*, 290, 898-904.
220. KING, D., EGAN, B. & GEESEY, M. 2003. Relation of dietary fat and fiber to elevation of C-reactive protein. *The American journal of cardiology*, 92.
221. KINLAY, S., BEHRENDT, D., FANG, J., DELAGRANGE, D., MORROW, J., WITZTUM, J., RIFAI, N., SELWYN, A., CREAGER, M. & GANZ, P. 2004. Long-term effect of combined vitamins E and C on coronary and peripheral endothelial function. *Journal of the American College of Cardiology*, 43.
222. KLEIJNEN, J. & MACKERRAS, D. 2000. Vitamin E for intermittent claudication. *The Cochrane database of systematic reviews*, 1998.
223. KLIPSTEIN-GROBUSCH, K., DEN BREEIJEN, J., GROBBEE, D., BOEING, H., HOFMAN, A. & WITTEMAN, J. 2001. Dietary antioxidants and peripheral arterial disease : the Rotterdam Study. *American journal of epidemiology*, 154.
224. KOLH, P. 2010. Improving quality of life in patients with peripheral arterial disease: an important goal. *European journal of vascular and endovascular surgery : the official journal of the European Society for Vascular Surgery*, 40.
225. KONTUSH, A. 2020. HDL and Reverse Remnant-Cholesterol Transport (RRT): Relevance to Cardiovascular Disease. *Trends in molecular medicine*, 26.
226. KONTUSH, A. & CHAPMAN, J. 2006. Functionally Defective High-Density Lipoprotein: A New Therapeutic Target at the Crossroads of Dyslipidemia, Inflammation, and Atherosclerosis.
227. KORHONEN, P., SEPPÄLÄ, T., KAUTIAINEN, H., JÄRVENPÄÄ, S., AARNIO, P. & KIVELÄ, S. 2012. Ankle-brachial index and health-related quality of life. *European journal of preventive cardiology*, 19.
228. KORNERUP, K., NORDESTGAARD, B., FELDT-RASMUSSEN, B., BORCH-JOHNSEN, K., JENSEN, K. & JENSEN, J. 2003. Increased transvascular low density lipoprotein transport in insulin dependent diabetes: a mechanistic model for development of atherosclerosis. *Atherosclerosis*, 170.
229. KOU, M., DING, N., BALLEW, S., SALAMEH, M., MARTIN, S., SELVIN, E., HEISS, G., BALLANTYNE, C., MATSUSHITA, K. & HOOGEVEEN, R. 2021. Conventional

and Novel Lipid Measures and Risk of Peripheral Artery Disease. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 41.

230. KRAJEWSKI, L. P. & OLIN, J. W. 1996. Atherosclerosis of the aorta and lower-extremity arteries. In: YOUNG, J. R., OLIN, J. W. & BARTHOLOMEW, J. R. (eds.) *Peripheral Vascular Diseases*. 2nd ed. Philadelphia: PA: CV Mosb.
231. KRANZLER, J., GENDREAU, J. & RAO, S. 2002. The psychopharmacology of fibromyalgia: a drug development perspective. *Psychopharmacology bulletin*, 36.
232. KRIS-ETHERTON, P., HU, F., ROS, E. & SABATÉ, J. 2008. The role of tree nuts and peanuts in the prevention of coronary heart disease: multiple potential mechanisms. *The Journal of nutrition*, 138.
233. KULINSKI, J., SANGHAVI, M., AYERS, C., DAS, S., BANERJEE, S., BERRY, J., ADDO, T., DE LEMOS, J. & KUMBHANI, D. 2015. Association between low ankle-brachial index and accelerometer-derived sedentary and exercise time in the asymptomatic general population. *Vascular medicine (London, England)*, 20.
234. KUMAKURA, H., KANAI, H., HOJO, Y., IWASAKI, T. & ICHIKAWA, S. 2017. Long-term survival and fate of the leg in de novo intermittent claudication. *European heart journal. Quality of care & clinical outcomes*, 3.
235. KUMBHANI, D., STEG, P., CANNON, C., EAGLE, K., SMITH, S., GOTO, S., OHMAN, E., ELBEZ, Y., SRITARA, P., BAUMGARTNER, I., BANERJEE, S., CREAGER, M. & BHATT, D. 2014. Statin therapy and long-term adverse limb outcomes in patients with peripheral artery disease: insights from the REACH registry. *European heart journal*, 35.
236. KURANO, M. & YATOMI, Y. 2018. Sphingosine 1-Phosphate and Atherosclerosis. *Journal of atherosclerosis and thrombosis*, 25.
237. KÜHNAST, S., FIOCCO, M., VAN DER HOORN, J., PRINCEN, H. & JUKEMA, J. 2015. Innovative pharmaceutical interventions in cardiovascular disease: Focusing on the contribution of non-HDL-C/LDL-C-lowering versus HDL-C-raising: A systematic review and meta-analysis of relevant preclinical studies and clinical trials. *European journal of pharmacology*, 763.
238. LAMBERTI, N., MALAGONI, A., FICARRA, V., BASAGLIA, N., MANFREDINI, R., ZAMBONI, P., MASCOLI, F. & MANFREDINI, F. 2016. Structured Home-Based Exercise Versus Invasive Treatment: A Mission Impossible? A Pilot Randomized Study in Elderly Patients With Intermittent Claudication. *Angiology*, 67.

239. LANE, D. & LIP, G. 2013. Treatment of hypertension in peripheral arterial disease. *The Cochrane database of systematic reviews*.
240. LANE, J., MAGNO, C., LANE, K., CHAN, T., HOYT, D. & GREENFIELD, S. 2008. Nutrition impacts the prevalence of peripheral arterial disease in the United States. *Journal of vascular surgery*, 48.
241. LANE, R., HARWOOD, A., WATSON, L. & LENG, G. 2017. Exercise for intermittent claudication. *The Cochrane database of systematic reviews*, 12.
242. LANGE, S., DIEHM, C., DARIUS, H., HABERL, R., ALLENBERG, J., PITTROW, D., SCHUSTER, A., VON STRITZKY, B., TEPOHL, G. & TRAMPISCH, H. 2004. High prevalence of peripheral arterial disease and low treatment rates in elderly primary care patients with diabetes. *Experimental and clinical endocrinology & diabetes : official journal, German Society of Endocrinology [and] German Diabetes Association*, 112.
243. LANGLOIS, M., DUPREZ, D., DELANGHE, J., DE, B., M & CLEMENT, D. 2001. Serum vitamin C concentration is low in peripheral arterial disease and is associated with inflammation and severity of atherosclerosis. *Circulation*, 103.
244. LANZI, S., CALANCA, L., BERCHTOLD, A. & MAZZOLAI, L. 2021. Improvement in 6-Minute Walking Distance after Supervised Exercise Training Is Related to Changes in Quality of Life in Patients with Lower Extremity Peripheral Artery Disease. *Journal of clinical medicine*, 10.
245. LASOTA, A., GRØNHOLDT, M., BORK, C., LUNDBYE-CHRISTENSEN, S., SCHMIDT, E. & OVERVAD, K. 2019. Substitution of poultry and red meat with fish and the risk of peripheral arterial disease: a Danish cohort study. *European journal of nutrition*, 58.
246. LEDERMAN, R., MENDELSON, F., ANDERSON, R., SAUCEDO, J., TENAGLIA, A., HERMILLER, J., HILLEGASS, W., ROCHA-SINGH, K., MOON, T., WHITEHOUSE, M. & ANNEX, B. 2002. Therapeutic angiogenesis with recombinant fibroblast growth factor-2 for intermittent claudication (the TRAFFIC study): a randomised trial. *Lancet (London, England)*, 359.
247. LEDOUX, T., HINGLE, M. & BARANOWSKI, T. 2011. Relationship of fruit and vegetable intake with adiposity: a systematic review. *Obesity reviews : an official journal of the International Association for the Study of Obesity*, 12.
248. LEE, L., ARTHUR, A. & AVIS, M. 2008. Using self-efficacy theory to develop interventions that help older people overcome psychological barriers to physical activity: a discussion paper. *International journal of nursing studies*, 45.

249. LENG, G., LEE, A., FOWKES, F., WHITEMAN, M., DUNBAR, J., HOUSLEY, E. & RUCKLEY, C. 1996. Incidence, natural history and cardiovascular events in symptomatic and asymptomatic peripheral arterial disease in the general population. *International journal of epidemiology*, 25.
250. LEÓN FERNÁNDEZ, O., AJAMIEH, H., BERLANGA, J., MENÉNDEZ, S., VIEBAHN-HÁNSLER, R., RE, L. & CARMONA, A. 2008. Ozone oxidative preconditioning is mediated by A1 adenosine receptors in a rat model of liver ischemia/ reperfusion. *Transplant international : official journal of the European Society for Organ Transplantation*, 21.
251. LILES, D., KALLEN, M., PETERSEN, L. & BUSH, R. 2006. Quality of life and peripheral arterial disease. *The Journal of surgical research*, 136.
252. LIM, U. & CASSANO, P. A. 2002. Homocysteine and blood pressure in the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *Am J Epidemiol*, 156, 1105-13.
253. LINDGREN, H., GOTTSÄTER, A., QVARFORDT, P. & BERGMAN, S. 2016. All Cause Chronic Widespread Pain is Common in Patients with Symptomatic Peripheral Arterial Disease and is Associated with Reduced Health Related Quality of Life. *European journal of vascular and endovascular surgery : the official journal of the European Society for Vascular Surgery*, 52.
254. LIRA, V., BENTON, C., YAN, Z. & BONEN, A. 2010. PGC-1alpha regulation by exercise training and its influences on muscle function and insulin sensitivity. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism*, 299.
255. LONG, J., MODRALL, J., PARKER, B., SWANN, A., WELBORN, M. & ANTHONY, T. 2004. Correlation between ankle-brachial index, symptoms, and health-related quality of life in patients with peripheral vascular disease. *Journal of vascular surgery*, 39.
256. LONN, E., BOSCH, J., YUSUF, S., SHERIDAN, P., POGUE, J., ARNOLD, J., ROSS, C., ARNOLD, A., SLEIGHT, P., PROBSTFIELD, J., DAGENAIS, G. & HOPE AND HOPE-TOO TRIAL INVESTIGATORS 2005. Effects of long-term vitamin E supplementation on cardiovascular events and cancer: a randomized controlled trial. *JAMA*, 293.
257. LONN, E., YUSUF, S., ARNOLD, M., SHERIDAN, P., POGUE, J., MICKS, M., MCQUEEN, M., PROBSTFIELD, J., FODOR, G., HELD, C. & GENEST, J. 2006. Homocysteine lowering with folic acid and B vitamins in vascular disease. *The New England journal of medicine*, 354.

