

THE INDICATORS OF OXIDANT – ANTIOXIDANT BALANCE IN PATIENTS PERFORMED HYPERBARIC OXYGENATION**WSKAŹNIKI RÓWNOWAGI OKSYDACYJNO – ANTYOKSYDACYJNEJ U OSÓB PODDANYCH HIPERBARII TLENOWEJ**

Jarosław Paprocki¹⁾, Paweł Sutkowy¹⁾, Ewa Krzyżańska-Malinowska¹⁾, Jacek Piechocki²⁾, Alina Woźniak¹⁾

¹⁾ Institute of Medical Biology at Ludwik Rydygier Collegium Medicum in Bydgoszcz

¹⁾ Katedra Biologii Medycznej Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy

²⁾ Warsaw Centre for Hyperbaric Therapy and Wound Treatment

²⁾ Mazowieckie Centrum Terapii Hiperbarycznej i Leczenia Ran w Warszawie

ARTICLE INFO

Journal: PolHypRes 2013 Vol. 43 Issue 2 pp. 23 – 38

ISSN: 1734-7009

eISSN: 2084-0535

DOI: [HTTP://DX.DOI.ORG/10.13006/PHR.43.2](http://dx.doi.org/10.13006/PHR.43.2)

Pages: 15, figures: 2, tables: 1

page www of the periodical: www.phr.net.pl

ABSTRACT

(in English)

The effect of hyperbaric oxygenation (HBO) on the concentration of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) and the activity of selected antioxidant enzymes: superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPx), in the peripheral blood of 19 patients was studied. Venous blood was taken before entrance to hyperbaric chamber and about 5 minutes after exit from it. Obtained results were statistically analyzed using Student's t-test. The changes of the level $p < 0.05$ were accepted as statistically significant. Patients were additionally selected into two groups, each of five persons: patients who stayed into hyperbaric chamber no more than 3 times - the group I and patients who was performed HBO many times (more than 23 treatments) - group II.

No statistically significant changes in level of TBARS in erythrocytes and blood plasma in both groups were revealed. TBARS concentration in blood plasma of patients in group II was higher by 27% ($p < 0.05$) than in group I before the procedure into hyperbaric chamber. HBO did not cause statistically significant changes in the activity of SOD and GPx in erythrocytes of subjects. The CAT activity in the erythrocytes of patients from group I decreased by approximately 19% ($p < 0.05$) after exit from hyperbaric chamber. Before HBO more than two times higher GPx activity in erythrocytes of subjects from group I as compared to group II was found ($p < 0.01$).

The study have revealed that HBO affects generation of reactive oxygen species but does not act directly the intensity of lipid peroxidation process. Frequent stimulation with hyperbaric oxygen changes the antioxidant response of the organism.

(in Polish)

Zbadano wpływ hiperbarii tlenowej (HBO) na stężenie substancji reagujących z kwasem tiobarbiturowym (TBARS) oraz aktywność wybranych enzymów antyoksydacyjnych: dysmutazy ponadtlenkowej (SOD), katalazy (CAT) i peroksydazy glutationowej (GPx) we krwi obwodowej 19 chorych. Krew żylną do badań pobrano przed wejściem do komory hiperbarycznej oraz ok. 5 min po wyjściu z niej. Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej z wykorzystaniem testu T-Studenta. Za istotne statystycznie uznano różnice przy poziomie $p < 0,05$. Wśród chorych wyodrębniono dodatkowo dwie pięćosobowe grupy: osoby, które do momentu przeprowadzenia eksperymentu przebywały w komorze hiperbarycznej nie więcej niż 3 razy - grupa I oraz chorzy, którzy wiele razy (ponad 23 zabiegi) korzystali z HBO - grupa II.

Nie wykazano po zabiegu HBO istotnych statystycznie zmian poziomu TBARS w erytrocytach i w osoczu krwi,

Keywords/Słowa kluczowe:

(in English): hyperbaric oxygenation, oxidative stress, antioxidant enzymes, lipid peroxidation

(in Polish): hiperbaria tlenowa, stres oksydacyjny, enzymy antyoksydacyjne, peroksydacja lipidów

Polish-English bilingual publication**Publisher**

Polish Hyperbaric Medicine and Technology Society

w żadnej z grup. Stężenie TBARS w osoczu krwi osób z grupy II było przed zabiegiem w komorze hiperbarycznej wyższe o 27% ($p < 0,05$), niż w grupie I. HBO nie wywołała znamiennej statystycznie zmian aktywności SOD i GPx w erytrocytach osób badanych. Aktywność CAT w erytrocytach osób z grupy I natomiast obniżyła się o ok. 19% ($p < 0,05$) po wyjściu z komory hiperbarycznej. Przed HBO wykazano ponad dwa razy wyższą aktywność GPx w erytrocytach osób z grupy I w porównaniu z grupą II ($p < 0,01$).

Badania wykazały, że HBO wpływa na generację reaktywnych form tlenu, bezpośrednio jednak nie oddziałuje na intensywność procesu peroksydacji lipidów. Częsta stymulacja tlenem hiperbarycznym zmienia odpowiedź antyoksydacyjną organizmu.

The summary in Russian on end of the publication

WSTĘP

Hiperbaria tlenowa – HBO (ang. hyperbaric oxygenation) jest metodą leczenia tlenem hiperbarycznym (oddychanie stuprocentowym tlenem), w której ciśnienie otaczającej pacjenta mieszaniny gazów jest wyższe od 1 atmosfery. Ekspozycja hiperbaryczna prowadzi do wzrostu rozpuszczalności tlenu we krwi [14, 20]. Oddychanie tlenem w warunkach hiperbarii tlenowej wpływa na poprawę stanu zdrowia osób z chorobą dekompresyjną [3], zatorami gazowymi [7] oraz zatruciem tlenkiem węgla [1]. Lista wskazań do tego rodzaju zabiegów jest bardzo obszerna, nieustannie się rozszerza, jednak terapia hiperbaryczna jest w tych przypadkach tylko leczeniem wspomagającym, stosowanym wspólnie z innymi metodami terapeutycznymi. Leczenie tlenem hiperbarycznym zaleca się również w takich przypadkach, jak zgorzel gazowa, infekcje beztlenowe [16], czy też trudno gojące się rany [13]. Skuteczność stosowania HBO w wyżej wymienionych schorzeniach potwierdzono licznymi badaniami [28].

Zwiększone stężenie tlenu w mieszaninie oddechowej może prowadzić do nasilonej generacji reaktywnych form tlenu (RFT). W momencie zaburzenia równowagi oksydacyjno - antyoksydacyjnej organizmu generowane w nadmiernej liczbie RFT powodują uszkodzenia DNA, białek oraz struktur lipidowych błon komórkowych [10, 24]. Stan, w którym zaburzona zostaje równowaga między wytwarzaniem RFT a mechanizmami odpowiedzialnymi za ich eliminację z organizmu, w kierunku nasilenia reakcji utleniania nazywamy stresem oksydacyjnym [4]. Do RFT zaliczamy m.in.: anionorodnik ponadtlenkowy ($O_2^{\cdot-}$), nadtlenek wodoru (H_2O_2), oraz rodnik hydroksylowy ($\cdot OH$) [4]. Aby zapobiec uszkodzeniom struktur komórkowych, do których może dojść pod wpływem działania RFT organizm człowieka wykształcił mechanizmy zdolne do usuwania tych aktywnych postaci tlenu. Do związków o działaniu antyoksydacyjnym należą nieenzymatyczne zmiatacze RFT (np. witamina A, E i C) oraz enzymy antyoksydacyjne takie, jak: dysmutaza ponadtlenkowa (SOD), katalaza (CAT) i peroksydaza glutationowa (GPx) [12]. Markerem stresu oksydacyjnego jest proces peroksydacji lipidów, polegający na łańcuchowych reakcjach wolnorodnikowych, prowadzących do rozpadu wielonienasyconych kwasów tłuszczowych budujących m. in. błony komórkowe. Głównym toksycznym dla komórek produktem procesu peroksydacji lipidów jest dialdehyd małanowy (MDA) [23].

