

RÓWNOWAGA OKSYDACYJNO-ANTYOKSYDACYJNA WE KRWI OSÓB Z NAGŁYM NIEDOSŁUCEM CZUCIOWO-NERWOWYM PO PRZEPROWADZONYM PIERWSZYM ZABIEGU HIPERBARII TLENOWEJ – BADAŃ WSTĘPNE

Jarosław Paprocki¹⁾, Marta Pawłowska¹⁾, Paweł Sutkowy¹⁾, Jacek Piechocki²⁾, Alina Woźniak¹⁾

¹⁾ Katedra Biologii Medycznej, Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

²⁾ Mazowieckie Centrum Terapii Hiperbarycznej i Leczenia Ran w Warszawie

STRESZCZENIE

Oznaczono aktywność wybranych enzymów antyoksydacyjnych: dysmutazy ponadtlenkowej (SOD), katalazy (CAT) i peroksydazy glutationowej (GPx) w erytrocytach oraz stężenie substancji reagujących z kwasem tiobarbiturowym (TBARS) w osoczu i w erytrocytach osób poddanych działaniu hiperbarii tlenowej (HBO) z powodu wystąpienia nagłego niedosłuchu nerwowo-czuciowego (SSNHL). Krew żylną do badań pobrano bezpośrednio przez zabiegiem HBO oraz ok. 5 min po wyjściu z komory hiperbarycznej. W grupie badanej wyodrębniono 2 podgrupy różniące się wiekiem: grupę I stanowiły osoby poniżej 35 roku życia, grupę II powyżej 50 lat.

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej z wykorzystaniem testu T-Studenta. Za istotne statystycznie uznano różnice przy poziomie istotności $p < 0,05$. Wykazano 5 min po wyjściu z komory hiperbarycznej istotne statystycznie obniżenie się aktywności CAT u wszystkich osób analizowanych łącznie ($p < 0,01$) oraz w I grupie ($p < 0,05$). Zaobserwowano ponadto statystycznie zmniejszenie się stężenia TBARS w erytrocytach w II grupie chorych ($p < 0,05$).

Wykazano, że jednorazowa ekspozycja hiperbaryczna wpływa na równowagę oksydacyjno-antyoksydacyjną o czym świadczy m.in. istotne statystycznie obniżenie się aktywności katalazy w erytrocytach. Możliwe, że odpowiedź antyoksydacyjna na działanie HBO zależy do wieku osób badanych.

Słowa kluczowe: Nagły niedosłuch czuciowo-nerwowy (SSNHL), hiperbaria tlenowa (HBO), dysmutaza ponadtlenkowa (SOD), katalaza (CAT), peroksydaza glutationowa (GPx), dialdehyd malonowy (MDA), substancje reagujące z kwasem tiobarbiturowym (TBARS).

ARTICLE INFO

PolHypRes 2017 Vol. 61 Issue 4 pp. 15 - 24

ISSN: 1734-7009 eISSN: 2084-0535

DOI: 10.1515/phr-2017-0018

Strony: 10, rysunki: 0, tabele: 1

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

Typ artykułu: oryginalny

Termin nadesłania: 13.08.2017r.

Termin zatwierdzenia do druku: 29.09.2017r.

Publisher

Polish Hyperbaric Medicine and Technology Society



WSTĘP

Nagły niedosłuch czuciowy-nerwowo (ang. *sudden sensorineural hearing loss* SSNHL) jest rozwijającą się gwałtownie i często występującą jednostką chorobową. Wiąże się ona z utratą sprawności jednego z najważniejszych zmysłów człowieka. Niedosłuch występuje, gdy ubytek słuchu obejmuje trzy, bądź więcej częstotliwości o natężeniu powyżej 30 dB. Głuchota następuje w czasie do trzech dni [1,4]. Częstość występowania tego schorzenia w Polsce wynosi ok. 5-20 przypadków zachorowań na 100 tys. osób w ciągu roku. Do wystąpienia tego schorzenia dochodzi najczęściej między 30 a 60 rokiem życia, niedosłuch dotyczy na ogół jednego ucha, rzadziej obu [2,5,6]. Jako przyczynę nagłej głuchoty najczęściej podaje się podłoże naczyniowe (50-70%), wirusowe (28-40%) lub autoimmunologiczne (ok. 15%) [2,3].