258. LOW WANG, C., BLOMSTER, J., HEIZER, G., BERGER, J., BAUMGARTNER, I., FOWKES, F., HELD, P., KATONA, B., NORGREN, L., JONES, W., LOPES, R., OLIN, J., ROCKHOLD, F., MAHAFFEY, K., PATEL, M. & HIATT, W. 2018. Cardiovascular and Limb Outcomes in Patients With Diabetes and Peripheral Artery Disease: The EUCLID Trial. *Journal of the American College of Cardiology*, 72.
259. LUGRIN, J., ROSENBLATT-VELIN, N., PARAPANOV, R. & LIAUDET, L. 2014. The role of oxidative stress during inflammatory processes. *Biological chemistry*, 395.
260. MACURA, M., BAN FRANGEZ, H., CANKAR, K., FINŽGAR, M. & FRANGEZ, I. 2020. The effect of transcutaneous application of gaseous CO₂ on diabetic chronic wound healing-A double-blind randomized clinical trial. *International wound journal*, 17.
261. MAKOWSKI, M., SMORAG, I., MAKOWSKA, J., BISSINGER, A., GRYCEWICZ, T., PAŚNIK, J., KIDAWA, M., LUBIŃSKI, A., ZIELIŃSKA, M. & BAJ, Z. 2017. Platelet reactivity and mean platelet volume as risk markers of thrombogenesis in atrial fibrillation. *Int J Cardiol*, 235, 1-5.
262. MAKRIS, K., NELLA, A., ZHU, Z., SWANSON, S., CASALE, G., GUTTI, T., JUDGE, A. & PIPINOS, I. 2007. Mitochondriopathy of peripheral arterial disease. *Vascular*, 15.
263. MAKSIMOVIC, M., VLAJINAC, H., MARINKOVIC, J., KOCEV, N., VOSKRESENSKI, T. & RADAK, D. 2014. Health-related quality of life among patients with peripheral arterial disease. *Angiology*, 65.
264. MAKSIMOVIC, M., VLAJINAC, H., RADAK, D., MARINKOVIC, J., MAKSIMOVIC, J. & JORGA, J. 2020. Association of overweight and obesity with cardiovascular risk factors in patients with atherosclerotic diseases. *Journal of medical biochemistry*, 39.
265. MALAGONI, A., VAGNONI, E., FELISATTI, M., MANDINI, S., HEIDARI, M., MASCOLI, F., BASAGLIA, N., MANFREDINI, R., ZAMBONI, P. & MANFREDINI, F. 2011. Evaluation of patient compliance, quality of life impact and cost-effectiveness of a "test in-train out" exercise-based rehabilitation program for patients with intermittent claudication. *Circulation journal : official journal of the Japanese Circulation Society*, 75.
266. MALMSTEDT, J., KÄRVESTEDT, L., SWEDENBORG, J. & BRISMAR, K. 2015. The receptor for advanced glycation end products and risk of peripheral arterial disease, amputation or death in type 2 diabetes: a population-based cohort study. *Cardiovascular diabetology*, 14.
267. MANAPURATHE, D., KRISHNA, S., DEWDNEY, B., MOXON, J., BIROS, E. & GOLLEDGE, J. 2017. Effect of blood pressure lowering medications on leg ischemia in

- peripheral artery disease patients: A meta-analysis of randomised controlled trials. *PloS one*, 12.
268. MANFREDINI, F., CONCONI, F., MALAGONI, A., MANFREDINI, R., BASAGLIA, N., MASCOLI, F., LIBONI, A. & ZAMBONI, P. 2004. Training guided by pain threshold speed. Effects of a home-based program on claudication. *International angiology : a journal of the International Union of Angiology*, 23.
 269. MANGIAFICO, R., MALATINO, L., SPADA, R., SANTONOCITO, M., MESSINA, R., DELL'ARTE, S. & ATTINÀ, T. 2000. Treadmill exercise-induced release of endothelin-1 in patients with peripheral arterial occlusive disease at Fontaine stage IIb. *International angiology : a journal of the International Union of Angiology*, 19.
 270. MANGIAFICO, R. A., RUSSO, E., RICCOBENE, S., PENNISI, P., MANGIAFICO, M., D'AMICO, F. & FIORE, C. E. 2006. Increased prevalence of peripheral arterial disease in osteoporotic postmenopausal women. *J Bone Miner Metab*, 24, 125-31.
 271. MANNA, P. & JAIN, S. 2015. Obesity, Oxidative Stress, Adipose Tissue Dysfunction, and the Associated Health Risks: Causes and Therapeutic Strategies. *Metabolic syndrome and related disorders*, 13.
 272. MARFELLA, R., LUONGO, C., COPPOLA, A., LUONGO, M., CAPODANNO, P., RUGGIERO, R., MASCOLO, L., AMBROSINO, I., SARDU, C., BOCCARDI, V., LETTIERI, B. & PAOLISSO, G. 2010. Use of a non-specific immunomodulation therapy as a therapeutic vasculogenesis strategy in no-option critical limb ischemia patients. *Atherosclerosis*, 208, 473-9.
 273. MARKANDAY, S., BRENNAN, S., GOULD, H. & PASCO, J. 2013. Sex-differences in Reasons for Non-Participation at Recruitment: Geelong Osteoporosis Study. *BMC research notes*, 6.
 274. MARKEL, A. 2015. Statins and peripheral arterial disease. *Int Angiol*, 34, 416-27.
 275. MARSO, S. & HIATT, W. 2006. Peripheral arterial disease in patients with diabetes. *Journal of the American College of Cardiology*, 47.
 276. MARTINEZ-SANCHEZ, G., AL-DALAIN, S. M., MENENDEZ, S., RE, L., GIULIANI, A., CANDELARIO-JALIL, E., ALVAREZ, H., FERNANDEZ-MONTEQUIN, J. I. & LEON, O. S. 2005. Therapeutic efficacy of ozone in patients with diabetic foot. *Eur J Pharmacol*, 523, 151-61.
 277. MARTINEZ-SANCHEZ, G., DELGADO-ROCHE, L., DIAZ-BATISTA, A., PEREZ-DAVISON, G. & RE, L. 2012. Effects of ozone therapy on haemostatic and oxidative stress index in coronary artery disease. *Eur J Pharmacol*, 691, 156-62.

278. MARUSZEWSKA, A. & SARAN, T. 2015. Zastosowanie suchej kąpieli kwasowęglowej w leczeniu polineuropatii cukrzycowej kończyn dolnych. *Acta Balneol*, LVII, 106-109.
279. MASCARENHAS, J., ALBAYATI, M., SHEARMAN, C. & JUDE, E. 2014. Peripheral arterial disease. *Endocrinology and metabolism clinics of North America*, 43.
280. MASSARO, M., SCODITTI, E., CARLUCCIO, M. & DE CATERINA, R. 2010. Nutraceuticals and prevention of atherosclerosis: focus on omega-3 polyunsaturated fatty acids and Mediterranean diet polyphenols. *Cardiovascular therapeutics*, 28.
281. MATSUMOTO, T., TANAKA, M., IKEJI, T., MAESHIGE, N., SAKAI, Y., AKISUE, T., KONDO, H., ISHIHARA, A. & FUJINO, H. 2019. Application of transcutaneous carbon dioxide improves capillary regression of skeletal muscle in hyperglycemia. *The journal of physiological sciences : JPS*, 69.
282. MATSUSHITA, K., BALLEW, S., SANG, Y., KALBAUGH, C., LOEHR, L., HIRSCH, A., TANAKA, H., HEISS, G., WINDHAM, B., SELVIN, E. & CORESH, J. 2017. Ankle-brachial index and physical function in older individuals: The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Atherosclerosis*, 257.
283. MAYS, R., CASSERLY, I., KOHRT, W., HO, P., HIATT, W., NEHLER, M. & REGENSTEINER, J. 2011. Assessment of functional status and quality of life in claudication. *Journal of vascular surgery*, 53.
284. MCDERMOTT, M. 2015. Lower extremity manifestations of peripheral artery disease: the pathophysiologic and functional implications of leg ischemia. *Circulation research*, 116.
285. MCDERMOTT, M., FERRUCCI, L., GURALNIK, J., TIAN, L., LIU, K., HOFF, F., LIAO, Y. & CRIQUI, M. 2009. Pathophysiological changes in calf muscle predict mobility loss at 2-year follow-up in men and women with peripheral arterial disease. *Circulation*, 120.
286. MCDERMOTT, M., FERRUCCI, L., LIU, K., GURALNIK, J., TIAN, L., LIAO, Y. & CRIQUI, M. 2010. Leg symptom categories and rates of mobility decline in peripheral arterial disease. *Journal of the American Geriatrics Society*, 58.
287. MCDERMOTT, M., FRIED, L., SIMONSICK, E., LING, S. & GURALNIK, J. 2000. Asymptomatic peripheral arterial disease is independently associated with impaired lower extremity functioning: the women's health and aging study. *Circulation*, 101.
288. MCDERMOTT, M., GURALNIK, J., TIAN, L., ZHAO, L., POLONSKY, T., KIBBE, M., CRIQUI, M., ZHANG, D., CONTE, M., DOMANCHUK, K., LI, L., SUFIT, R., LEEUWENBURGH, C. & FERRUCCI, L. 2020. Comparing 6-minute walk versus

- treadmill walking distance as outcomes in randomized trials of peripheral artery disease. *Journal of vascular surgery*, 71.
289. MCDERMOTT, M., LIU, K., CRIQUI, M., RUTH, K., GOFF, D., SAAD, M., WU, C., HOMMA, S. & SHARRETT, A. 2005. Ankle-brachial index and subclinical cardiac and carotid disease: the multi-ethnic study of atherosclerosis. *American journal of epidemiology*, 162.
 290. MCDERMOTT, M., LIU, K., FERRUCCI, L., TIAN, L., GURALNIK, J., LIAO, Y. & CRIQUI, M. 2011. Greater sedentary hours and slower walking speed outside the home predict faster declines in functioning and adverse calf muscle changes in peripheral arterial disease. *Journal of the American College of Cardiology*, 57.
 291. MCDERMOTT, M., LIU, K., GREENLAND, P., GURALNIK, J., CRIQUI, M., CHAN, C., PEARCE, W., SCHNEIDER, J., FERRUCCI, L., CELIC, L., TAYLOR, L., VONESH, E., MARTIN, G. & CLARK, E. 2004. Functional decline in peripheral arterial disease: associations with the ankle brachial index and leg symptoms. *JAMA*, 292.
 292. MCDERMOTT, M., SUFIT, R., NISHIDA, T., GURALNIK, J., FERRUCCI, L., TIAN, L., LIU, K., TAN, J., PEARCE, W., SCHNEIDER, J., SHARMA, L. & CRIQUI, M. 2006. Lower extremity nerve function in patients with lower extremity ischemia. *Archives of internal medicine*, 166.
 293. MCDERMOTT, M. M., GREENLAND, P., LIU, K., CRIQUI, M. H., GURALNIK, J. M., CELIC, L. & CHAN, C. 2003. Sex differences in peripheral arterial disease: leg symptoms and physical functioning. *J Am Geriatr Soc*, 51, 222-8.
 294. MCKAY, A., GUNN, L., SATHISH, T., VAMOS, E., NUGAWELA, M., MAJEED, A., MOLINA, G. & SIVAPRASAD, S. 2021. Associations between attainment of incentivised primary care indicators and incident diabetic retinopathy in England: a population-based historical cohort study. *BMC medicine*, 19.
 295. MCMAHON, G. & MCCARTHY, M. 2011. Molecular Approaches to Revascularization in Peripheral Vascular Disease. In: FITRIDGE, R. & THOMPSON, M. (eds.) *Mechanisms of Vascular Disease: A Reference Book for Vascular Specialists*. Adelaide (AU): University of Adelaide Press.
 296. MEHLER, P., COLL, J., ESTACIO, R., ESLER, A., SCHRIER, R. & HIATT, W. 2003. Intensive blood pressure control reduces the risk of cardiovascular events in patients with peripheral arterial disease and type 2 diabetes. *Circulation*, 107.
 297. MEIER, T., GRÄFE, K., SENN, F., SUR, P., STANGL, G., DAWCZYNSKI, C., MÄRZ, W., KLEBER, M. & LORKOWSKI, S. 2019. Cardiovascular mortality attributable to

- dietary risk factors in 51 countries in the WHO European Region from 1990 to 2016: a systematic analysis of the Global Burden of Disease Study. *European journal of epidemiology*, 34.
298. MEIJER, W., GROBBEE, D., HUNINK, M., HOFMAN, A. & HOES, A. 2000. Determinants of peripheral arterial disease in the elderly: the Rotterdam study. *Archives of internal medicine*, 160.
 299. MERCHANT, A., HU, F., SPIEGELMAN, D., WILLETT, W., RIMM, E. & ASCHERIO, A. 2003. Dietary fiber reduces peripheral arterial disease risk in men. *The Journal of nutrition*, 133.
 300. METAXA, E., MENG, H., KALUVALA, S., SZYMANSKI, M., PALUCH, R. & KOLEGA, J. 2008. Nitric oxide-dependent stimulation of endothelial cell proliferation by sustained high flow. *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology*, 295.
 301. MICHA, R., MICHAS, G., LAJOUS, M. & MOZAFFARIAN, D. 2013. Processing of meats and cardiovascular risk: time to focus on preservatives. *BMC medicine*, 11.
 302. MILTON, K., MACNIVEN, R. & BAUMAN, A. 2014. Review of the epidemiological evidence for physical activity and health from low- and middle-income countries. *Global public health*, 9.
 303. MINAMIYAMA, M. & YAMAMOTO, A. 2010. Direct evidence of the vasodilator action of carbon dioxide on subcutaneous microvasculature in rats by use of intra-vital. *J Biorheol*, 24, 42 - 46.
 304. MOCKFORD, K., GOHIL, R., MAZARI, F., KHAN, J., VANICEK, N., COUGHLIN, P. & CHETTER, I. 2014. Effect of supervised exercise on physical function and balance in patients with intermittent claudication. *The British journal of surgery*, 101.
 305. MONGRAW-CHAFFIN, M., CIRILLO, P. & COHN, B. 2010. Preeclampsia and cardiovascular disease death: prospective evidence from the child health and development studies cohort. *Hypertension (Dallas, Tex. : 1979)*, 56.
 306. MORENO-FERNÁNDEZ, A., MACÍAS-GARCÍA, L., VALVERDE-MORENO, R., ORTIZ, T., FERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ, A., MOLINÍ-ESTRADA, A. & DE-MIGUEL, M. 2019. Autohemotherapy with ozone as a possible effective treatment for Fibromyalgia. *Acta reumatologica portuguesa*, 44.
 307. MORLEY, R. L., SHARMA, A., HORSCH, A. D. & HINCHLIFFE, R. J. 2018. Peripheral Artery Disease. *BMJ (Clinical research ed.)*, 360.