Celem pracy była ocena stężenia substancji reagujących z kwasem tiobarbiturowym (TBARS) w erytrocytach i osoczu krwi oraz aktywności wybranych enzymów antyoksydacyjnych – dysmutazy ponadtlenkowej (SOD), katalazy (CAT) i peroksydazy glutationowej (GPx) w erytrocytach osób chorych poddanych HBO. Postanowiono również określić wpływ liczby zabiegów w komorze hiperbarycznej na aktywność oznaczanych enzymów antyoksydacyjnych i stężenie produktów procesu peroksydacji lipidów.

INTRODUCTION

Hyperbaric Oxygenation – HBO – is a treatment method with the use of hyperbaric oxygen (the breathing of pure oxygen), while the pressure of the gas mixture surrounding the patient exceeds 1 atmosphere. Hyperbaric exposure leads to an increased solubility of oxygen in the blood [13, 18]. The breathing of oxygen in hyperbaric conditions contributes to health improvements in persons with decompression sickness [2], gas emboli [6] as well as carbon monoxide poisoning [1]. The recommendation list for this type of treatment is very long and is continuously being expanded; however, hyperbaric therapy only constitutes a supportive treatment applied in combination with other therapeutic methods. Hyperbaric oxygen therapy is also recommended in such cases as gas gangrene, anaerobic infections [15], or difficult to heal wounds or injuries [12]. HBO effectiveness in the above ailments has been confirmed with multiple studies [25]. An increased oxygen concentration in the breathing mix may lead to an intensified generation of reactive oxygen species (ROS). At times of a disturbed oxidant-antioxidant balance in the organism, excessive ROS generation is known to cause damage to the DNA, proteins and lipid structures of cell membranes [9, 22]. The condition of an imbalance between ROS generation and mechanisms responsible for their elimination from the organism, towards an intensification of oxidization, is known as oxidative stress [3]. The ROS include: superoxide anion radical ($O_2^{\bullet-}$), hydrogen peroxide (H_2O_2), and hydroxyl radical ($\bullet OH$) [3]. In order to prevent damage in cell structures as a result of ROS activity, the human organism has developed mechanisms allowing the disposal of these active forms of oxygen. Anti-oxidative compounds include non-enzymatic ROS scavengers (e.g. vitamins A, E and C) and antioxidant enzymes, such as: superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPx) [11]. A marker of oxidative stress is the process of lipid peroxidation consisting in free radical chain reactions leading to the disintegration of polyunsaturated fatty acids constituting, among others, the building material of cell membranes. The main toxic product of the lipid peroxidation process with regard to cells is malonyl dialdehyde (MDA) [21].

The objective of the study consisted in the evaluation of the concentration of substances reacting with thiobarbituric acid (TBARS) in the erythrocytes and blood plasma, as well as the activity of selected antioxidant enzymes – superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPx) in the erythrocytes of sick people subjected to HBO. Additionally, it was decided to define the impact on the number of treatments in a hyperbaric chamber on the activity of the determined antioxidant enzymes and concentration of the by-products of the lipid peroxidation process.

MATERIAL AND METHODS

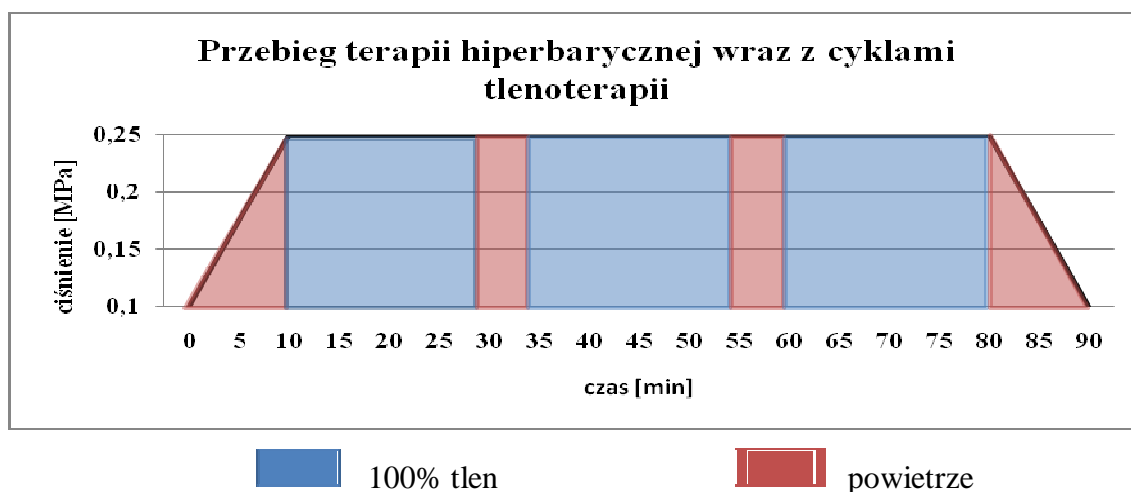
The study was conducted on 19 patients (having an average age of 52 ± 16 years) of the Warsaw Centre of Hyperbaric Therapy and Wound Treatment. The patients provided written consent regarding their participation in the scientific study. The experiment received the approval of the Bioethical Committee of Ludwik Rydygier Collegium Medicum in Bydgoszcz, the University of Nicolaus Copernicus in Toruń (approval no. KB 525/2011). Additionally, two groups of 5 people were selected from the said 19 patients subjected to hyperbaric therapy: those who entered the hyperbaric chamber no more than 3 times before the experiment commencement – group I (having an average age of 32.2 ± 18.7 years), and those who were exposed to hyperbaric oxygen stimulation multiple times (more than 23 treatments) – group II (having an average age of 53.6 ± 19.1 years).

The hyperbaric oxygenation was performed in a *Starmed 2200* chamber produced by Haux, a specialist manufacturer of life support equipment. The chamber ensured the same environmental conditions for all patients participating in the study, i.e. pressure, humidity, temperature and the ability to breathe pure oxygen for the same period of time. The pressure inside the hyperbaric chamber during the treatment was 0.25 MPa. During hyperbaric exposure the volunteers breathed with 100% oxygen through a mask.

MATERIAŁ I METODY

W badaniu wzięło udział 19 pacjentów (śr. wieku 52 ± 16 lat) Mazowieckiego Centrum Terapii Hiperbarycznej i Leczenia Ran w Warszawie. Chorzy wyrazili pisemną zgodę na udział w badaniu naukowym. Eksperyment uzyskał akceptację Komisji Bioetycznej przy Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu (zgody nr KB 525/2011). Wśród 19 chorych poddanych terapii hiperbarycznej wyodrębniono dodatkowo dwie pięcioosobowe grupy: osoby, które do momentu przeprowadzenia eksperymentu przebywały w komorze hiperbarycznej nie więcej niż 3 razy - grupa I (śr. wieku $32,2 \pm 18,7$ lat) oraz chorzy, którzy wiele razy (ponad 23 zabiegi) korzystali ze stymulacji tlenem hiperbarycznym - grupa II (śr. wieku $53,6 \pm 19,1$ lat).

Chorych poddano tlenoterapii hiperbarycznej w komorze firmy Haux, model Starmed 2200, która stwarza pacjentom biorącym udział w badaniu jednakowe warunki środowiskowe, tj. ciśnienie, wilgotność, temperaturę oraz pozwala oddychać stuprocentowym tlenem, przez taki sam okres czasu. Ciśnienie panujące wewnątrz komory hiperbarycznej w trakcie trwania zabiegu wynosiło 0,25 MPa. Podczas ekspozycji hiperbarycznej ochotnicy oddychali 100% tlenem przez maskę. Tlenoterapia odbywała się w trzech dwudziestominutowych cyklach, oddzielonych od siebie pięciominutowymi przerwami, podczas których badani oddychali powietrzem (rys. 1). Łączny czas oddychania tlenem hiperbarycznym wyniósł 60 min na ekspozycję. Zabieg obejmował również dwa dziesięciominutowe okresy kompresji oraz dekompresji, podczas których chorzy oddychali powietrzem, okresy te znajdowały się odpowiednio na początku i na końcu zabiegu.