Nagłej głuchocie towarzyszą zwykle szumy uszne oraz nieprzyjemne uczucie zatknięcia ucha, co chorzy opisują, jako wrażenie waty w uchu. Występują dodatkowo częste zawroty głowy i zaburzenia równowagi [3]. SSNHL leczy się najczęściej farmakologicznie podając glikokortykosteroidy. Leki te podczas hospitalizacji szpitalnej podawane są dożylnie lub dobieńkowo, natomiast podczas leczenia ambulatoryjnego głównie doustnie. Glikokortykosteroidy podawane są doustnie, w dawce stopniowo malejącej, aż do całkowitego odstawienia. W terapii SSNHL stosowane są również leki przeciwwirusowe, poprawiające mikrokrążenie, a także leki moczopędne, witaminy oraz suplementy diety [9,12,13]. W przypadku występowania zawrotów głowy (30-40% chorych) lub szumów usznych wymagane są dodatkowe działania terapeutyczne. Coraz większym zainteresowaniem cieszy się hiperbaria tlenowa (HBO) stosowana łącznie z farmakoterapią. HBO jako jedyna znana metoda umożliwia wzrost stężenia parcjalnego tlenu w płynach ucha wewnętrznego.

Tlen dociera do narządu spiralnego w dwojaki sposób: drogą dyfuzji z prążka naczyniowego przez endolimfę przewodu ślimakowego oraz drogą dyfuzji z przestrzeni ucha środkowego przez błonę okienka okrągłego [11]. Działanie na organizm człowieka czystym tlenem w mieszance oddechowej, wraz z towarzyszącym jego wysokim ciśnieniem panującym wewnątrz komory (0,25 MPa) powoduje zwiększenie prężności tlenu w całym organizmie oraz wewnątrz ucha środkowego. Wzrostowi temu towarzyszy powrót czynności elektrofizjologicznej ślimaka [12,13].

Leczenie tlenem hiperbarycznym polega na oddychaniu 100-procentowym tlenem w specjalnie przystosowanej do tego celu komorze, w której ciśnienie jest wyższe niż ciśnienie lokalnie występujące. Do celów leczniczych wykorzystuje się ciśnienie rzędu 0,25 MPa [7]. Ciśnienie o tej wartości oraz oddychanie 100% tlenem przez specjalną maskę umożliwia natlenienie wszystkich narządów i tkanek organizmu, w tym ucha środkowego, co ma na celu spowodowanie ustąpienia objawów głuchoty. W trakcie leczenia SSNHL tlenem hiperbarycznym wg standardów stosowanych w Mazowieckim Centrum Terapii Hiperbarycznej i Leczenia Ran w Warszawie wykorzystuje się serię piętnastu codziennych sprężeń w komorze hiperbarycznej.

Wzrost stężenia tlenu w mieszance oddechowej może prowadzić w komórkach organizmu do nasilonej generacji reaktywnych form tlenu (RFT). W momencie zaburzenia równowagi oksydacyjno-antyoksydacyjnej w ustroju człowieka generowane w nadmiarze RFT powodują uszkodzenia DNA, białek oraz struktur lipidowych błon komórkowych [14,15]. Do RFT zaliczamy m.in.: anionodnik nadadtlenkowy (O_2^-), nadtlenek wodoru (H_2O_2), oraz rodnik hydroksylowy (OH) [16].