308. MULLENIX, P. S., STEELE, S. R., MARTIN, M. J., STARNES, B. W. & ANDERSEN, C. A. 2007. C-reactive protein level and traditional vascular risk factors in the prediction of carotid stenosis. *Arch Surg*, 142, 1066-71.
309. MUNTNER, P., BOWLING, C. & SHIMBO, D. 2014. Systolic blood pressure goals to reduce cardiovascular disease among older adults. *The American journal of the medical sciences*, 348.
310. MUNTNER, P., WILDMAN, R. P., REYNOLDS, K., DESALVO, K. B., CHEN, J. & FONSECA, V. 2005. Relationship between HbA1c level and peripheral arterial disease. *Diabetes Care*, 28, 1981-7.
311. MURABITO, J., D'AGOSTINO, R., SILBERSHATZ, H. & WILSON, W. 1997. Intermittent claudication. A risk profile from The Framingham Heart Study. *Circulation*, 96.
312. MURABITO, J., EVANS, J., NIETO, K., LARSON, M., LEVY, D. & WILSON, P. 2002. Prevalence and clinical correlates of peripheral arterial disease in the Framingham Offspring Study. *American heart journal*, 143.
313. MUSTAPHAT, J., KATZEN, B., NEVILLE, R., LOOKSTEIN, R., ZELLER, T., MILLER, L. & JAFF, M. 2018. Determinants of Long-Term Outcomes and Costs in the Management of Critical Limb Ischemia: A Population-Based Cohort Study. *Journal of the American Heart Association*, 7.
314. MYERS, S., JOHANNING, J., STERGIOU, N., LYNCH, T., LONGO, G. & PIPINOS, I. 2008. Claudication distances and the Walking Impairment Questionnaire best describe the ambulatory limitations in patients with symptomatic peripheral arterial disease. *Journal of vascular surgery*, 47.
315. MYTTON, O., NNOAHAM, K., EYLES, H., SCARBOROUGH, P. & NI MHURCHU, C. 2014. Systematic review and meta-analysis of the effect of increased vegetable and fruit consumption on body weight and energy intake. *BMC public health*, 14.
316. MÄKINEN, K., MANNINEN, H., HEDMAN, M., MATSI, P., MUSSALO, H., ALHAVA, E. & YLÄ-HERTTUALA, S. 2002. Increased vascularity detected by digital subtraction angiography after VEGF gene transfer to human lower limb artery: a randomized, placebo-controlled, double-blinded phase II study. *Molecular therapy : the journal of the American Society of Gene Therapy*, 6.
317. NARUSZEWICZ, M. & ZAPOLSKA-DOWNAR, D. 2006. Molekularne podłoże miażdżycy. *Pol. Przeb. Chir.*, 7, 821-846.

318. NEHLER, M., DUVAL, S., DIAO, L., ANNEX, B., HIATT, W., ROGERS, K., ZAKHARYAN, A. & HIRSCH, A. 2014. Epidemiology of peripheral arterial disease and critical limb ischemia in an insured national population. *Journal of vascular surgery*, 60.
319. NEMETH, B., KISS, I., JENCSEK, T., PETER, I., KRESKA, Z., KOSZEGI, T., MISETA, A., KUSTAN, P., BONCZ, I., LACZO, A. & AJTAY, Z. 2017. Angiotensin-converting Enzyme Inhibition Improves the Effectiveness of Transcutaneous Carbon Dioxide Treatment. *In vivo (Athens, Greece)*, 31.
320. NERENBERG, K., DASKALOPOULOU, S. & DASGUPTA, K. 2014. Gestational diabetes and hypertensive disorders of pregnancy as vascular risk signals: an overview and grading of the evidence. *The Canadian journal of cardiology*, 30.
321. NEWMAN, A. B., SUTTON-TYRRELL, K. & KULLER, L. H. 1993. Lower-extremity arterial disease in older hypertensive adults. *Arterioscler Thromb*, 13, 555-62.
322. NHLBI 2013. Managing Overweight and Obesity in Adults: Systematic Evidence Review from the Obesity Expert Panel.
323. NHS NATIONAL INSTITUTE FOR HEALTH AND CLINICAL EXCELLENCE 2012. Lower Limb Peripheral Arterial Disease: Diagnosis and Management [Internet].
324. NICHOLLS, S., HSU, A., WOLSKI, K., B, H., BAYTURAN, O., LAVOIE, A., UNO, K., TUZCU, E. & NISSEN, S. 2010. Intravascular ultrasound-derived measures of coronary atherosclerotic plaque burden and clinical outcome. *Journal of the American College of Cardiology*, 55.
325. NICHOLLS, S. & PURI, R. 2011. Current and Emerging Therapies in Atheroprotection. In: FITRIDGE, R. & THOMPSON, M. (eds.) *Mechanisms of Vascular Disease: A Reference Book for Vascular Specialists*. Adelaide (AU): University of Adelaide Press.
326. NIKOL, S., BAUMGARTNER, I., VAN BELLE, E., DIEHM, C., VISONÁ, A., CAPOGROSSI, M., FERREIRA-MALDENT, N., GALLINO, A., GRAHAM, W., M, DINESH WIJESINGHE, L., FUSARI, M., STEPHAN, D., EMMERICH, J., POMPILIO, G., VERMASSEN, F., PHAM, E., GREK, V., COLEMAN, M. & MEYER, F. 2008. Therapeutic Angiogenesis With Intramuscular NV1FGF Improves Amputation-free Survival in Patients With Critical Limb Ischemia. *Molecular therapy : the journal of the American Society of Gene Therapy*, 16.
327. NISHIDA, C., KO, G. & KUMANYIKA, S. 2010. Body Fat Distribution and Noncommunicable Diseases in Populations: Overview of the 2008 WHO Expert Consultation on Waist Circumference and Waist-Hip Ratio. *European journal of clinical nutrition*, 64.

328. NISHIKAWA, T., EDELSTEIN, D., DU, X., YAMAGISHI, S., MATSUMURA, T., KANEDA, Y., YOREK, M., BEEBE, D., OATES, P., HAMMES, H., GIARDINO, I. & BROWNLEE, M. 2000. Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycaemic damage. *Nature*, 404.
329. NISHIMOTO, H., INUI, A., UEHA, T., INOUE, M., AKAHANE, S., HARADA, R., MIFUNE, Y., KOKUBU, T., NISHIDA, K., KURODA, R. & SAKAI, Y. 2018. Transcutaneous carbon dioxide application with hydrogel prevents muscle atrophy in a rat sciatic nerve crush model. *Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society*, 36.
330. NISSEN, S., NICHOLLS, S., SIPAHI, I., LIBBY, P., RAICHLEN, J., BALLANTYNE, C., DAVIGNON, J., ERBEL, R., FRUCHAR, J., TARDIF, J., SCHOENHAGEN, P., CROWE, T., CAIN, V., WOLSKI, K., GOORMASTIC, M. & TUZCU, E. 2006. Effect of very high-intensity statin therapy on regression of coronary atherosclerosis: the ASTEROID trial. *JAMA*, 295.
331. NISSEN, S., TUZCU, E., SCHOENHAGEN, P., BROWN, B., GANZ, P., VOGEL, R., CROWE, T., HOWARD, G., COOPER, C., BRODIE, B., GRINES, C. & DEMARIA, A. 2004. Effect of intensive compared with moderate lipid-lowering therapy on progression of coronary atherosclerosis: a randomized controlled trial. *JAMA*, 291.
332. NORNGREN, L., HIATT, W. R., DORMANDY, J. A., NEHLER, M. R., HARRIS, K. A., FOWKES, F. G., BELL, K., CAPORUSSO, J., DURAND-ZALESKI, I., KOMORI, K., LAMMER, J., LIAPIS, C., NOVO, S., RAZAVI, M., ROBBS, J., SCHAPER, N., SHIGEMATSU, H., SAPOVAL, M., WHITE, C., WHITE, J., CLEMENT, D., CREAGER, M., JAFF, M., MOHLER, E., 3RD, RUTHERFORD, R. B., SHEEHAN, P., SILLESEN, H. & ROSENFELD, K. 2007. Inter-Society Consensus for the Management of Peripheral Arterial Disease (TASC II). *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 33 Suppl 1, S1-75.
333. NOSOVA, E., CONTE, M. & GRENON, S. 2015. Advancing beyond the "heart-healthy diet" for peripheral arterial disease. *Journal of vascular surgery*, 61.
334. NOVO, S., AVELLONE, G., DI GARBO, V., ABRIGNANI, M., LIQUORI, M., PANNO, A. & STRANO, A. 1992. Prevalence of risk factors in patients with peripheral arterial disease. A clinical and epidemiological evaluation. *International angiology : a journal of the International Union of Angiology*, 11.
335. NÉMETH, B., KISS, I., AJTAY, B., PÉTER, I., KRESKA, Z., CZIRÁKI, A., HORVÁTH, I. & AJTAY, Z. 2018. Transcutaneous Carbon Dioxide Treatment Is Capable of Reducing Peripheral Vascular Resistance in Hypertensive Patients. *In vivo (Athens, Greece)*, 32.

336. OE, K., UEHA, T., SAKAI, Y., NIIKURA, T., LEE, S., KOH, A., HASEGAWA, T., TANAKA, M., MIWA, M. & KUROSAKA, M. 2011. The effect of transcutaneous application of carbon dioxide (CO₂) on skeletal muscle. *Biochemical and biophysical research communications*, 407.
337. OGILVIE, R., LUTSEY, P., HEISS, G., FOLSOM, A. & STEFFEN, L. 2017. Dietary intake and peripheral arterial disease incidence in middle-aged adults: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *The American journal of clinical nutrition*, 105.
338. OLFERT, I. 2016. Physiological Capillary Regression is not Dependent on Reducing VEGF Expression. *Microcirculation (New York, N.Y. : 1994)*, 23.
339. OLIN, J. W. & SEALOVE, B. A. 2010. Peripheral Artery Disease: Current Insight Into the Disease and Its Diagnosis and Management. *Mayo Clin Proc*, 85, 678-692.
340. OLINIC, D., SPINU, M., OLINIC, M., HOMORODEAN, C., TATARU, D., LIEW, A., SCHERNTHANER, G., STANEK, A., FOWKES, G. & CATALANO, M. 2018. Epidemiology of peripheral artery disease in Europe: VAS Educational Paper. *International angiology : a journal of the International Union of Angiology*, 37.
341. OLUSI, S. 2002. Obesity is an independent risk factor for plasma lipid peroxidation and depletion of erythrocyte cytoprotective enzymes in humans. *International journal of obesity and related metabolic disorders : journal of the International Association for the Study of Obesity*, 26.
342. ORASANU, G. & PLUTZKY, J. 2009. The pathologic continuum of diabetic vascular disease. *Journal of the American College of Cardiology*, 53.
343. ORTMANN, J., NUESCH, E., TRAUPE, T., DIEHM, N. & BAUMGARTNER, I. 2012. Gender is an independent risk factor for distribution pattern and lesion morphology in chronic critical limb ischemia. *J Vasc Surg*, 55, 98-104.
344. OSTERGREN, J., SLEIGHT, P., DAGENAIS, G., DANISA, K., BOSCH, J., QILONG, Y. & YUSUF, S. 2004. Impact of ramipril in patients with evidence of clinical or subclinical peripheral arterial disease. *European heart journal*, 25.
345. OWEN, R., BERRY, K. & BROWN, L. 2021. Enhancing Older Adults' Well-Being and Quality of Life through Purposeful Activity: A Systematic Review of Intervention Studies. *The Gerontologist*.
346. OWENS, C., HO, K. & CONTE, M. 2008. Risk factors for failure of lower-extremity revascularization procedures: are they different for bypass and percutaneous procedures? *Seminars in vascular surgery*, 21.