Rys. 1. Schemat sprężenia leczniczego w wielomiejscowej komorze hiperbarycznej, stosowany w Mazowieckim Centrum Terapii Hiperbarycznej i Leczenia Ran w Warszawie.

Krew do badań biochemicznych pobrano z żyły odłokciowej dwa razy: przed zabiegiem w komorze hiperbarycznej oraz ok. 5 min po zabiegu. Aktywność SOD, CAT i GPx oznaczono w erytrocytach, stężenie TBARS w erytrocytach i osoczu krwi. Badania biochemiczne przeprowadzono w Katedrze Biologii Medycznej Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu.

Stężenie TBARS zmierzono metodą opisaną przez Buege i Austa [8] w modyfikacji Esterbauera i Cheesemana [11]. Produkty peroksydacji lipidów identyfikowano przy użyciu kwasu tiobarbiturowego (TBA). Głównym produktem peroksydacji lipidów reagującym z kwasem tiobarbiturowym jest dialdehyd malonowy (MDA), dlatego dla uproszczenia poziom substancji reagujących z kwasem tiobarbiturowym wyrażono jako stężenie MDA. Stężenie MDA w erytrocytach przedstawiono jako nmol MDA/g Hb, a w osoczu jako nmol MDA/ml osocza.

The oxygen therapy was carried out in three 20-minute cycles relieved with 5-minute intervals during which those tested breathed air (fig. 1). The total time of breathing with hyperbaric oxygen was 60 min per exposure. The therapy also encompassed two 10-minute periods of compression and decompression, at the beginning and at the end of the treatment respectively, during which the patients breathed air.

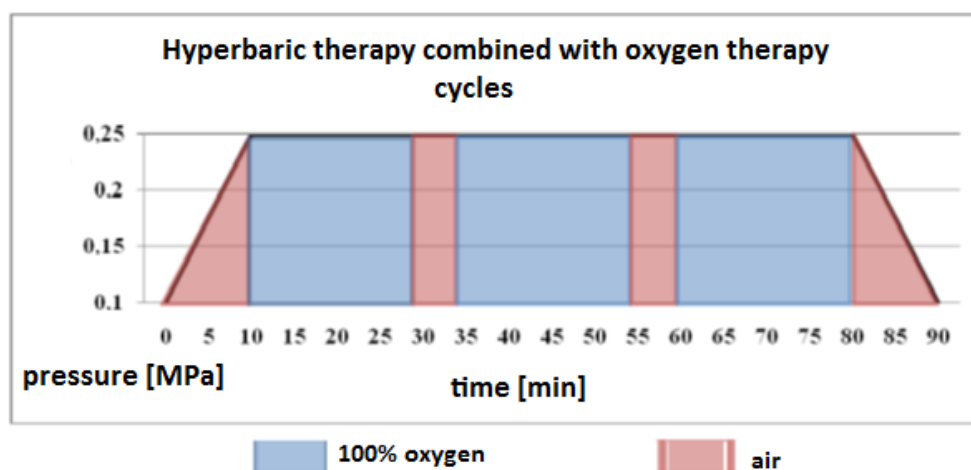


Fig. 1. Treatment compression scheme in the multiplace hyperbaric chamber used in the Warsaw Centre of Hyperbaric Therapy and Wound Treatment.

TBARS concentration was measured with the method described by Buege and Aust [7] in Esterbauer and Cheeseman's modification [10]. Lipid peroxidation products were identified with the use of thiobarbituric acid (TBA). The main product of lipid peroxidation reacting with thiobarbituric acid is malonyl dialdehyde (MDA), thus for the sake of simplification the level of substances reacting with thiobarbituric acid was expressed as MDA concentration. MDA concentration in the erythrocytes was presented as nmol MDA/g Hb, whereas in the blood plasma as nmol MDA/ml of the plasma.

The determination of SOD activity in the erythrocytes was based on enzyme inhibition of the reaction of adrenaline autoxidation to adrenochrome in an alkaline environment. SOD activity measurement was conducted with the use of previously obtained hemolysate after the removal of haemoglobin via a mixture of chloroform and ethanol. After centrifugation two layers were obtained: the upper layer containing the enzyme and the lower containing denatured haemoglobin and chloroform [7].

SOD activity was determined by continuous reaction recording with the use of a kinetic programme of Varian spectrophotometer and expressed in U/g Hb.

CAT activity determination was based on the measurement of the decrease in the absorption of hydrogen peroxide (H₂O₂) decomposed by the enzyme. Absorption reduction is directly proportional to the reduction of H₂O₂ concentration in the solution [4]. CAT activity was presented as IU/g Hb. GPx activity was determined at a temperature of 20°C with a method based on the decomposition reaction of hydrogen peroxide by this enzyme, with simultaneous oxidation of reduced glutathione [20]. The results were expressed as U/g Hb.

Test results were presented in the form of mean values together with standard deviations (SD). Statistical analysis was carried out with the use of the Student's t-test, differences of $p < 0.05$ being assumed to be statistically significant. Correlation coefficients between the tested parameters were determined, and statistical hypothesis on their significance were verified.

Oznaczenie aktywności SOD w erytrocytach opiera się na hamowaniu przez enzym reakcji samoutlenienia adrenaliny do adrenochromu w środowisku zasadowym. Do pomiaru aktywności SOD wykorzystano otrzymany wcześniej hemolizat po uprzednim usunięciu hemoglobiny mieszaniną chloroformu i etanolu. Po odwirowaniu otrzymano dwie warstwy: górną zawierającą enzym i dolną zawierającą zdenaturowaną hemoglobinę oraz chloroform [8]. Aktywność SOD oznaczono za pomocą ciągłego zapisu przebiegu reakcji z użyciem programu kinetycznego na spektrofotometrze firmy Varian i wyrażono w U/g Hb.

Oznaczenie aktywności CAT opierało się na pomiarze spadku absorbancji roztworu nadtlenu wodoru (H_2O_2) rozkładanego przez enzym. Obniżenie absorbancji jest wprost proporcjonalne do zmniejszenia się stężenia H_2O_2 w roztworze [5]. Aktywność CAT przedstawiono jako IU/g Hb.

Aktywność GPx oznaczono w temp. 20°C metodą opartą na reakcji rozkładu nadtlenu wodoru przez ten enzym z równoczesnym utlenieniem zredukowanego glutationu [22]. Wyniki przedstawiono jako U/g Hb.

Wyniki badań zostały przedstawione w postaci wartości średnich wraz z odchyleniami standardowymi (SD). Analizę statystyczną przeprowadzono za pomocą „testu T – Studenta”, różnicę przy poziomie istotności $p < 0,05$ przyjęto jako istotną statystycznie. Wyznaczono współczynniki korelacji między badanymi parametrami. Zweryfikowano hipotezę statystyczną o istotności tych współczynników.

WYNIKI

Nie wykazano istotnych statystycznie zmian stężenia TBARS w osoczu i w erytrocytach chorych poddanych tlenoterapii hiperbarycznej, wykazano jednak istnienie pewnych tendencji do zmian.