Aby zapobiec uszkodzeniom struktur komórkowych, organizm człowieka wykształcił mechanizmy zdolne do usuwania tych aktywnych postaci tlenu. Do związków o działaniu antyoksydacyjnym należą nieenzymatyczne zmiatacze RFT np. witaminy A, B, C i E oraz enzymy antyoksydacyjne takie, jak: dysmutaza nadadtlenkowa (SOD), katalaza (CAT) i peroksydaza glutationowa (GPx) [17]. Markerem stresu oksydacyjnego jest m.in. intensywność procesu peroksydacji lipidów, który polega na powtarzających się łańcuchowych reakcjach wolnorodnikowych, prowadzących do rozpadu kwasów tłuszczowych budujących błony komórkowe. Toksycznym dla komórek produktem peroksydacji lipidów są np. substancje reagujące z kwasem tiobarbiturowym (TBARS) [18].

MATERIAŁ I METODY

Badania zostały przeprowadzone w grupie 32 osób (średnia wieku=45±16 lat, hemoglobina-HGB=15,0±1,5 g/dl; hematokryt-HCT=44,3±10,4%), pacjentów Mazowieckie-go Centrum Terapii Hiperbarycznej i Leczenia Ran w Warszawie. Wśród osób badanych dodatkowo wyodrębniono dwie podgrupy: I grupę tworzyły osoby poniżej 35 roku życia (n=11, średnia wieku=28,2±5,8 lat, HGB=14,3±2,1 g/dl; HCT=40,9±5,8%), grupę II tworzyły osoby, powyżej 50 lat (n=12, średnia wieku=63,3±8,6 lat; HGB=15,4 g/dl±1,10; HCT=43,9±2,6%).

Terapia hiperbaryczna trwała 90 min. W trakcie zabiegu miały miejsce dwa 10 min okresy kompresji oraz dekompresji odpowiednio na początku oraz na końcu zabiegu, a także trzy 20 min okresy oddychania 100 procentowym tlenem. Okresy te oddzielono od siebie dwiema 5 min przerwami, podczas których chorzy oddychali powietrzem atmosferycznym. Łączny czas przebywania pod ciśnieniem 0.25 MPa wynosił 70 minut, a w trakcie tego okresu chorzy oddychali tlenem hiperbarycznym łącznie przez jedną godzinę [7].

Eksperyment naukowy uzyskał akceptację Komisji Biomedycznej przy Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu.

Chorych poddano tlenoterapii hiperbarycznej w komorze firmy Haux, model Starmed 2200, która stwarza osobom biorącym udział w badaniu jednakowe warunki środowiskowe, zapewnia stałe ciśnienie, wilgotność, temperaturę oraz pozwala oddychać stuprocentowym tlenem, przez taki sam okres czasu.

Materiałem do badań biochemicznych była krew pobrana przez wykwalifikowany personel medyczny z żyły odłokciowej. Krew do badań była pobrana 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 [32] w modyfikacji Esterbauera i Cheesemana [33]. 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.

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 [32]. 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 [34]. 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 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. Zweryfikowano hipotezę statystyczną o istotności tych współczynników.

WYNIKI

Aktywność SOD w erytrocytach wszystkich chorych analizowanych łącznie po przeprowadzonej ekspozycji hiperbarycznej obniżyła się nieistotnie statystycznie o ok. 2% z $778,61 \pm 194,68$ U/g Hb do $763,59 \pm 152,52$ U/g Hb (tab. 1). W erytrocytach chorych z grupy I aktywność SOD po HBO również wykazała nieznamienną statystycznie tendencję do obniżenia się. W grupie I aktywność tego enzymu przed zabiegiem wynosiła $836,32 \pm 169,33$ U/g Hb a po przeprowadzonym zabiegu zmniejszyła się do $784,04 \pm 168,40$ U/g Hb. W II grupie natomiast aktywność SOD po zabiegu HBO utrzymała się na tym samym poziomie, co przed ekspozycją na tlen hiperbaryczny z nieznaczną tendencją do wzrostu z $729,89 \pm 119,09$ U/g Hb do $735,30 \pm 125,38$ U/g Hb (tab. 1).