347. PADILLA, J. & FADEL, P. 2017. Prolonged sitting leg vasculopathy: contributing factors and clinical implications. *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology*, 313.
348. PANDEY, A., SALAHUDDIN, U., GARG, S., AYERS, C., KULINSKI, J., ANAND, V., MAYO, H., KUMBHANI, D., DE LEMOS, J. & BERRY, J. 2016. Continuous Dose-Response Association Between Sedentary Time and Risk for Cardiovascular Disease: A Meta-analysis. *JAMA cardiology*, 1.
349. PANG, X., LIU, J., ZHAO, J., MAO, J., ZHANG, X., FENG, L., HAN, C., LI, M., WANG, S. & WU, D. 2014. Homocysteine induces the expression of C-reactive protein via NMDAr-ROS-MAPK-NF- κ B signal pathway in rat vascular smooth muscle cells. *Atherosclerosis*, 236, 73-81.
350. PARAMESWARAN, G., BRAND, K. & DOLAN, J. 2005. Pulse oximetry as a potential screening tool for lower extremity arterial disease in asymptomatic patients with diabetes mellitus. *Archives of internal medicine*, 165.
351. PARSONS, T., SARTINI, C., ELLINS, E., HALCOX, J., SMITH, K., ASH, S., LENNON, L., WANNAMETHEE, S., LEE, I., WHINCUP, P. & JEFFERIS, B. 2016. Objectively Measured Physical Activity and Sedentary Behaviour and Ankle Brachial Index: Cross-sectional and Longitudinal Associations in Older Men. *Atherosclerosis*, 247.
352. PASCO, J., HOLLOWAY, K., DOBBINS, A., KOTOWICZ, M., WILLIAMS, L. & BRENNAN, S. 2014. Body Mass Index and Measures of Body Fat for Defining Obesity and Underweight: A Cross-Sectional, Population-Based Study. *BMC obesity*, 1.
353. PASEK, J., CIEŚLAR, G., STANEK, A., PASEK, T. & SIEROŃ, A. 2010. Health resort treatment – a new chance for treatment of vessels diseases? *Acta Angiol*, 16, 99-113.
354. PATEL, A., MACMAHON, S., CHALMERS, J., NEAL, B., BILLOT, L., WOODWARD, M., MARRE, M., COOPER, M., GLASZIOU, P., GROBBEE, D., HAMET, P., HARRAP, S., HELLER, S., LIU, L., MANCIA, G., MOGENSEN, C., PAN, C., POULTER, N., RODGERS, A., WILLIAMS, B., BOMPOINT, S., DE GALAN, B., JOSHI, R. & TRAVERT, F. 2008. Intensive blood glucose control and vascular outcomes in patients with type 2 diabetes. *The New England journal of medicine*, 358.
355. PEDERSEN, T., KJEKSHUS, J., BERG, K., HAGHFELT, T., FAERGEMAN, O., FAERGEMAN, G., PYÖRÄLÄ, K., MIETTINEN, T., WILHELMSEN, L., OLSSON, A. & WEDEL, H. 2004. Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). 1994. *Atherosclerosis. Supplements*, 5.

356. PERALTA, C., XAUS, C., BARTRONS, R., LEON, O., GELPI, E. & ROSELLÓ-CATAFAU, J. 2000. Effect of ozone treatment on reactive oxygen species and adenosine production during hepatic ischemia-reperfusion. *Free radical research*, 33.
357. PEREIRA, M., O'REILLY, E., AUGUSTSSON, K., FRASER, G., GOLDBOURT, U., HEITMANN, B., HALLMANS, G., KNEKT, P., LIU, S., PIETINEN, P., SPIEGELMAN, D., STEVENS, J., VIRTAMO, J., WILLETT, W. & ASCHERIO, A. 2004. Dietary fiber and risk of coronary heart disease: a pooled analysis of cohort studies. *Archives of internal medicine*, 164.
358. PIGA, R., NAITO, Y., KOKURA, S., HANDA, O. & YOSHIKAWA, T. 2007. Short-term high glucose exposure induces monocyte-endothelial cells adhesion and transmigration by increasing VCAM-1 and MCP-1 expression in human aortic endothelial cells. *Atherosclerosis*, 193.
359. PIPINOS, II, JUDGE, A. R., SELSBY, J. T., ZHU, Z., SWANSON, S. A., NELLA, A. A. & DODD, S. L. 2008. The myopathy of peripheral arterial occlusive disease: Part 2. Oxidative stress, neuropathy, and shift in muscle fiber type. *Vasc Endovascular Surg*, 42, 101-12.
360. PISCHON, T., BOEING, H., HOFFMANN, K., BERGMANN, M., SCHULZE, M., OVERVAD, K., VAN DER SCHOUW, Y., SPENCER, E., MOONS, K., TJØNNELAND, A., HALKJAER, J., JENSEN, M., STEGGER, J., CLAVEL-CHAPELON, F., BOUTRON-ROUAULT, M., CHAJES, V., LINSEISEN, J., KAAKS, R., TRICHOPOULOU, A., TRICHOPOULOS, D., BAMIA, C., SIERI, S., PALLI, D., TUMINO, R., VINEIS, P., PANICO, S., PEETERS, P., MAY, A., BUENO-DE-MESQUITA, H., VAN DUINHoven, F., HALLMANS, G., WEINEHALL, L., MANJER, J., HEDBLAD, B., LUND, E., AGUDO, A., ARRIOLA, L., BARRICARTE, A., NAVARRO, C., MARTINEZ, C., QUIRÓS, J., KEY, T., BINGHAM, S., KHAW, K., BOFFETTA, P., JENAB, M., FERRARI, P. & RIBOLI, E. 2008. General and abdominal adiposity and risk of death in Europe. *The New England journal of medicine*, 359.
361. PONIKOWSKA, I., ADAMCZYK, P. & VU, K. 2003. The clinical principles of balneology and physical medicine. *Massage Ther J*, 41, 88-103.
362. PONIKOWSKA, I. & CHOJNOWSKI, J. 2011. Uzdrowiskowe leczenie chorych na cukrzycę z przewlekłymi powikłaniami. *Zamojskie Studia i Materiały*, 1, 77-80.
363. PONIKOWSKA, I., CHOJNOWSKI, J., SZCZAWIŃSKA, I. & WŁODARCZYK, K. 2002. Wyniki działań prewencyjnych w cukrzycy typu 2 w modelu terapii uzdrowiskowej. *Diabetologia Polska*, 9, 33.

364. PONIKOWSKA, I. & FERSON, D. 2009. *Nowoczesna medycyna uzdrowiskowa*, Warszawa, Medi Press.
365. PRASADA, S., SHAH, S., MICHOS, E., POLAK, J. & GREENLAND, P. 2019. Ankle-brachial index and incident heart failure with reduced versus preserved ejection fraction: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Vascular medicine (London, England)*, 24.
366. PROIETTI, M., RAPARELLI, V., LAROCHE, C., DAN, G., JANION, M., POPESCU, R., SINAGRA, G., VIJGEN, J., BORIANI, G., MAGGIONI, A., TAVAZZI, L. & LIP, G. 2017. Adverse outcomes in patients with atrial fibrillation and peripheral arterial disease: a report from the EURObservational research programme pilot survey on atrial fibrillation. *Europace : European pacing, arrhythmias, and cardiac electrophysiology : journal of the working groups on cardiac pacing, arrhythmias, and cardiac cellular electrophysiology of the European Society of Cardiology*, 19.
367. PYMER, S., IBEGGAZENE, S., PALMER, J., TEW, G., INGLE, L., SMITH, G., CHETTER, I. & HARWOOD, A. 2021. An Updated Systematic Review and Meta-Analysis of Home-based Exercise Programmes for Individuals with Intermittent Claudication. *Journal of vascular surgery*.
368. PÉREZ, E., GONZÁLEZ, M., MARTÍNEZ-ESPINOSA, R., VILA, M. & REIG GARCÍA-GALBIS, M. 2019. Practical Guidance for Interventions in Adults with Metabolic Syndrome: Diet and Exercise vs. Changes in Body Composition. *International journal of environmental research and public health*, 16.
369. RAHMAN, I. & ADCOCK, I. M. 2006. Oxidative stress and redox regulation of lung inflammation in COPD. *Eur Respir J*, 28, 219-42.
370. RAJAGOPALAN, S., MOHLER, E., LEDERMAN, R., MENDELSON, F., SAUCEDO, J., GOLDMAN, C., BLEBEA, J., MACKO, J., KESSLER, P., RASMUSSEN, H. & ANNEX, B. 2003. Regional angiogenesis with vascular endothelial growth factor in peripheral arterial disease: a phase II randomized, double-blind, controlled study of adenoviral delivery of vascular endothelial growth factor 121 in patients with disabling intermittent claudication. *Circulation*, 108.
371. RAMOS, J., DALLECK, L., TJONNA, A., BEETHAM, K. & COOMBES, J. 2015. The impact of high-intensity interval training versus moderate-intensity continuous training on vascular function: a systematic review and meta-analysis. *Sports medicine (Auckland, N.Z.)*, 45.
372. RAMOS, R., QUESADA, M., SOLANAS, P., SUBIRANA, I., SALA, J., VILA, J., MASIÁ, R., CEREZO, C., ELOSUA, R., GRAU, M., CORDÓN, F., JUVINYÀ, D., FITÓ,

- M., ISABEL COVAS, M., CLARÀ, A., ANGEL MUÑOZ, M. & MARRUGAT, J. 2009. Prevalence of symptomatic and asymptomatic peripheral arterial disease and the value of the ankle-brachial index to stratify cardiovascular risk. *European journal of vascular and endovascular surgery : the official journal of the European Society for Vascular Surgery*, 38.
373. RANTNER, B., KOLLERITS, B., POHLHAMMER, J., STADLER, M., LAMINA, C., PERIC, S., KLEIN-WEIGEL, P., MÜHLTHALER, H., FRAEDRICH, G. & KRONENBERG, F. 2017. The fate of patients with intermittent claudication in the 21st century revisited - results from the CAVASIC Study. *Scientific reports*, 8.
374. RAO, V. & KIRAN, R. 2011. Evaluation of correlation between oxidative stress and abnormal lipid profile in coronary artery disease. *Journal of cardiovascular disease research*, 2.
375. RAPSOMANIKI, E., TIMMIS, A., GEORGE, J., PUJADES-RODRIGUEZ, M., SHAH, A., DENAXAS, S., WHITE, I., CAULFIELD, M., DEANFIELD, J., SMEETH, L., WILLIAMS, B., HINGORANI, A. & HEMINGWAY, H. 2014. Blood pressure and incidence of twelve cardiovascular diseases: lifetime risks, healthy life-years lost, and age-specific associations in 1·25 million people. *Lancet (London, England)*, 383.
376. RASHITI, P., BEHLULI, I. & BYTYQI, A. 2017. Assessment of the Correlation between Severity of Coronary Artery Disease and Waist-Hip Ratio. *Open access Macedonian journal of medical sciences*, 5.
377. RASMUSSEN-TORVIK, L., LI, M., KAO, W., COUPER, D., BOERWINKLE, E., BIELINSKI, S., FOLSOM, A. & PANKOW, J. 2011. Association of a fasting glucose genetic risk score with subclinical atherosclerosis: The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Diabetes*, 60.
378. RAY, J., VERMEULEN, M., SCHULL, M. & REDELMEIER, D. 2005. Cardiovascular health after maternal placental syndromes (CHAMPS): population-based retrospective cohort study. *Lancet (London, England)*, 366.
379. REGENSTEINER, J., HIATT, W., COLL, J., CRIQUI, M., TREAT-JACOBSON, D., MCDERMOTT, M. & HIRSCH, A. 2008. The impact of peripheral arterial disease on health-related quality of life in the Peripheral Arterial Disease Awareness, Risk, and Treatment: New Resources for Survival (PARTNERS) Program. *Vascular medicine (London, England)*, 13.
380. REMES, L., ISOAHO, R., VAHLBERG, T., VIITANEN, M. & RAUTAVA, P. 2010. Quality of life among lower extremity peripheral arterial disease patients who have

undergone endovascular or surgical revascularization: a case-control study. *European journal of vascular and endovascular surgery : the official journal of the European Society for Vascular Surgery*, 40.