Stężenie TBARS w erytrocytach wszystkich badanych analizowanych łącznie po przeprowadzonej ekspozycji hiperbarycznej wykazało tendencję do obniżenia się o ok. 4% z $30,79 \pm 10,31$ nmol MDA/g Hb do $29,48 \pm 7,52$ nmol MDA/g Hb (Tab. 1.). W grupie I stężenie TBARS w erytrocytach chorych nie zmieniło się pod wpływem HBO i było równe ok. 28,05 nmol MDA/g Hb. U osób, które wcześniej przebywały w komorze hiperbarycznej więcej niż 23 razy (grupa II) stężenie TBARS w erytrocytach po przeprowadzonej ekspozycji hiperbarycznej wykazało z kolei tendencję wzrostową o ok. 3%. Stężenie TBARS w osoczu wszystkich osób badanych analizowanych łącznie po HBO wykazało tendencję do zwiększenia się o ok. 4% z $0,49 \pm 0,09$ nmol MDA/ml do $0,51 \pm 0,07$ nmol MDA/ml. W osoczu krwi osób z grupy I stężenie TBARS po przeprowadzonej ekspozycji hiperbarycznej zwiększyło się o ok. 7% w grupie II natomiast nie zmieniło się.

Stwierdzono przed zabiegiem hiperbarii tlenowej istotną statystycznie różnicę w stężeniu TBARS w osoczu krwi chorych z grupy I i II. Stężenie TBARS było przed zabiegiem w komorze hiperbarycznej wyższe o 27% ($p < 0,05$) niż w osoczu krwi osób z grupy II.

Aktywność SOD w erytrocytach wszystkich chorych łącznie po przeprowadzonej ekspozycji hiperbarycznej wykazała tendencję do wzrostu o ok. 5% z $758,07 \pm 117,66$ U/g Hb do $795,63 \pm 121,60$ U/g Hb (Tab. 1). Obserwowana różnica nie była jednak istotna statystycznie. W erytrocytach chorych z grupy I i II aktywność SOD po HBO również wykazała tendencję do zwiększenia się. W grupie I był to wzrost o ok. 5%, a w II o ok. 10% ($p > 0,05$). Aktywność CAT oznaczona w erytrocytach wszystkich badanych łącznie zmniejszyła się o 4% po HBO (Tab. 1, $p > 0,05$). Wykazano istotne statystycznie ($p < 0,05$) obniżenie się aktywności tego enzymu w grupie I o ok. 19%, z $59,01 \pm 11,10 \times 10^4$ IU/g Hb przed ekspozycją do $47,54 \pm 10,08 \times 10^4$ IU/g Hb po hiperbarii tlenowej, w grupie II natomiast obserwowano tendencję do zwiększania się aktywności CAT o ok. 1%. Nie wykazano istotnych statystycznie zmian aktywności GPx po HBO. Aktywność GPx w erytrocytach wszystkich badanych łącznie wykazała tendencję do wzrostu o ok. 25%. U osób z grupy I po przeprowadzonej ekspozycji hiperbarycznej aktywność GPx obniżyła się o 33% ($p > 0,05$), a w grupie drugiej nieznacznie wzrosła.

RESULTS

No statistically significant changes in TBARS concentration in the blood plasma and erythrocytes of the patients subjected to hyperbaric oxygen therapy were indicated; however, certain tendencies to such changes were detected.

TBARS concentration in the erythrocytes of all the subjects analysed cumulatively after the conducted hyperbaric exposure showed a tendency to reduce by ca. 4% from 30.79 ± 10.31 nmol MDA/g Hb to 29.48 ± 7.52 nmol MDA/g Hb (Tab. 1). In group I, TBARS concentration in the erythrocytes did not change as a result of HBO and was equal to ca. 28.05 nmol MDA/g Hb. Whereas in people who were placed in the hyperbaric chamber more than 23 times (group II) TBARS concentration in the erythrocytes after the hyperbaric exposure (group II) showed an increase of approx. 3%. TBARS concentration in the blood plasma of all the patients, analysed cumulatively after HBO, demonstrated a growing tendency by ca. 4% from 0.49 ± 0.09 nmol MDA/ml to 0.51 ± 0.07 nmol MDA/ml. TBARS concentration in the blood plasma of the patients from group I following the hyperbaric exposure was increased by ca. 7%, whereas in group II it did not change.

Before the hyperbaric treatment, a statistically significant difference in TBARS concentration was observed in the blood plasma of the patients from group I and II. Such concentration before the treatment in the hyperbaric chamber was 27% higher ($p < 0.5$) in patients from group I than in the blood plasma of patients from group II.

SOD activity in the erythrocytes of all the patients, measured cumulatively after the hyperbaric exposition, showed a growing tendency by approx. 5% from 758.07 ± 117.66 U/g Hb to 795.63 ± 121.60 U/g Hb (Tab. 1). However, the observed difference was not statistically significant. SOD activity in the erythrocytes of the patients from group I and II after HBO also indicated a growing tendency. In group I the increase amounted to ca. 5%, whereas in group II to ca. 10% ($p > 0.05$). CAT activity determined cumulatively for the erythrocytes of all the patients decreased by 4% after HBO (Tab. 1, $p > 0.05$). A statistically significant ($p < 0.05$) decrease in the activity of this enzyme was revealed: in group I by ca. 19%, from $59.01 \pm 11.10 \times 10^4$ IU/g Hb before the exposure to $47.54 \pm 10.08 \times 10^4$ IU/g Hb after the hyperbaric oxygen therapy, whereas in group II a growing tendency towards CAT activity increase by ca. 1% was observed. No statistically significant changes in GPx activity after HBO were noted. GPx activity measured cumulatively in the erythrocytes of all the patients demonstrated a growing tendency by ca. 25%. In persons from group I after the hyperbaric exposure GPx activity decreased by 33% ($p > 0.05$), whereas in group II the increase was insignificant.

Before HBO, twice as high GPx activity was observed in the erythrocytes of patients from group I as compared with group II ($p < 0.01$). However, such a difference was not observed in the tests carried out after the hyperbaric oxygen therapy.

In group I, before the therapy in the hyperbaric chamber a statistically significant, negative correlation was noted between CAT and GPx activity in the erythrocytes ($r = 0.958$; $p = 0.01$) (Fig. 2).

Przed HBO wykazano ponad dwa razy wyższą aktywność GPx w erytrocytach osób z grupy I w porównaniu z grupą II ($p < 0,01$). Takiej różnicy natomiast nie obserwowano podczas badania przeprowadzonego po hiperbarii tlenowej.

W grupie I przed zabiegiem w komorze hiperbarycznej wykazano znamiennej statystycznie, ujemną korelację między aktywnością CAT i aktywnością GPx w erytrocytach ($r = -0,958$; $p = 0,01$) (Rys. 2).

Tabela 1.

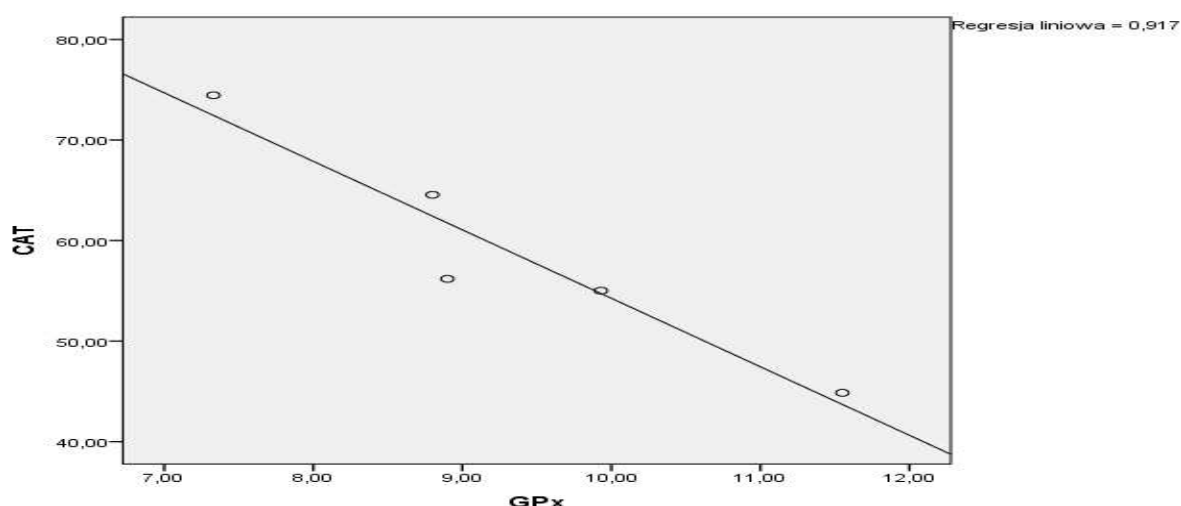
Stężenie substancji reagujących z kwasem tiobarbiturowym (TBARS) w erytrocytach i osoczu krwi oraz aktywność katalazy (CAT), dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) i peroksydazy glutationowej (GPx) w erytrocytach chorych poddanych hiperbarii tlenowej (HBO).