Aktywność CAT w erytrocytach wszystkich badanych łącznie po HBO obniżyła się istotnie statystycznie o 5,9% (tab. 1, $p < 0,01$). Stwierdzono również istotnie statystycznie ($p < 0,05$) zmniejszenie aktywności tego enzymu w grupie I o ok. 10,4%. W grupie II natomiast obserwowano nieistotną statystycznie tendencję do obniżania się aktywności CAT o ok. 1,9 % (tab. 1).

Nie wykazano znamienych statystycznie zmian aktywności GPx po przeprowadzonym pierwszym zabiegu hiperbarycznym. Aktywność tego enzymu w erytrocytach wszystkich badanych analizowanych łącznie wykazała tendencję do wzrostu po zabiegu o ok. 18,4% z $8,8 \pm 5,8$ do $10,42 \pm 5,24$ U/g Hb. U osób z grupy I po przeprowadzonej ekspozycji hiperbarycznej aktywność GPx zwiększyła się o 13%, a w II grupie o 18,5% (tab. 1).

Stężenie TBARS w erytrocytach wszystkich osób badanych analizowanych łącznie po przeprowadzonej ekspozycji hiperbarycznej wykazało tendencję do obniżenia się o ok. 7% z $26,31 \pm 8,65$ nmol MDA/g Hb do $24,48 \pm 8,53$ nmol MDA/g Hb (tab. 1). W grupie I wykazano tendencję do zmniejszania się poziomu TBARS w erytrocytach. W grupie II natomiast stężenie TBARS w erytrocytach obniżyło się istotnie statystycznie po przeprowadzonej ekspozycji hiperbarycznej ($p < 0,05$). Przed ekspozycją poziom TBARS wynosił w tej grupie $28,95 \pm 6,62$ nmol MDA/g Hb, a po przeprowadzonym zabiegu zmniejszył się o 15,6% do $24,42 \pm 5,81$ nmol MDA/g Hb (tab. 1).

Nie wykazano istotnych statystycznie zmian poziomu TBARS w osoczu krwi chorych po HBO. Obserwowano jednak pewną tendencję do wzrostu poziomu TBARS w osoczu krwi wszystkich osób badanych analizowanych łącznie. W grupie I stężenie tych produktów peroksydacji lipidów po przeprowadzonym zabiegu HBO obniżyło się o 2% ($p > 0,05$), natomiast w II grupie zwiększyło się o 6,8 % ($p > 0,05$; tab. 1).

Tab. 1

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

Oznaczany parametr	Wszyscy badani łącznie n=32		Grupa I n=11		Grupa II n=12	
	Przed zabiegiem	Ok. 5 min po zabiegu	Przed zabiegiem	Oznaczany parametr	Przed zabiegiem	Ok. 5 min po zabiegu
SOD [U/g Hb]	778.61 ± 194.68	763.59 ± 152.52	836.32 ± 169.33	784.04 ± 168.40	729.89 ± 119.05	735.30 ± 125.38
CAT [10 ⁴ IU/g Hb]	69.27 ± 9.45	65.60 ± 9.15**	70.20 ± 10.42	62.93 ± 9.64*	66.25 ± 10.75	65.10 ± 10.42
GPx [U/g Hb]	8.80 ± 5.18	10.42 ± 5.24	9.08 ± 5.60	10.34 ± 5.99	8.95 ± 5.40	10.61 ± 5.18
TBARS er. [nmol MDA/gHb]	26.31 ± 8.65	24.48 ± 8.53	22.17 ± 5.93	21.90 ± 6.93	28.95 ± 6.62	24.42 ± 5.81*
TBARS os. [nmol MDA/ml]	0.47 ± 0.09	0.48 ± 0.09	0.51 ± 0.12	0.50 ± 0.13	0.44 ± 0.08	0.47 ± 0.05

Wyniki przedstawiono jako $\bar{X} \pm SD$

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

** - różnica istotna statystycznie w porównaniu z aktywnością przed zabiegiem ($p < 0,01$)

DYSKUSJA

Oddychanie 100% tlenem może nasilać generację reaktywnych form tlenu w organizmie i wpływać na równowagę oksydacyjno-antyoksydacyjną. 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 [16,19].