381. RESNICK, H., VINIK, A., SCHWARTZ, A., LEVEILLE, S., BRANCATI, F., BALFOUR, J. & GURALNIK, J. 2000. Independent effects of peripheral nerve dysfunction on lower-extremity physical function in old age: the Women's Health and Aging Study. *Diabetes care*, 23.
382. RESTAINO, R., HOLWERDA, S., CREDEUR, D., FADEL, P. & PADILLA, J. 2015. Impact of prolonged sitting on lower and upper limb micro- and macrovascular dilator function. *Experimental physiology*, 100.
383. RESTAINO, R., WALSH, L., MORISHIMA, T., VRANISH, J., MARTINEZ-LEMUS, L., FADEL, P. & PADILLA, J. 2016. Endothelial dysfunction following prolonged sitting is mediated by a reduction in shear stress. *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology*, 310.
384. RIDKER, P., PRADHAN, A., MACFADYEN, J., LIBBY, P. & GLYNN, R. 2012. Cardiovascular benefits and diabetes risks of statin therapy in primary prevention: an analysis from the JUPITER trial. *Lancet (London, England)*, 380.
385. RIDKER, P. M., STAMPFER, M. J. & RIFAI, N. 2001. Novel risk factors for systemic atherosclerosis: a comparison of C-reactive protein, fibrinogen, homocysteine, lipoprotein(a), and standard cholesterol screening as predictors of peripheral arterial disease. *Jama*, 285, 2481-5.
386. RIMM, E., APPEL, L., CHIUVE, S., DJOUSSÉ, L., ENGLER, M., KRIS-ETHERTON, P., MOZAFFARIAN, D., SISCOVICK, D. & LICHTENSTEIN, A. 2018. Seafood Long-Chain n-3 Polyunsaturated Fatty Acids and Cardiovascular Disease: A Science Advisory From the American Heart Association. *Circulation*, 138.
387. ROOKE, T., HIRSCH, A., MISRA, S., SIDAWY, A., BECKMAN, J., FINDEISS, L., GOLZARIAN, J., GORNIK, H., HALPERIN, J., JAFF, M., MONETA, G., OLIN, J., STANLEY, J., WHITE, C., WHITE, J. & ZIERLER, R. 2012. 2011 ACCF/AHA focused update of the guideline for the management of patients with peripheral artery disease (updating the 2005 guideline): a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines: developed in collaboration with the Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, Society of Interventional Radiology, Society for Vascular Medicine, and Society for Vascular

Surgery. *Catheterization and cardiovascular interventions : official journal of the Society for Cardiac Angiography & Interventions*, 79.

388. ROY, P., TOMASSONI, D., TRAINI, E., MARTINELLI, I., MICIONI, D. B., MV, CIFANI, C., AMENTA, F. & TAYEBATI, S. 2021. Natural Antioxidant Application on Fat Accumulation: Preclinical Evidence. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 10.
389. RUIZ-CANELA, M., ESTRUCH, R., CORELLA, D., SALAS-SALVADÓ, J. & MARTÍNEZ-GONZÁLEZ, M. 2014. Association of Mediterranean diet with peripheral artery disease: the PREDIMED randomized trial. *JAMA*, 311.
390. SABATÉ, J., ODA, K. & ROS, E. 2010. Nut consumption and blood lipid levels: a pooled analysis of 25 intervention trials. *Archives of internal medicine*, 170.
391. SABEVA, N., MCPHAUL, C., LI, X., CORY, T., FEOLA, D. & GRAF, G. 2011. Phytosterols differentially influence ABC transporter expression, cholesterol efflux and inflammatory cytokine secretion in macrophage foam cells. *The Journal of nutritional biochemistry*, 22.
392. SAKAI, Y., MIWA, M., OE, K., UEHA, T., KOH, A., NIIKURA, T., IWAKURA, T., LEE, S., TANAKA, M. & KUROSAKA, M. 2011. A novel system for transcutaneous application of carbon dioxide causing an "artificial Bohr effect" in the human body. *PloS one*, 6.
393. SALAS-SALVADÓ, J., BULLÓ, M., BABIO, N., MARTÍNEZ-GONZÁLEZ, M., IBARROLA-JURADO, N., BASORA, J., ESTRUCH, R., COVAS, M., CORELLA, D., ARÓS, F., RUIZ-GUTIÉRREZ, V. & ROS, E. 2011. Reduction in the incidence of type 2 diabetes with the Mediterranean diet: results of the PREDIMED-Reus nutrition intervention randomized trial. *Diabetes care*, 34.
394. SALONEN, J., NYSSÖNEN, K., TUOMAINEN, T., MÄENPÄÄ, P., KORPELA, H., KAPLAN, G., LYNCH, J., HELMRICH, S. & SALONEN, R. 1995. Increased risk of non-insulin dependent diabetes mellitus at low plasma vitamin E concentrations: a four year follow up study in men. *BMJ (Clinical research ed.)*, 311.
395. SAMPSON, U. K., FOWKES, F. G., MCDERMOTT, M. M., CRIQUI, M. H., ABOYANS, V., NORMAN, P. E., FOROUZANFAR, M., NAGHAVI, M., SONG, Y., HARRELL, F., DENENBERG, J., MENSAH, G., EZZATI, M. & MURRAY, C. 2014. Global and Regional Burden of Death and Disability From Peripheral Artery Disease: 21 World Regions, 1990 to 2010. *Global heart*, 9.

396. SANSANAYUDH, N., ANOTHAISINTAWEE, T., MUNTHAM, D., MCEVOY, M., ATTIA, J. & THAKKINSTIAN, A. 2014. Mean platelet volume and coronary artery disease: a systematic review and meta-analysis. *Int J Cardiol*, 175, 433-40.
397. SASAJIMA, T., SASAJIMA, Y., AKAZAWA, K. & SAITO, Y. 2020. Arterial Reconstruction for Patients with Chronic Limb Ischemia Improves Ambulatory Function and Health-related Quality of Life. *Annals of vascular surgery*, 66.
398. SAVINI, I., CATANI, M., EVANGELISTA, D., GASPERI, V. & AVIGLIANO, L. 2013. Obesity-associated oxidative stress: strategies finalized to improve redox state. *International journal of molecular sciences*, 14.
399. SCHILLINGER, M., EXNER, M., MLEKUSCH, W., SABETI, S., AMIGHI, J., NIKOWITSCH, R., TIMMEL, E., KICKINGER, B., MINAR, C., PONES, M., LALOUSCHEK, W., RUMPOLD, H., MAURER, G., WAGNER, O. & MINAR, E. 2005. Inflammation and Carotid Artery--Risk for Atherosclerosis Study (ICARAS). *Circulation*, 111, 2203-9.
400. SCHULTZ, G. S., CHIN, G. A., MOLDAWER, L. & DIEGELMANN, R. F. 2011. Principles of Wound Healing. In: FITRIGDE, R. & THOMPSON, M. (eds.) *Mechanisms of Vascular Disease: A Reference Book for Vascular Specialists*. South Australia: The University of Adelaide, Barr Smith Press.
401. SCOTT, R., LAGOU, V., WELCH, R., WHEELER, E., MONTASSER, M., LUAN, J., MÄGI, R., STRAWBRIDGE, R., REHNBERG, E., GUSTAFSSON, S., KANONI, S., RASMUSSEN-TORVIK, L., YENGO, L., LECOEUR, C., SHUNGIN, D., SANNA, S., SIDORE, C., JOHNSON, P., JUKEMA, J. & JOHNSON, T. 2012. Large-scale association analyses identify new loci influencing glycemic traits and provide insight into the underlying biological pathways. *Nature genetics*, 44.
402. SCULLY, R., ARNAOUTAKIS, D., DEBORD SMITH, A., SEMEL, M. & NGUYEN, L. 2018. Estimated annual health care expenditures in individuals with peripheral arterial disease. *Journal of vascular surgery*, 67.
403. SECHI, L., LEZCANO, I., NUNEZ, N., ESPIM, M., DUPRÈ, I., PINNA, A., MOLICOTTI, P., FADDA, G. & ZANETTI, S. 2001. Antibacterial activity of ozonized sunflower oil (Oleozone). *Journal of applied microbiology*, 90.
404. SELHUB, J. 2008. Public health significance of elevated homocysteine. *Food Nutr Bull*, 29, S116-25.
405. SELVAS HEALTHCARE. *Accuniq BC380* [Online]. Available: <https://accuniq.pl/accuniq-bc380/> [Accessed 01.07.2021].

406. SELVIN, E., CORESH, J., GOLDEN, S., BRANCATI, F., FOLSOM, A. & STEFFES, M. 2005. Glycemic control and coronary heart disease risk in persons with and without diabetes: the atherosclerosis risk in communities study. *Archives of internal medicine*, 165.
407. SELVIN, E. & ERLINGER, T. P. 2004. Prevalence of and risk factors for peripheral arterial disease in the United States: results from the National Health and Nutrition Examination Survey, 1999-2000. *Circulation*, 110, 738-43.
408. SELVIN, E., MARINOPOULOS, S., BERKENBLIT, G., RAMI, T., BRANCATI, F. L., POWE, N. R. & GOLDEN, S. H. 2004. Meta-analysis: glycosylated hemoglobin and cardiovascular disease in diabetes mellitus. *Ann Intern Med*, 141, 421-31.
409. SEN, S., LYNCH, D., KALTSAS, E., SIMMONS, J., TAN, W., KIM, J., BECK, J. & ROSAMOND, W. 2009. Association of asymptomatic peripheral arterial disease with vascular events in patients with stroke or transient ischemic attack. *Stroke*, 40.
410. SERRA, D., MERA, P., MALANDRINO, M., MIR, J. & HERRERO, L. 2013. Mitochondrial fatty acid oxidation in obesity. *Antioxidants & redox signaling*, 19.
411. SHABANI VARAKI, E., GARGIULO, G., PENKALA, S. & BREEN, P. 2018. Peripheral vascular disease assessment in the lower limb: a review of current and emerging non-invasive diagnostic methods. *Biomedical engineering online*, 17.
412. SHADMAN, R., CRIQUI, M., BUNDENS, W., FRONEK, A., DENENBERG, J., GAMST, A. & MCDERMOTT, M. 2004. Subclavian artery stenosis: prevalence, risk factors, and association with cardiovascular diseases. *Journal of the American College of Cardiology*, 44.
413. SHAIK, A. & ROSENSON, R. 2021. Genetics of Triglyceride-Rich Lipoproteins Guide Identification of Pharmacotherapy for Cardiovascular Risk Reduction. *Cardiovascular drugs and therapy*.
414. SHALHOUB, J., HAMISH, M. & DAVIES, A. 2009. Supervised exercise for intermittent claudication - an under-utilised tool. *Annals of the Royal College of Surgeons of England*, 91.
415. SHATNAWI, N., AL-ZOUBI, N., HAWAMDEH, H., KHADER, Y., HEIS, M., AL OMARI, M. & BATAINEH, B. 2021. The relation of anatomical distribution of symptomatic peripheral arterial disease (PAD) with HbA1c level in patients with type 2 diabetes mellitus. *Therapeutic advances in endocrinology and metabolism*, 12.
416. SHENOY, V., MEHENDALE, V., PRABHU, K., SHETTY, R. & RAO, P. 2014. Correlation of serum homocysteine levels with the severity of coronary artery disease. *Indian J Clin Biochem*, 29, 339-44.