Oznaczany parametr	Wszyscy badani łącznie		Grupa I		Grupa II	
	Przed zabiegiem	Ok. 5 min po zabiegu HBO	Przed zabiegiem	Ok. 5 min po zabiegu HBO	Przed zabiegiem	Ok. 5 min po zabiegu HBO
TBARS er. [nmol MDA/g Hb]	30,79 ± 10,31	29,48 ± 7,52	28,06 ± 2,38	28,05 ± 2,62	26,59 ± 7,69	27,52 ± 8,22
TBARS os. [nmol MDA/ml]	0,49 ± 0,09	0,51 ± 0,07	0,45 ± 0,04	0,48 ± 0,03	0,57 ± 0,04+	0,56 ± 0,09
SOD [U/g Hb]	758,07 ± 117,66	795,63 ± 121,60	772,62 ± 82,45	808,17 ± 76,52	728,57 ± 106,35	801,30 ± 81,26
CAT [10 ⁴ IU/g Hb]	57,36 ± 9,35	55,16 ± 11,67	59,01 ± 11,10	47,54 ± 10,08*	61,63 ± 11,18	62,10 ± 13,14
GPx [U/g Hb]	5,60 ± 2,85	6,99 ± 5,29	9,30 ± 1,56	6,21 ± 4,57	4,17 ± 1,03**	5,79 ± 4,01

Wyniki przedstawiono jako $\bar{x}_{\pm} \pm SD$

* - różnica istotna statystycznie w porównaniu z aktywnością przed zabiegiem ($p < 0,05$)

+ - różnica istotna statystycznie w porównaniu z grupą I ($+p < 0,05$; $++p < 0,01$)



Rys. 2. Wykres zależności liniowej między aktywnością peroksydazy glutationowej (GPx) i katalazy (CAT) w erytrocytach chorych z grupy I przed zabiegiem w komorze hiperbarycznej.

Table 1.

Concentration of substances reacting with thiobarbituric acid (TBARS) in the erythrocytes and blood plasma as well as the activity of catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GPx), in the erythrocytes of patients subjected to hyperbaric oxygenation (HBO).

Determined parameter	All patients cumulatively		Group I		Group II	
	Before treatment	Approx. 5 min after HBO	Before treatment	Approx. 5 min after HBO	Before treatment	Approx. 5 min after HBO
TBARS er. [nmol MDA/g Hb]	30.79 ± 10.31	29.48 ± 7.52	28.06 ± 2.38	28.05 ± 2.62	26.59 ± 7.69	27.52 ± 8.22
TBARS pl. [nmol MDA/ml]	0.49 ± 0.09	0.51 ± 0.07	0.45 ± 0.04	0.48 ± 0.03	0.57 ± 0.04+	0.56 ± 0.09
SOD [U/g Hb]	758.07 ± 117.66	795.63 ± 121.60	772.62 ± 82.45	808.17 ± 76.52	728.57 ± 106.35	801.30 ± 81.26
CAT [10 ⁴ IU/g Hb]	57.36 ± 9.35	55.16 ± 11.67	59.01 ± 11.10	47.54 ± 10.08*	61.63 ± 11.18	62.10 ± 13.14
GPx [U/g Hb]	5.60 ± 2.85	6.99 ± 5.29	9.30 ± 1.56	6.21 ± 4.57	4.17 ± 1.03++	5.79 ± 4.01

The results were presented as $\bar{x}_{\text{mean}} \pm \text{SD}$

* statistically significant difference in comparison with the activity before the therapy ($p < 0.05$)

+ statistically significant difference in comparison with group I ($+p < 0.05$; $++p < 0.01$)

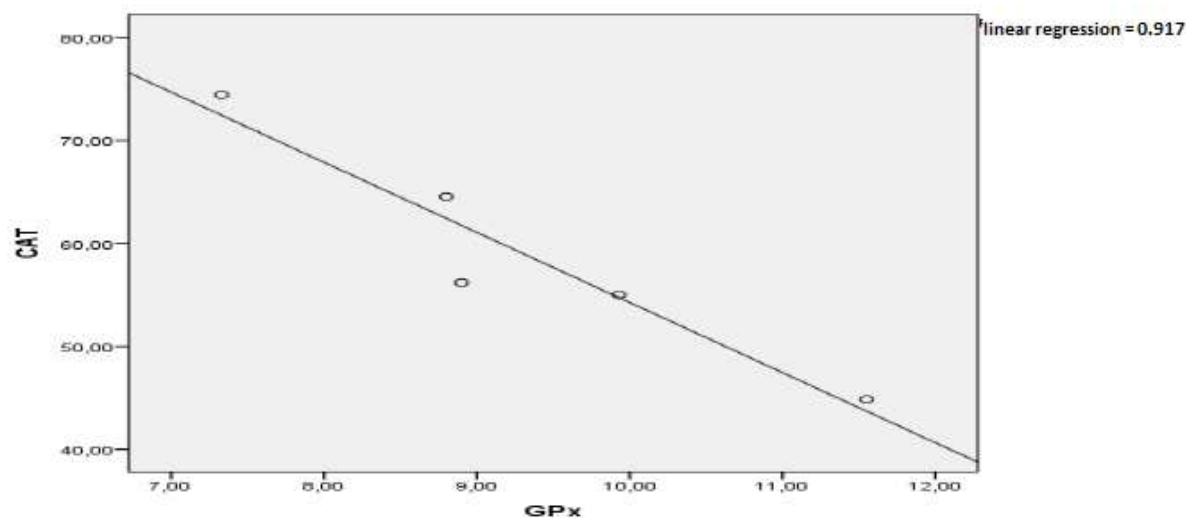


Fig. 2. Linear dependency chart between the activity of glutathione peroxidase (GPx) and catalase (CAT) in the erythrocytes of patients from group I before the therapy in the hyperbaric chamber.

DYSKUSJA

Oddychanie 100% tlenem oraz procesy metaboliczne mogą nasilać generację reaktywnych form tlenu w organizmie. Głównym źródłem tych toksycznych postaci tlenu w komórce jest łańcuch oddechowy. W procesie oddychania komórkowego część tlenu ulega w sposób naturalny reakcji niepełnej redukcji, co prowadzi do powstawania RFT [4, 14].

Substancje reagujące z kwasem tiobarbiturowym są jednym z markerów stresu oksydacyjnego [4]. Tendencja do wzrostu stężenia TBARS wykazana w badaniu własnym po ekspozycji hiperbarycznej w osoczu krwi chorych może świadczyć o wzmożeniu procesu peroksydacji lipidów, a tym samym nasiloniej generacji RFT.

W badaniach własnych nie zaobserwowano znamiennych statystycznie zmian aktywności SOD. Odnotowano jednak tendencję do wzrostu aktywności tego enzymu, która dotyczyła wszystkich grup chorych. Wykazana zmiana może sugerować wzmożoną generację RFT, a głównie anionorodnika ponadtlenkowego ($O_2^{\cdot-}$), będącego substratem katalizowanej przez SOD reakcji dysmutacji [12].

W przeprowadzonym badaniu wystąpiło istotne statystycznie obniżenie się aktywności CAT w erytrocytach chorych z grupy I. W grupie II i w grupie wszystkich chorych analizowanych łącznie nie wykazano istotnych statystycznie zmian aktywności tego enzymu.

W piśmiennictwie nie ma jednoznacznej odpowiedzi na pytanie: czy działanie tlenem hiperbarycznym zaburza równowagę oksydacyjno - antyoksydacyjną organizmu człowieka? Istnieją zupełnie sprzeczne doniesienia, np. badania przeprowadzone w hodowli płytek krwi ssaków dowodzą, że jednorazowa stymulacja hiperbaryczna trwająca 90 min przy ciśnieniu 2,2 atm nie wywołuje zmian aktywności enzymów antyoksydacyjnych [25]. Inne eksperymenty również przeprowadzone w hodowli komórkowej (ludzkie fibroblasty płuc) wykazują, że ekspozycja hiperbaryczna powoduje zwiększenie generacji RFT [15]. Wyniki Kozakiewicza i wsp. [17] potwierdzają, że w warunkach hiperbarycznych następuje nasilenie procesów oksydacyjnych, które są źródłem wolnych rodników tlenowych, a w erytrocytach badanych osób stwierdza się istotne osłabienie enzymatycznej obrony antyoksydacyjnej, w porównaniu z wynikami uzyskanymi u osób przebywających stale w warunkach normobarii.

Zastanawiający jest fakt obniżenia aktywności CAT wyłącznie w grupie I, podczas gdy w pozostałych grupach nie odnotowano istotnych statystycznie różnic. W grupie tej przed zabiegiem w komorze hiperbarycznej wykazano również ujemną, istotną statystycznie korelację między aktywnością CAT i GPx w erytrocytach ($r=-0,958$; $p=0,01$) co może świadczyć o tym, że istotną rolę w usuwaniu nadtlenu wodoru odgrywa nie CAT, lecz GPx, stąd obniżenie aktywności CAT.

Benedetti i wsp. [6] ustalili, że aktywność CAT wzrasta tuż po ekspozycji hiperbarycznej. Uzyskana w badaniu własnym zmiana nie potwierdza tego faktu. Jedynie w grupie II wykazano tendencję do wzrostu aktywności tego enzymu. Wynik sugeruje, że u osób poddanych wiele razy działaniu hiperbarii tlenowej występują zmiany przystosowawcze w funkcjonowaniu bariery antyoksydacyjnej. Inni autorzy tłumaczą obniżenie aktywności katalazy jako rezultat reakcji metalu z kompleksem substrat - enzym, tj. kompleksowaniem substratu, bądź blokadą aktywności katalitycznej enzymu [18]. Badania przeprowadzone u czternastu zdrowych, niepalących ochotników (wiek 25-30 lat), którzy zostali poddani działaniu tlenu hiperbarycznego (3 x 20 min cykle tlenoterapii, z dwiema przerwami 5 min, podczas których oddychano powietrzem, ciśnienie panujące w komorze wynosiło 2,5 ATA) nie wykazały istotnych statystycznie zmian aktywności CAT oraz SOD [27]. Wyniki te nie pozostają w zgodzie z badaniami prezentowanymi w niniejszej pracy. Trudno jednak jednoznacznie wytłumaczyć obserwowane różnice.

Szczególnie ważne wydają się więc badania nad skutkami długotrwałego oddziaływania tlenu hiperbarycznego na organizm. Ma i wsp. [19] badali wpływ HBO u 36 chorych na cukrzycę ze stopą cukrzycową. Połowę pacjentów przydzielono do grupy kontrolnej, w której mieli oni zapewnioną tylko standardową opiekę medyczną, natomiast druga połowa oprócz standardowej opieki medycznej, poddana została dodatkowo zabiegom HBO (dwa razy dziennie przez 90 min pod ciśnieniem 2,5 atm przez 2 tygodnie - łącznie 10 zabiegów).

DISCUSSION

Breathing of 100% oxygen and the metabolic processes may increase the generation of oxygen reactive forms in an organism. The main source of these toxic forms of oxygen in a cell is the respiratory chain. In cellular respiration a part of oxygen is naturally subjected to an incomplete reduction reaction, which leads to the emergence of ROS [3, 13]. Substances reacting with thiobarbituric acid are one of the markers of oxidative stress [3]. The tendency to an increase in TBARS concentration in the blood plasma of the patients, shown in our own study after a hyperbaric exposure, may be an indicator of an intensification of the lipid peroxidation process, and consequently an intensified generation of ROS. The conducted research did not show statistically significant changes in the activity of SOD. However, what was noted was the tendency of growth in the activity of this enzyme, visible in all patient groups. The indicated change may suggest an increased generation of ROS, and mainly of superoxide anion radical ($O_2^{\bullet-}$), which is a substrate of dismutase reaction catalysed by SOD [12]. The conducted study indicated a statistically significant reduction in CAT activity in the erythrocytes of the patients from group I. In group II, as well as in the group of all patients analysed collectively, no statistically significant changes in the activity of this enzyme were noted. Literature does not provide an explicit answer to the question whether hyperbaric oxygen therapy upsets the oxidant – antioxidant balance in the human organism. The available reports are rather contradictory, e.g. tests carried out in a culture of mammal blood platelets prove that a single 90-minute hyperbaric stimulation at a pressure of 2.2 atm does not evoke changes in the activity of antioxidant enzymes [23]. Other experiments also carried out in a cell culture (human lung fibroblasts) indicated that hyperbaric exposure caused an increased ROS generation [14]. The results obtained by Kozakiewicz and others [16] confirm an intensification of oxidative processes (the source of free oxygen radicals) in hyperbaric conditions, as well as a significant reduction of enzymatic antioxidant defence in the erythrocytes of the researched patients, as compared with the results obtained for people remaining in normobaric conditions.

What is puzzling is the fact of reduction in CAT activity observable only in group I, whereas no statistically significant differences were noted in any of the remaining group. This group also indicated a negative, statistically significant correlation between CAT and GPx activity in the erythrocytes ($r=-0.958$; $p=0.01$) before therapy commencement in the hyperbaric chamber, which may indicate that a significant role in the disposal of hydrogen peroxide is played not by CAT but GPx, hence the CAT activity reduction. Benedetti and others [5] determined that CAT activity grows immediately after hyperbaric exposure. However, the change observed in the conducted study does not confirm this fact. A tendency of an increased activity of this enzyme was noted only in group II. This result suggests the occurrence of adaptive changes in the functioning of an antioxidant barrier in people subjected to hyperbaric oxygen in multiple series. Other authors explain the reduction in catalyse activity as a result of metal reaction with the complex substrate – enzyme, i.e. substrate complexing or enzyme catalytic activity blockade [17].

Tests conducted on 14 healthy, non-smoking volunteers (aged 25-30) subjected to hyperbaric oxygen (3 X 20 min oxygen therapy cycles with two 5-minute breaks breathing normal air, pressure in the chamber equal to 2.5 ATA) did not indicate any statistically significant changes in CAT and SOD activity [27]. These results are not consistent with the study presented in this work; however, it is difficult to provide a clear explanation of the observed differences. Thus, what seems particularly important is a study on the long-lasting effects that hyperbaric oxygen has on an organism. Ma and others [19] examined HBO's impact on 36 diabetics with diabetic foot syndrome. Half of the patients were assigned to a control group with standard medical care, whereas the other half underwent HBO treatment in addition to the standard care (twice a day for 90 min under the pressure of 2.5 atm over the period of 2 weeks – altogether 10 procedures).

Materiał badany stanowiła tkanka wrzodu pobrana przed rozpoczęciem badania oraz 7 i 14 dnia trwania eksperymentu. W pracy wykazano istotny statystycznie ($p < 0,05$) wzrost stężenia MDA oraz wzrost aktywności CAT i GPx w grupie pacjentów z HBO 14. dnia eksperymentu w porównaniu do grupy kontrolnej. Równocześnie zaobserwowano znaczącą poprawę w gojeniu się stopy cukrzycowej w leczeniu wspomaganym HBO. Niebezpieczne wydają się jednak obawy autorów pracy, że przy dłuższym stosowaniu zabiegów HBO z uwagi na stres oksydacyjny jaki HBO *per se* wywołuje, można zatracić efekt poprawy gojenia się ran [19].