417. SHOEMAKER, J. 2005. Ozone therapy – history, physiology, indications, results.
418. SIGNORELLI, S. S., FIORE, V. & MALAPONTE, G. 2014. Inflammation and peripheral arterial disease: the value of circulating biomarkers (Review). *Int J Mol Med*, 33, 777-83.
419. SIGVANT, B., WIBERG-HEDMAN, K., BERGQVIST, D., ROLANDSSON, O., ANDERSSON, B., PERSSON, E. & WAHLBERG, E. 2007. A population-based study of peripheral arterial disease prevalence with special focus on critical limb ischemia and sex differences. *J Vasc Surg*, 45, 1185-91.
420. SILVEIRA, E., DA SILVA FILHO, R., SPEXOTO, M., HAGHIGHATDOOST, F., SARRAFZADEGAN, N. & DE OLIVEIRA, C. 2021. The Role of Sarcopenic Obesity in Cancer and Cardiovascular Disease: A Synthesis of the Evidence on Pathophysiological Aspects and Clinical Implications. *International journal of molecular sciences*, 22.
421. SILVESTRO, A., SCOPACASA, F., OLIVA, G., DE CRISTOFARO, T., IULIANO, L. & BREVETTI, G. 2002. Vitamin C prevents endothelial dysfunction induced by acute exercise in patients with intermittent claudication. *Atherosclerosis*, 165.
422. SIRICO, G., SPADERA, L., DE LAURENTIS, M. & BREVETTI, G. 2009. Carotid artery disease and stroke in patients with peripheral arterial disease. The role of inflammation. *Monaldi Arch Chest Dis*, 72, 10-7.
423. SJÖSTRÖM, M., OJA, P., HAGSTRÖMER, M., SMITH, B. J. & BAUMAN, A. 2006. Health-enhancing physical activity across European Union countries: the Eurobarometer study. *Journal of Public Health*, 14, 291-300.
424. SMITH, H. J., TAYLOR, R. & MITCHELL, A. 2000. A comparison of four quality of life instruments in cardiac patients: SF-36, QLI, QLMI, and SEIQoL. *Heart*, 84, 390-4.
425. SMOLDEREN, K., PELLE, A., KUPPER, N., MOLS, F. & DENOLLET, J. 2009. Impact of peripheral arterial disease on health status: a comparison with chronic heart failure. *Journal of vascular surgery*, 50.
426. SOBCZYŃSKA-RAK, A., ŻYLIŃSKA, B., POLKOWSKA, I., SILMANOWICZ, P. & SZPONDER, T. 2019. Wykorzystanie ozonu w leczeniu ludzi i zwierząt. *Med. Weter.*, 75, 24-29.
427. SONG, P., FANG, Z., WANG, H., CAI, Y., RAHIMI, K., ZHU, Y., FOWKES, F., FOWKES, F. & RUDAN, I. 2020. Global and regional prevalence, burden, and risk factors for carotid atherosclerosis: a systematic review, meta-analysis, and modelling study. *The Lancet. Global health*, 8.
428. SORAN, H. & DURRINGTON, P. 2011. Susceptibility of LDL and its subfractions to glycation. *Current opinion in lipidology*, 22.

429. SPADAFRANCA, A., BERTOLI, S., FIORILLO, G., TESTOLIN, G. & BATTEZZATI, A. 2007. Circulating salicylic acid is related to fruit and vegetable consumption in healthy subjects. *The British journal of nutrition*, 98.
430. SPITERI, K., BROOM, D., BEKHET, A., DE CARO, J., LAVENTURE, B. & GRAFTON, K. 2019. Barriers and Motivators of Physical Activity Participation in Middle-aged and Older-adults - A Systematic Review. *Journal of aging and physical activity*, 27.
431. SPRINT RESEARCH GROUP, WRIGHT, J., WILLIAMSON, J., WHELTON, P., SNYDER, J., SINK, K., ROCCO, M., REBOUSSIN, D., RAHMAN, M., OPARIL, S., LEWIS, C., KIMMEL, P., JOHNSON, K., GOFF, D., FINE, L., CUTLER, J., CUSHMAN, W., CHEUNG, A. & AMBROSIUS, W. 2015. A Randomized Trial of Intensive versus Standard Blood-Pressure Control. *The New England journal of medicine*, 373.
432. SPRONK, S., WHITE, J., BOSCH, J. & HUNINK, M. 2007. Impact of claudication and its treatment on quality of life. *Seminars in vascular surgery*, 20.
433. SRIKANTHAN, P., SEEMAN, T. & KARLAMANGLA, A. 2009. Waist-hip-ratio as a predictor of all-cause mortality in high-functioning older adults. *Annals of epidemiology*, 19.
434. SRIVARATHARAJAH, K. & ABRAMSON, B. L. 2018. Women and Peripheral Arterial Disease: A Review of Sex Differences in Epidemiology, Clinical Manifestations, and Outcomes. *Can J Cardiol*, 34, 356-361.
435. STACKELBERG, O., BJÖRCK, M., LARSSON, S., ORSINI, N. & WOLK, A. 2013. Fruit and vegetable consumption with risk of abdominal aortic aneurysm. *Circulation*, 128.
436. STARK, A. & MADAR, Z. 2002. Olive oil as a functional food: epidemiology and nutritional approaches. *Nutrition reviews*, 60.
437. STAVROULAKIS, K., BOROWSKI, M., TORSELLO, G. & BISDAS, T. 2017. Association between statin therapy and amputation-free survival in patients with critical limb ischemia in the CRITISCH registry. *Journal of vascular surgery*, 66.
438. STAVROULAKIS, K., BOROWSKI, M., TORSELLO, G. & BISDAS, T. 2018. One-Year Results of First-Line Treatment Strategies in Patients With Critical Limb Ischemia (CRITISCH Registry). *Journal of endovascular therapy : an official journal of the International Society of Endovascular Specialists*, 25.
439. STEHOUWER, C. 2018. Microvascular Dysfunction and Hyperglycemia: A Vicious Cycle With Widespread Consequences. *Diabetes*, 67.

440. SUNDSTRÖM, J. & VASAN, R. S. 2005. Homocysteine and heart failure: a review of investigations from the Framingham Heart Study. *Clin Chem Lab Med*, 43, 987-92.
441. SZAFRANIEC, R., FRYC, W. & KOCHAŃSKI, M. 2014. Analiza wpływu pojedynczego zabiegu sztucznej wodnej kąpieli kwasowęglowej na parametry hemodynamiczne u pacjentów z nadciśnieniem tętniczym. *Fizjoterapia*, 22, 3-8.
442. SZAPACS, M., KIM, H., PORTER, N. & LIEBLER, D. 2008. Identification of proteins adducted by lipid peroxidation products in plasma and modifications of apolipoprotein A1 with a novel biotinylated phospholipid probe. *Journal of proteome research*, 7.
443. SZYMAŃSKI, F. M. 2014. Diagnostyka i farmakoterapia pacjentów z chorobą tętnic obwodowych — o czym powinniśmy pamiętać w codziennej praktyce? *Choroby Serca i Naczyń*, 11, 152 - 158.
444. TALL, A. & RADER, D. 2018. Trials and Tribulations of CETP Inhibitors. *Circulation research*, 122.
445. TAYLOR, A., SULLENBERGER, L., LEE, H., LEE, J. & GRACE, K. 2004. Arterial Biology for the Investigation of the Treatment Effects of Reducing Cholesterol (ARBITER) 2: a double-blind, placebo-controlled study of extended-release niacin on atherosclerosis progression in secondary prevention patients treated with statins. *Circulation*, 110.
446. THIES, F., GARRY, J., YAQOOB, P., RERKASEM, K., WILLIAMS, J., SHEARMAN, C., GALLAGHER, P., CALDER, P. & GRIMBLE, R. 2003. Association of n-3 polyunsaturated fatty acids with stability of atherosclerotic plaques: a randomised controlled trial. *Lancet (London, England)*, 361.
447. THOMAS, J., DELANEY, C., SUEN, J. & MILLER, M. 2019. Nutritional status of patients admitted to a metropolitan tertiary care vascular surgery unit. *Asia Pacific journal of clinical nutrition*, 28.
448. THOSAR, S., BIELKO, S., WIGGINS, C. & WALLACE, J. 2014. Differences in brachial and femoral artery responses to prolonged sitting. *Cardiovascular ultrasound*, 12.
449. TONSTAD, S., FARSANG, C., KLAENE, G., LEWIS, K., MANOLIS, A., PERRUCHOUD, A., SILAGY, C., VAN SPIEGEL, P., ASTBURY, C., HIDER, A. & SWEET, R. 2003. Bupropion SR for smoking cessation in smokers with cardiovascular disease: a multicentre, randomised study. *European heart journal*, 24.
450. TORIYAMA, T., KUMADA, Y., MATSUBARA, T., MURATA, A., OGINO, A., HAYASHI, H., NAKASHIMA, H., TAKAHASHI, H., MATSUO, H. & KAWAHARA,

- H. 2002. Effect of artificial carbon dioxide foot bathing on critical limb ischemia (Fontaine IV) in peripheral arterial disease patients. *Int Angiol*, 21, 367-73.
451. TREAT-JACOBSON, D., MCDERMOTT, M., BRONAS, U., CAMPBIA, U., COLLINS, T., CRIQUI, M., GARDNER, A., HIATT, W., REGENSTEINER, J. & RICH, K. 2019. Optimal Exercise Programs for Patients With Peripheral Artery Disease: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation*, 139.
452. TSAI, A., FOLSOM, A., ROSAMOND, W. & JONES, D. 2001. Ankle-brachial index and 7-year ischemic stroke incidence: the ARIC study. *Stroke*, 32.
453. TSAI, J., CHAN, P., WANG, C., JENG, C., HSIEH, M., KAO, P., CHEN, Y. & LIU, J. 2002. The effects of exercise training on walking function and perception of health status in elderly patients with peripheral arterial occlusive disease. *Journal of internal medicine*, 252.
454. TYLKA, J. & PIOTROWICZ, R. 2009. Kwestionariusz oceny jakości życia SF-36 - wersja polska. *Kardiologia Polska* 67, 1166-69.
455. TÖRNWALL, M., VIRTAMO, J., HAUKKA, J., ARO, A., ALBANES, D. & HUTTUNEN, J. 2000. Prospective study of diet, lifestyle, and intermittent claudication in male smokers. *American journal of epidemiology*, 151.
456. UMUERRI, E. & OBASOHAN, A. 2018. Obesity Indices and Peripheral Artery Disease Measured by Ankle Brachial Index in Nigerian Out-Patients. *West African Journal of Medicine*, 35.
457. UNKART, J., ALLISON, M., CRIQUI, M., MCDERMOTT, M., WOOD, A., FOLSOM, A., LLOYD-JONES, D., RASMUSSEN-TORVIK, L., ALLEN, N., BURKE, G., SZKLO, M., CUSHMAN, M., MCCLELLAND, R. & WASSEL, C. 2019. Life's Simple 7 and Peripheral Artery Disease: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *American journal of preventive medicine*, 56.
458. UNKART, J., ALLISON, M., PARADA, H., CRIQUI, M., QI, Q., DIAZ, K., CARLSON, J., SOTRES-ALVAREZ, D., OSTFELD, R., RAIJ, L. & BELLETTIERE, J. 2020. Sedentary time and peripheral artery disease: The Hispanic Community Health Study/Study of Latinos. *American heart journal*, 222.
459. UNO, K. & NICHOLLS, S. 2010. Biomarkers of inflammation and oxidative stress in atherosclerosis. *Biomarkers in medicine*, 4.
460. UĞURLUCAN, M., ÖNAL, Y., ÖZTAŞ, D., ODABAŞ, A. & ALPAGUT, U. 2019. Transplanted kidney, stenotic renal artery, and a giant pseudoaneurysm: How we tried to treat, Why we failed, and How we managed? *Türk gogus kalp damar cerrahisi dergisi*, 27.