Niemniej jednak najnowsze badania na zwierzętach potwierdzają pozytywne działanie długotrwałej terapii tlenem hiperbarycznym. Zastosowanie tlenu hiperbarycznego (100% O₂) pod ciśnieniem 2,5 atm wciągu 1h przez 5 kolejnych dni zmniejszyło stres oksydacyjny i wykazało właściwości neuroprotektoryjne w mózgach szczurów podczas udaru niedokrwiennego wywołanego ostrą hiperglikemią [26]. Wyniki Ayvaz i wsp. [2] również wskazują na antyoksydacyjne działanie długotrwałych terapii HBO (100% O₂, 2,5 atm, 1,5h przez 14 dni). U szczurów, którym podwiązano przewody żółciowe i poddano działaniu HBO wykazano mniej oksydacyjnych uszkodzeń i zwłóknień w wątrobie niż u szczurów, które nie potraktowano długotrwałym działaniem czystego tlenu pod zwiększonym ciśnieniem [2].

Biorąc pod uwagę rezultaty badań własnych, a także im podobnych, w których udowodniono niekorzystne działanie hiperbarii tlenowej na organizm można przypuszczać, że czynnik ten działając jednorazowo lub w małej liczbie zabiegów zwiększa stężenie wolnych rodników tlenowych i prowadzi do trwałego uszkodzenia struktury i funkcji komórek. Wielokrotne zabiegi HBO mogą natomiast indukować pewne zmiany przystosowawcze.

WNIOSKI

- Ekspozycja na działanie tlenu hiperbarycznego wpływa na generację reaktywnych form tlenu, o czym świadczy istotne statystycznie obniżenie się aktywności katalazy w erytrocytach.
- Stymulacja tlenem hiperbarycznym nie ma istotnego wpływu na przebieg procesu peroksydacji lipidów.
- Częsta stymulacja tlenem hiperbarycznym zmienia odpowiedź antyoksydacyjną organizmu.

The examined material was an ulcer tissue sampled before experiment commencement as well as on the 7th and 14th day of the experiment. The study indicated a statistically significant ($p < 0.05$) increase in MDA concentration and a growth in CAT and GPx activity in the group of patients with HBO on the 14th day of the experiment as compared with the control group. At the same time a significant improvement in the healing process of the diabetic foot was observed in the treatment enhanced with HBO. However, the author's concerns related to a prolonged application of HBO procedures do not seem unjustified, as due to oxidative stress evoked by HBO it is presumed that the above effect may be lost [19].

Nonetheless, the most recent studies on animals confirm the positive impact of a long-term therapy with hyperbaric oxygen. The application of hyperbaric oxygen (100% O₂) under the pressure of 2.5 atm for 1 hour over 5 consecutive days allowed to reduce oxidative stress and displayed neuroprotective properties in the brains of rats during ischemic stroke caused by severe hyperglycemia [26]. The results obtained by Ayvaz and others [2] also point to an antioxidant effect of long-term HBO therapies (100% O₂, 2.5 atm, 1.5 h over 14 days). Rats with ligated bile ducts and subjected to HBO showed less oxidation damage and fibrosis in the liver as compared with rats that were not subjected to a long-term effect of pure oxygen under increased pressure [2].

Considering the results of our studies, as well as similar studies that prove an unfavourable impact of hyperbaric therapy on an organism, it may be stipulated that this sort of treatment applied for a single time or only several times increases the concentration of free oxygen radicals thus leading to permanent damage in the cellular structure and function. Multiple HBO treatment may, on the other hand, induce certain adaptive changes.

CONCLUSIONS

- Exposure to hyperbaric oxygen influences the generation of reactive forms of oxygen, which is confirmed by a statistically significant reduction of catalase activity in the erythrocytes.
- Hyperbaric oxygen stimulation does not have a significant impact on the lipid peroxidation process.
- Frequent stimulation with hyperbaric oxygen alters an organism's antioxidant response.

BIBLIOGRAPHY

1. Abramovich A., Shupak A., Ramon Y., Shoshani O., Bentur Y., Bar – Josef G., Taitelman U.; „Hyperbaric oxygen for carbon monoxide poisoning”; „Harefuah” Nr 132 (1) 1997, ISSN: 0017-7768, str. 21-24 (*in English*),
2. Ayvaz S., Kanter M., Aksu B., Sahin S. H., Uzun H., Erboga M., Pul M.; „The effects of hyperbaric oxygen application against cholestatic oxidative stress and hepatic damage after bile duct ligation in rats”; „J. Surg. Res.” 183_(1) 2013, ISSN: 0022-4804, str. 146-155. DOI: 10.1016/j.jss.2012.12.036 (*in English*),
3. Backer G.D., Parell G.J.; „Barotrauma of the ears and sinuses after scuba diving”; „Eur. Arch. Otorhinolaryngol” Nr 258 (4) 2001, ISSN: 0937-4477, str. 159-163, (*in English*),
4. Bartosz G.; „The second face of oxygen” PWN, ISBN: 978-83-0113-847-9, Warszawa 2003, (*in Polish*)
5. Beers R., Sizer J.W.; „Spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase”; „J. Biol. Chem.” Nr 195 (1) 1952, ISSN: 0021-9258, str. 133-140, (*in English*),
6. Benedetti S., Lamorgese A., Piersantelli M., Pagliarani S., Benvenuti F., Canestrari F.; „Oxidative stress and antioxidant status in patients undergoing prolonged exposure to hyperbaric oxygen”; „Clin. Biochem.” Nr 37 (4) 2004, ISSN: 1758-1001, str. 312-317. DOI:10.1016/j.clinbiochem.2003.12.001, (*in English*),
7. Boussuges A., Blanc P., Molenat F., Bergmann E., Sainty J. M.; „Prognosis in iatrogenic gas embolism”; „Minerva Med.” Nr 86 (11) 1995, ISSN: 0026-4806, str. 453-457, (*in English*),
8. Buege J.A., Aust S.D.; „Microsomal lipid peroxidation”; „Methods Enzymol” Nr. 52 1978, ISBN: 04-430-0694-6, str. 302-310, (*in English*),
9. Diurhuus R., Svardal M., Thorsen E.; „Glutathione in cellular defense of human lung cells expose to hyperoxia and high pressure”; „Undersea Hyp. Med.” Nr 26 (2) 1999 rok, ISSN: 1607-8438, str. 75-85, (*in English*),
10. Dröge W.; „Free radicals in the physiological control of cell function”; „Physiol. Rev.” Nr 82 (1) 2002, ISSN: 0031-9333, str. 47-95. DOI: 10.1152/physrev.00018.2001, (*in English*),
11. Esterbauer H., Cheeseman K. H.; „Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroksynonenal”; „Methods Enzymol” Nr. 186 1990, ISBN: 978-01-2381-345-9, str. 407-421. DOI: 10.1016/0076-6879(90)86134-H, (*in English*),
12. Gałęcka E., Jackiewicz R., Mrowicka M., Florkowski A., Gałęcki P.; „Antioxidant enzymes - structure, properties, functions”; „Pol. Merk. Lek.” Nr_25 (147) 2008, ISSN: 1426-9686, str. 266-269, (*in Polish*),
13. Grundmann T., Jaehne M., Fritz G.; „The value of hyperbaric oxygen therapy (HBO) in treatment of problem wounds in the area of plastic-reconstruction head and neck surgery”; „Laryngo-Rhino-Otologie” Nr_79 (5) 2000, ISSN: 0935-8943, str. 304-310. DOI: 10.1055/s-2000-8802, (*in English*),
14. Jain K.K.; „Textbook of hyperbaric medicine” Wyd. Hogrefe & Huber Publishers, ISBN 978-08-8937-277-1, Göttingen, 2004, (*in English*),
15. Jamieson D., Chance B., Cadenas E., Boveris A.; „The relation of free radical production to hyperoxia”; „Annu. Rev. Physiol” Nr 48 1986, ISSN 0066-4278, str. 703-719. DOI: 10.1146/annurev.ph.48.030186.003415, (*in English*),
16. Korhonen K.; „Hyperbaric oxygen therapy in acute necrotizing infections with a special reference to the effects on tissue gas tensions”; „Ann. Chir. Gynaecol. Suppl” Nr (214) 2000, ISSN: 0355-9521, str. 7-36, (*in English*),
17. Kozakiewicz M., Kędziora J., Kędziora-Kornatowska K.; „Effect of hyperbaric on selected parameters of oxidative stress in the blood of divers”; „PHR” Nr 3 (12) 2005, ISSN: 1734-7009, str. 7-13. DOI: 10.13006/phr, (*in Polish*),
18. Liu J., Xie J., Chu Y., Sun C., Chen C.H., Wang Q.; „Combined effect of cypermethrin and copper on catalase activity in soil”; „J. Soils. Sediments” Nr 8 (5) 2008, ISSN: 1614-7480, str. 327-332. DOI: 10.1007/s11368-008-0029-x, (*in English*),