461. VALACCHI, G., FORTINO, V. & BOCCI, V. 2005. The dual action of ozone on the skin. *Br J Dermatol*, 153, 1096-100.
462. VALACCHI, G., VAN DER VLIET, A., SCHOCK, B. C., OKAMOTO, T., OBERMULLER-JEVIC, U., CROSS, C. E. & PACKER, L. 2002. Ozone exposure activates oxidative stress responses in murine skin. *Toxicology*, 179, 163-70.
463. VALLEJO-VAZ, A., ROBERTSON, M., CATAPANO, A., WATTS, G., KASTELEIN, J., PACKARD, C., FORD, I. & RAY, K. 2017. Low-Density Lipoprotein Cholesterol Lowering for the Primary Prevention of Cardiovascular Disease Among Men With Primary Elevations of Low-Density Lipoprotein Cholesterol Levels of 190 mg/dL or Above: Analyses From the WOSCOPS (West of Scotland Coronary Prevention Study) 5-Year Randomized Trial and 20-Year Observational Follow-Up. *Circulation*, 136.
464. VAN CAPELLEVEEN, J., BOCHEM, A., BOEKHOLDT, S., MORA, S., HOOGEVEEN, R., BALLANTYNE, C., RIDKER, P., SUN, W., BARTER, P., TALL, A., ZWINDERMAN, A., KASTELEIN, J., WAREHAM, N., KHAW, K. & HOVINGH, G. 2017. Association of High-Density Lipoprotein-Cholesterol Versus Apolipoprotein A-I With Risk of Coronary Heart Disease: The European Prospective Investigation Into Cancer-Norfolk Prospective Population Study, the Atherosclerosis Risk in Communities Study, and the Women's Health Study. *Journal of the American Heart Association*, 6.
465. VELIOGLU, Y. & YUKSEL, A. 2019. Complete blood count parameters in peripheral arterial disease. *Aging Male*, 22, 187-191.
466. VESELÁ, A. & WILHELM, J. 2002. The role of carbon dioxide in free radical reactions of the organism. *Physiological research*, 51.
467. VIEBAHN, R. 1999. *The Use of Ozone in Medicine*, Iffezheim, Odrei Publishers.
468. VIEBAHN-HANSLER, R. 2003. The use of ozone in medicine: mechanism of action. Munich.
469. VILLINES, T., STANEK, E., DEVINE, P., TURCO, M., MILLER, M., WEISSMAN, N., GRIFFEN, L. & TAYLOR, A. 2010. The ARBITER 6-HALTS Trial (Arterial Biology for the Investigation of the Treatment Effects of Reducing Cholesterol 6-HDL and LDL Treatment Strategies in Atherosclerosis): final results and the impact of medication adherence, dose, and treatment duration. *Journal of the American College of Cardiology*, 55.
470. VINCENT, H. & TAYLOR, A. 2006. Biomarkers and potential mechanisms of obesity-induced oxidant stress in humans. *International journal of obesity (2005)*, 30.

471. VIOLI, F, CRIQUI, M, LONGONI, A, CASTIGLIONI & C 1996. Relation between risk factors and cardiovascular complications in patients with peripheral vascular disease. Results from the A.D.E.P. study. *Atherosclerosis*, 120.
472. VOGEL, T., DOMBROVSKIY, V., GALIÑANES, E. & KRUSE, R. 2013. Preoperative statins and limb salvage after lower extremity revascularization in the Medicare population. *Circulation. Cardiovascular interventions*, 6.
473. VRANISH, J., YOUNG, B., KAUR, J., PATIK, J., PADILLA, J. & FADEL, P. 2017. Influence of sex on microvascular and macrovascular responses to prolonged sitting. *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology*, 312.
474. WADDINGTON, R., MOSELEY, R. & EMBERY, G. 2000. Reactive oxygen species: a potential role in the pathogenesis of periodontal diseases. *Oral diseases*, 6.
475. WADOLOWSKA, L. 2005. Walidacja kwestionariusza czestotliwosci spozywania zywnosci - FFQ. Ocena powtarzalnosci. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 38, 27-33.
476. WALKER, J., BRADSHAW, D., FULFORD, M. & MARSH, P. 2003. Microbiological evaluation of a range of disinfectant products to control mixed-species biofilm contamination in a laboratory model of a dental unit water system. *Applied and environmental microbiology*, 69.
477. WALL, R., ROSS, R., FITZGERALD, G. & STANTON, C. 2010. Fatty acids from fish: the anti-inflammatory potential of long-chain omega-3 fatty acids. *Nutrition reviews*, 68.
478. WALLACE, J., JOHNSON, B., PADILLA, J. & MATHER, K. 2010. Postprandial lipaemia, oxidative stress and endothelial function: a review. *International journal of clinical practice*, 64.
479. WANG, G. J., SHAW, P. A., TOWNSEND, R. R., ANDERSON, A. H., XIE, D., WANG, X., NESSEL, L. C., MOHLER, E. R., SOZIO, S. M., JAAR, B. G., CHEN, J., WRIGHT, J., TALIERCIO, J. J., OJO, A., RICARDO, A. C., LUSTIGOVA, E., FAIRMAN, R. M., FELDMAN, H. I. & KY, B. 2016a. Sex Differences in the Incidence of Peripheral Artery Disease in the Chronic Renal Insufficiency Cohort. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes*, 9, S86-93.
480. WANG, H. H., GARRUTI, G., LIU, M., PORTINCASA, P. & WANG, D. Q. 2017. Cholesterol and Lipoprotein Metabolism and Atherosclerosis: Recent Advances In reverse Cholesterol Transport. *Ann Hepatol*, 16, s27-s42.
481. WANG, J., ZHOU, S., BRONKS, R., GRAHAM, J. & MYERS, S. 2009. Effects of supervised treadmill walking training on calf muscle capillarization in patients with intermittent claudication. *Angiology*, 60.

482. WANG, S., FAN, W., YU, W., LI, J., XU, D., CAO, H., XI, Y. & LI, X. 2016b. [Analysis on reliability and validity of SF-36 scale in urban residents]. *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi*, 37, 344-7.
483. WANG, X., OUYANG, Y., LIU, J., ZHU, M., ZHAO, G., BAO, W. & HU, F. 2014. Fruit and vegetable consumption and mortality from all causes, cardiovascular disease, and cancer: systematic review and dose-response meta-analysis of prospective cohort studies. *BMJ (Clinical research ed.)*, 349.
484. WASSERMAN, D., WANG, T. & BROWN, N. 2018. The Vasculature in Prediabetes. *Circulation research*, 122.
485. WELBORN, T. & DHALIWAL, S. 2007. Preferred clinical measures of central obesity for predicting mortality. *European journal of clinical nutrition*, 61.
486. WEST, A. M., ANDERSON, J. D., EPSTEIN, F. H., MEYER, C. H., WANG, H., HAGSPIEL, K. D., BERR, S. S., HARTHUN, N. L., WELTMAN, A. L., DIMARIA, J. M., HUNTER, J. R., CHRISTOPHER, J. M. & KRAMER, C. M. 2011. Low-density lipoprotein lowering does not improve calf muscle perfusion, energetics, or exercise performance in peripheral arterial disease. *J Am Coll Cardiol*, 58, 1068-76.
487. WESTIN, G., ARMSTRONG, E., BANG, H., YEO, K., ANDERSON, D., DAWSON, D., PEVEC, W., AMSTERDAM, E. & LAIRD, J. 2014. Association between statin medications and mortality, major adverse cardiovascular event, and amputation-free survival in patients with critical limb ischemia. *Journal of the American College of Cardiology*, 63.
488. WHELTON, P., CAREY, R., ARONOW, W., CASEY, D., COLLINS, K., DENNISON HIMMELFARB, C., DEPALMA, S., GIDDING, S., JAMERSON, K., JONES, D., MACLAUGHLIN, E., MUNTNER, P., OVBIAGELE, B., SMITH, S., SPENCER, C., STAFFORD, R., TALER, S., THOMAS, R., WILLIAMS, K., WILLIAMSON, J. & WRIGHT, J. 2018. 2017 ACC/AHA/AAPA/ABC/ACPM/AGS/APhA/ASH/ASPC/NMA/PCNA Guideline for the Prevention, Detection, Evaluation, and Management of High Blood Pressure in Adults: Executive Summary: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. *Circulation*, 138.
489. WIDLANSKY, M., GOKCE, N., KEANEY, J. & VITA, J. 2003. The clinical implications of endothelial dysfunction. *Journal of the American College of Cardiology*, 42.

490. WILLIGENDAEL, E., TEIJINK, J., BARTELINK, M., PETERS, R., BÜLLER, H. & PRINS, M. 2005. Smoking and the patency of lower extremity bypass grafts: a meta-analysis. *Journal of vascular surgery*, 42.
491. WING, L., REID, C., RYAN, P., BEILIN, L., BROWN, M., JENNINGS, G., JOHNSTON, C., MCNEIL, J., MACDONALD, G., MARLEY, J., MORGAN, T. & WEST, M. 2003. A comparison of outcomes with angiotensin-converting--enzyme inhibitors and diuretics for hypertension in the elderly. *The New England journal of medicine*, 348.
492. WITKO-SARSAT, V., NGUYEN-KHOA, T., JUNGERS, P., DRÜEKE, T. & DESCAMPS-LATSCHA, B. 1999. Advanced oxidation protein products as a novel molecular basis of oxidative stress in uraemia. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*, 14 Suppl 1.
493. WOLLINA, U., HEINIG, B. & UHLEMANN, C. 2004. Transdermal CO₂ application in chronic wounds. *The international journal of lower extremity wounds*, 3.
494. WORLD HEALTH ORGANISATION. 2021a. *Obesity and overweight* [Online]. Available: <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight> [Accessed 22.06.2021].
495. WORLD HEALTH ORGANISATION. 2021b. *Obesity: Data and statistics* [Online]. Available: <http://www.euro.who.int/en/health-topics/noncommunicable-diseases/obesity/data-and-statistics> [Accessed 22.06.2021].
496. WORLD HEALTH ORGANIZATION. 2012. The World Health Organization Quality of Life (WHOQOL). Available: <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-HIS-HSI-Rev.2012.03>.
497. WU, L., MILAMBO, J. & NAIDOO, N. 2021. Demographic, clinical, and anthropometric profiles and postoperative outcomes in patients with chronic limb threatening ischemia: A prospective descriptive study. *Nigerian journal of clinical practice*, 24.
498. WU, X., LI, Z., LIU, X., PENG, H., HUANG, Y., LUO, G. & PENG, K. 2013. Major ozonated autohemotherapy promotes the recovery of upper limb motor function in patients with acute cerebral infarction. *Neural Regen Res*, 8, 461-8.
499. WÓJCIK, P. & TOMCZAK, H. 2010. Ocena wpływu sztucznych kąpielí kwasowęglowych na układ krążenia. *Wójcik P, Tomczak H (2010) Ocena wpływu sztucznych kąpielí kwasowęglowych na układ krążenia. Acta Balneol*, 52: 10–15, 52, 10-15.

500. XU, D., ZOU, L., XING, Y., HOU, L., WEI, Y., ZHANG, J., QIAO, Y., HU, D., XU, Y., LI, J. & MA, Y. 2013. Diagnostic value of ankle-brachial index in peripheral arterial disease: a meta-analysis. *The Canadian journal of cardiology*, 29.
501. YAMAKUCHI, M., BAO, C., FERLITO, M. & LOWENSTEIN, C. 2008. Epigallocatechin gallate inhibits endothelial exocytosis. *Biological chemistry*, 389.
502. YAMAMOTO, S., ISHII, D., NOGUCHI, A., TANAMACHI, K., OKAMOTO, Y., TAKASAKI, Y., MIYATA, K., FUJITA, Y., KISHIMOTO, H., HOTTA, K., IWAI, K. & KOHNO, Y. 2020. A Short-Duration Combined Exercise and Education Program to Improve Physical Function and Social Engagement in Community-Dwelling Elderly Adults. *International quarterly of community health education*, 40.
503. ZANKL, A., IVANDIC, B., ANDRASSY, M., VOLZ, H., KRUMSDORF, U., BLESSING, E., KATUS, H. & TIEFENBACHER, C. 2010. Telmisartan improves absolute walking distance and endothelial function in patients with peripheral artery disease. *Clinical research in cardiology : official journal of the German Cardiac Society*, 99.
504. ZAPOLSKA-DOWNAR, D. & ZAPOLSKA-DOWNAR, A. 2002. Miażdżyca jako przewlekła choroba zapalna. *Przeg. Lek.*, 3, 147-152.
505. ZHANG, J., GUAN, M., XIE, C., LUO, X., ZHANG, Q. & XUE, Y. 2014. Increased growth factors play a role in wound healing promoted by noninvasive oxygen-ozone therapy in diabetic patients with foot ulcers. *Oxid Med Cell Longev*, 2014, 273475.
506. ZHANG, M., BAI, Y., YE, P., LUO, L., XIAO, W., WU, H. & LIU, D. 2011. Type 2 diabetes is associated with increased pulse wave velocity measured at different sites of the arterial system but not augmentation index in a Chinese population. *Clinical cardiology*, 34.
507. ZHAO, H., ZHENG, D. & HONG, L. 2000. [The disinfection efficiency comparison of different treatments on dental impression and gypsum casts]. *Hua xi kou qiang yi xue za zhi = Huaxi kouqiang yixue zazhi = West China journal of stomatology*, 18.
508. ZHAO, Z., LI, S., LIU, G., YAN, F., MA, X., HUANG, Z. & TIAN, H. 2012. Body iron stores and heme-iron intake in relation to risk of type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *PloS one*, 7.
509. ZHOU, Y., ZHU, X., CUI, H., SHI, J., YUAN, G., SHI, S. & HU, Y. 2021. The Role of the VEGF Family in Coronary Heart Disease. *Frontiers in cardiovascular medicine*, 8.

510. ZHOU, Y. T., ZHAO, X. D., JIANG, J. W., LI, X. S. & WU, Z. H. 2016. Ozone Gas Bath Combined with Endovenous Laser Therapy for Lower Limb Venous Ulcers: A Randomized Clinical Trial. *J Invest Surg*, 29, 254-9.
511. ZIERLER, R., JORDAN, W., LAL, B., MUSSA, F., LEERS, S., FULTON, J., PEVEC, W., HILL, A. & MURAD, M. 2018. The Society for Vascular Surgery practice guidelines on follow-up after vascular surgery arterial procedures. *Journal of vascular surgery*, 68.

Streszczenie

Wstęp: Choroba tętnic obwodowych (PAD) staje się coraz większym problemem dzisiejszych czasów. W Europie oraz USA choruje na nią około 27 milionów ludzi, co stanowi 12–20% kobiet i mężczyzn w przedziale wiekowym między 55 a 65 rokiem życia. PAD stanowi 25,6% wszystkich chorób sercowo-naczyniowych oraz 1,7% całkowitego globalnego obciążenia chorobami. Identyfikacja pacjentów z chorobą tętnic obwodowych wiąże się głównie z modyfikacją sercowo-naczyniowych czynników ryzyka oraz leczeniem chorób współistniejących. U pacjentów z PAD w I i II okresie wg Fontaine’a wskazane jest również leczenie uzdrowiskowe, w ramach którego stosuje się kinezyterapię, różnego rodzaju kąpiele, masaże oraz peloidoterapię z użyciem borowiny. Zarówno kąpiele kwasowęglowe (CO₂), jak i ozonoterapia, stanowią ważny element leczenia uzdrowiskowego i mogą okazać się korzystne w chorobie tętnic obwodowych.

Cele: Celem badań było oszacowanie potencjalnego wpływu kąpiei tlenowo-ozonowych na czynniki ryzyka choroby tętnic obwodowych oraz na jakość życia i sprawność fizyczną u pacjentów z czynnikami ryzyka PAD, będących w początkowym stadium choroby tętnic obwodowych. Kolejnym celem badań była identyfikacja ewentualnych zależności pomiędzy współczynnikiem kostka-ramię (ABI) a czynnikami ryzyka PAD, jakością życia, aktywnością i sprawnością fizyczną oraz elementami diety.

Metodologia: W badaniu wzięło udział 71 ochotników, którzy spełniali następujące kryteria: wiek powyżej 65 roku życia oraz minimum dwa dodatkowe czynniki ryzyka PAD spośród: palenie, cukrzyca typu II, nadciśnienie tętnicze, dyslipidemia, stan zapalny, zwiększona lepkość krwi lub nadmierna krzepliwość, hiperhomocysteinemia. Pacjenci zostali losowo przydzielani do jednej z trzech grup: zabiegi placebo, suche kąpiele ozonowe, suche kąpiele CO₂. Interwencja polegała na cyklu 10 10-minutowych zabiegów.

Wyniki: Średnia wieku badanych wynosiła 71,1 lat. Średnia liczba występujących czynników ryzyka wynosiła $4,34 \pm 0,96$. Suche kąpiele ozonowe spowodowały znaczące zmiany w następujących wskaźnikach i parametrach krwi: poprawa wskaźnika kostka-ramię (-0,04; $p = 0,01$) i stosunku talii do bioder (-0,02; $p = 0,02$), zmniejszenie procentowej zawartości tkanki tłuszczowej w organizmie (-2,2%; $p = 0,004$), obniżenie wartości hemoglobiny glikowanej (-0,35; $p = 0,03$) oraz rozkurczowego ciśnienia krwi (-2,6 mmHg; $p = 0,03$). Zaobserwowano poprawę jakości życia pacjentów niezależnie od otrzymywanego rodzaju zabiegu w tym zabiegów placebo. Ozonoterapia spowodowała poprawę sprawności fizycznej (6-minutowy test marszu: +59,4 m; $p = 0,002$). W grupie otrzymującej suche kąpiele w mieszaninie O₂-O₃ uczestnicy zwiększyli całkowitą aktywność fizyczną i zmniejszyli czas spędzony siedząc.

Zaobserwowano zależności pomiędzy ABI a glikemią na czczo ($r = -0,12$; $p = 0,46$), wartością stężenia HDL-cholesterolu ($r = 0,21$; $p = 0,033$), wartością skurczowego ($r = -0,22$; $p = 0,003$) i rozkurczowego ciśnienia tętniczego ($r = -0,20$; $p = 0,016$), sprawnością fizyczną ($r = 0,36$; $p = 0,009$), całkowitą aktywnością fizyczną ($r = 0,21$; $p = 0,004$), umiarkowanym wysiłkiem fizycznym ($r = 0,13$; $p = 0,04$) oraz czasem spędzonym siedząc ($r = -0,25$; $p = 0,03$). Zidentyfikowano pozytywne korelacje pomiędzy ABI a produktami spożywczymi, takimi jak awokado, oliwki, kiwi i cytrusy, orzechy naturalne, ziarna, jak również negatywne korelacje dla wędlin, wyrobów wędliniarskich i czerwonego mięsa.

Wnioski: Cykl zabiegów suchych kąpiei ozonowych znacząco poprawia indeks kostka-ramię i korzystnie wpływa na czynniki ryzyka PAD. Porównywalny (choć nieznacznie mniejszy) efekt wywiera cykl zabiegów suchych kąpiei w dwutlenku węgla. Jakość życia pacjentów z PAD może zostać podwyższona poprzez zastosowanie zabiegów suchych kąpiei w CO₂ jak i w O₃. Pozytywnym efektem pobierania zabiegów fizykalnych jest podejmowanie zwiększonej aktywności fizycznej, która z kolei zmniejsza ryzyko rozwoju PAD. Dieta ma wpływ na rozwój chorób tętnic obwodowych.

Summary

Background: Peripheral arterial disease (PAD) is becoming an increasing problem. In Europe and the USA, about 27 million people suffer from PAD, which accounts for 12-20% of women and men between the ages of 55 and 65. PAD accounts for 25.6% of all cardiovascular diseases and 1.7% of the total global disease burden. Identifying patients with peripheral arterial disease is mainly related to the modification of cardiovascular risk factors and the treatment of comorbidities. In patients with PAD in the I and II stage according to Fontaine, spa treatment is also recommended, which includes kinesiotherapy, various types of baths, massages and peloid therapy. Both carbonic acid baths (CO₂) and ozone therapy are an important part of spa treatment and may prove beneficial in peripheral arterial disease.

Aims: The aim of this study was to evaluate the potential effect of oxygen-ozone baths on the risk factors for peripheral arterial disease and on the quality of life and physical fitness in patients with PAD risk factors that are in the initial stage of peripheral arterial disease. A secondary aim of the study was to identify possible relationships between the ankle-brachial index (ABI) and PAD risk factors, quality of life, physical activity and fitness, and dietary components.

Methodology: The study involved 71 volunteers who met the following criteria: age over 65 and at least two additional risk factors: smoking, type II diabetes, hypertension, dyslipidemia, systemic inflammation, increased blood viscosity or hypercoagulability, hyperhomocysteinemia. Patients were randomly assigned to one of three groups: sham therapy, ozone baths, and CO₂ baths. The intervention consisted of a cycle of ten 10-minute baths.

Results: The mean age of the participants was 71.1 years. The mean number of risk factors was 4.34 ± 0.96 . Dry ozone baths resulted in significant changes in the following blood indices and parameters: improvement in the ankle-brachial index (-0.04; $p=0.01$) and waist-to-hip ratio (-0.02; $p=0.02$), body fat content (-2.2%; $p=0.004$), lowering of glycosylated hemoglobin (-0.35; $p=0.03$) and diastolic blood pressure (-2.6 mmHg; $p = 0.03$). Improvement in the quality of life of patients was observed regardless of the type of treatment received, including sham therapy. Ozone therapy improved physical fitness (6-minute walking test: +59.4 m; $p=0.002$). In the O₂-O₃ dry bath group, participants increased their overall physical activity and decreased the time spent sitting. Correlation was observed between ABI and fasting blood glucose ($r= -0.12$; $p=0.46$), HDL-cholesterol concentration ($r= 0.21$; $p=0.033$), value of systolic ($r= -0.22$; $p=0.003$) and diastolic blood pressure ($r= -0.20$; $p=0.016$), physical fitness ($r=0.36$; $p=0.009$), total physical activity ($r=0.21$; $p=0.004$),

moderate physical activity ($r=0.13$; $p=0.04$) and time spent sitting ($r= -0.25$; $p=0.03$). Positive correlations were identified between ABI and food products such as avocado, olives, kiwi and citrus fruit, natural nuts, seeds, as well as negative correlations for cold meat, processed meat, and red meat.

Conclusions: The dry ozone bath treatment cycle significantly improves the ankle-brachial index and has a positive effect on PAD risk factors. A similar (though insignificantly smaller) effect is exerted by a series of dry carbon dioxide baths. The quality of life of patients with PAD can be improved by using dry CO₂ and O₃ bath treatments. A positive effect of receiving physical treatments is the ability to undertake increased physical activity, which in turn reduces the risk of developing PAD. Diet contributes to the development of peripheral arterial diseases.

Spis tabel

Tabela 1. Interpretacja wartości wskaźnika kostka-ramię (ABI).	60
Tabela 2. Charakterystyka badanych.	63
Tabela 3. Czynniki ryzyka choroby tętnic obwodowych wśród badanych.	65
Tabela 4. Wpływ terapii na wybrane wskaźniki.	69
Tabela 5. Wpływ terapii na jakość życia.	70
Tabela 6. Wpływ terapii na sprawność fizyczną i podejmowaną aktywność fizyczną.	71
Tabela 7. Zależności pomiędzy wskaźnikiem kostka-ramię a wybranymi parametrami.	72
Tabela 8. Wpływ wskaźnika kostka-ramię na jakość życia badanych.	73
Tabela 9. Wpływ aktywności fizycznej i sprawności fizycznej na wskaźnik kostka-ramię.	74
Tabela 10. Wpływ poziomu aktywności fizycznej na wskaźnik kostka-ramię.	78
Tabela 11. Wpływ wybranych spożycia wybranych produktów na wskaźnik kostka-ramię.	78

Spis rycin

Rycina 1. Przebieg choroby tętnic obwodowych i rokowania pacjentów.	20
Rycina 2. Metodyka badań.	58
Rycina 3. Zależność pomiędzy wartościami glikemii na czczo a wskaźnikiem kostka-ramię.	74
Rycina 4. Zależność pomiędzy wartościami stężenia HDL-cholesterolu a wskaźnikiem kostka-ramię.	75
Rycina 5. Zależność pomiędzy wartościami skurczowego ciśnienia tętniczego a wskaźnikiem kostka-ramię.	75
Rycina 6. Zależność pomiędzy wartościami rozkurczowego ciśnienia tętniczego a wskaźnikiem kostka-ramię.	75
Rycina 7. Zależność pomiędzy aktywnością fizyczną a wskaźnikiem kostka-ramię.	76
Rycina 8. Zależność pomiędzy umiarkowaną aktywnością fizyczną a wskaźnikiem kostka-ramię.	76
Rycina 9. Zależność pomiędzy ilością czasu spędzonego siedząc a wskaźnikiem kostka-ramię.	76
Rycina 10. Zależność pomiędzy sprawnością fizyczną na wskaźnikiem kostka-ramię.	77