19. Ma L., Li P., Shi Z., Hou T., Chen X., Du J.; „A prospective, randomized, controlled study of hyperbaric oxygen therapy: effects on healing and oxidative stress of ulcer tissue in patients with a diabetic foot ulcer”; „Ostomy Wound Manage” Nr 59 (3) 2013 ISSN: 0889-5899, str. 18-24, *(in English)*,
20. Mathieu D.; „Handbook on hyperbaric medicine” ISBN: 978-35-4075-016-1, Springer, Dordecht 2006, *(in English)*,
21. Misra H.P., Fridovich J.; „The role of superoxide anion in the autooxidation of epinephrine and a simple assay superoxide dismutase”; „J. Biol. Chem.” 1972, 247 (10) ISSN: 0021-9258, str. 3170-3175, *(in English)*,
22. Paglia D.E., Valentine W.N.; „Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase”; „Lab. Clin. Med.” Nr 70 (1) 1967, ISSN: 0022-2143, str. 158-169, *(in English)*,
23. Przybyszewski W.M., Kasperczyk J., Stokłosa K., Bkhiyan A.; „DNA damage caused by lipid peroxidation products”; „Postępy Hig. Med. Dosw.” Nr 59 2005, ISSN: 1732-2693, str. 75-81, *(in Polish)*,
24. Rutkowski R., Pancewicz S.A., Rutkowski K., Rutkowska J.; „The importance of reactive oxygen and nitrogen species in the pathogenesis of inflammation”; „Pol. Merk. Lek.” Nr 23 2007, ISSN: 1426-9686, str. 136-131, *(in Polish)*,
25. Shaw F.L., Handy R.D., Bryson P., Sneyd J.R., Moody A.J.; „A single exposure to hyperbaric oxygen does not cause oxidative stress in isolated platelets: No effect on superoxide dismutase, catalase, or cellular ATP”; „Clin. Biochem.” Nr 38 (8) 2005, ISSN: 0009-9120 str. 722-726. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2005.05.002, *(in English)*,
26. Soejima Y., Hu Q., Krafft P. R., Fujii M., Tang J., Zhang J. H.; „Hyperbaric oxygen preconditioning attenuates hyperglycemia-enhanced hemorrhagic transformation by inhibiting matrix metalloproteinases in focal cerebral ischemia in rats”; „Exp. Neurol.” 2013 Mar 26. ISSN: 1090-2430. DOI: 10.1016/j.expneurol.2013.03.019 [in press], *(in English)*,
27. Speit G., Bonzheim I.; „Genotoxic and protective effects of hyperbaric oxygen in A549 lung cells”; „Mutagenesis” Nr 18 (6) 2003, ISSN: 1535-4989, str. 545 – 548. DOI: 10.1093/mutage/geg028, *(in English)*,
28. Szymańska B., Kawecki M., Knefel G.; „Clinical aspects of hyperbaric oxygen”; „Wiad. Lek” Nr 59 (1-2) 2006, ISSN: 0043-5147, str. 105-109, *(in Polish)*.

ПОКАЗАТЕЛИ ОКИСЛИТЕЛЬНО-АНТИОКСИДАНТНОГО БАЛАНСА У ПАЦИЕНТОВ, ПОЛУЧАВШИХ ГИПЕРБАРИЧЕСКУЮ ОКСИГЕНАЦИЮ

Исследовано влияние гипербарической оксигенации (ГБО) на концентрацию веществ, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК) и активность выбранных антиоксидантных ферментов: супероксиддисмутазы (СОД), каталаза (САТ) и глутатионпероксидазы (GPx) в периферической крови у 19 пациентов. Образцы венозной крови до тестирования были взяты до поступления в барокамеру и через 5 минут после выхода из нее. Полученные результаты были проанализированы статистически с использованием t-теста Стьюдента. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$. Среди пациентов выделено дополнительно две группы по пять человек: люди, которые до эксперимента были размещены в гипербарической камере не более чем три раза - группа I и группа II, которые многократно (более 23 процедур) пользовались ГБО - группа II.

После процедуры ГБО не обнаружено никаких существенных изменений в уровне ТБКРС в эритроцитах и в плазме в каждой группе. Концентрация ТБКРС в плазме крови у группы II перед обработкой в барокамере была более высокой на 27% ($p < 0,05$), чем в группе I. ГБО не вызвала статистически значимые изменения активности СОД и GPx в эритроцитах обследуемых. САТ-активность в эритроцитах пациентов в группе I однако сократилась примерно на 19% ($p < 0,05$) после выхода из барокамеры. Перед ГБО было показано более чем в два раза выше активность GPx в эритроцитах в группе I по сравнению с группой II ($p < 0,01$).

Исследования показали, что ГБО влияет на генерацию активных форм кислорода, однако не действует непосредственно на интенсивность процесса перекисного окисления липидов. Повторная стимуляция гипербарической оксигенации меняет антиоксидантную реакцию организма.

Ключевые слова: гипербарическая оксигенация, окислительный стресс, антиоксидантные ферменты, перекисное окисление липидов.

Jarosław Paprocki
Katedra Biologii Medycznej,
Collegium Medicum w Bydgoszczy,
UMK w Toruniu
85-092 Bydgoszcz, ul. Karłowicza 24
Tel. 52 585 37 37, fax. 52 585 37 42

mgr Paweł Sutkowy
Katedra Biologii Medycznej,
Collegium Medicum w Bydgoszczy,
UMK w Toruniu
85-092 Bydgoszcz, ul. Karłowicza 24
Tel. 52 585 37 37, fax. 52 585 37 42
e-mail: pawel2337@wp.pl

dr n. med. Ewa Krzyżańska-Malinowska
Katedra Biologii Medycznej,
Collegium Medicum w Bydgoszczy,
UMK w Toruniu
85-092 Bydgoszcz, ul. Karłowicza 24
Tel. 52 585 37 37, fax. 52 585 37 42

dr med. Jacek Piechocki
Uniwersytet Medyczny im. Piastów
Śląskich we Wrocławiu
Mazowieckie Centrum Terapii
Hiperbarycznej i Leczenia Ran
w Warszawie
Ośrodek Tlenoterapii Hiperbarycznej
„Creator” we Wrocławiu
50-345 Wrocław, ul. Bujwida 44a, tel. 71
328 60 45, fax. 71 328 60 16
jpiechocki@hiperbaria.pl

dr hab. Alina Woźniak prof. UMK
Katedra Biologii Medycznej,
Collegium Medicum w Bydgoszczy,
UMK w Toruniu
85-092 Bydgoszcz, ul. Karłowicza 24
Tel. 52 585 37 37, fax. 52 585 37 42
e-mail: alina-wozniak@wp.pl