Istnieją dowody potwierdzające również wpływ doustnej glikokortykosteroidoterapii na równowagę oksydacyjno-antyoksydacyjną człowieka. Bednarek i wsp. [8] zaobserwowali obniżenie aktywności CAT i SOD u osób cierpiących na chorobę Gravea-Basedowa przyjmujących glikokortykosteroidy. Inne badanie wykazało zmniejszenie aktywności CAT, SOD oraz stężenia TBARS w nerkach królików po podaniu glikokortykosteroidów w dawce 50 mg/kg masy ciała po doświadczalnym wywołaniu niedokrwienia tejże nerki, trwającego trzy godziny [20].

W niniejszej pracy nie obserwowano znamienych statystycznie zmian aktywności SOD. Odnotowano jednak pewną tendencję do obniżania się jej u wszystkich badanych analizowanych łącznie oraz w grupie I, zastanawiający jest fakt wykazania tendencji do wzrostu aktywności tego enzymu w II grupie. Paporcki i wsp. [21] we wcześniejszych badaniach również wykazali tendencję do zwiększenia się aktywności tego enzymu we krwi ochotników poddanych działaniu HBO. Freiburger i wsp. [22] udowodnili, że zwiększone ciśnienie parcjalne O_2 wpływa na zmianę aktywności SOD. Wyniki uzyskane przez tego uczonego sugerują wzmożoną generację RFT, a głównie anionorodnika nadtlenkowego ($O_2^{\cdot-}$), będącego substratem katalizowanej przez SOD reakcji dysmutacji, w wyniku przebywania w warunkach hiperbarii tlenowej [24]. Harabin i wsp. [25] badali wpływ HBO na szczury oraz świnki morskie poddane ciśnieniu 2,8 ATA oraz tlenoterapii ciągłej bądź przerywanej (10 min tlenoterapii oddzielonej 2,5 min przerwami podczas których badane zwierzęta oddychały powietrzem pod ciśnieniem 2,8 ATA). Naukowcy wykazali zwiększenie aktywności SOD w płucach oraz obniżenie aktywności CAT i GPx w mózgu zarówno świnek morskich jak i szczurów, poddanych tlenoterapii ciągłej i przerywanej. Autorzy udowodnili, że w grupie zwierząt, u których występowały 2,5 min przerwy stres oksydacyjny był mniej nasilony. W badaniu własnym okres oddychania 100% tlenem rozdzielono 5 minutowymi przerwami, podczas których chorzy oddychali powietrzem atmosferycznym, co mogło o wpłynąć na uzyskane wyniki.

Katalaza to kolejny enzym obrony antyoksydacyjnej człowieka, który zapobiega powstawaniu nadtlenu wodoru (H_2O_2), katalizując reakcję jego dysproporcjonowania do wody i tlenu cząsteczkowego [34]. H_2O_2 ze względu na działanie utleniające jest związkiem silnie toksycznym dla komórki. W niniejszej pracy wykazano istotne statystyczne obniżenie aktywności katalazy u wszystkich badanych analizowanych łącznie ($p < 0,01$) oraz w I grupie ($p < 0,05$). Nie wykazano znamienych statystycznych zmian aktywności tego enzymu w II grupie, zaobserwowano jedynie tendencję do obniżenia się jego aktywności. Wyniki uzyskane w tej pracy potwierdzają wcześniejsze doświadczenia Paprockiego i wsp. [21], którzy również zaobserwowali istotne statystycznie obniżenie aktywności CAT u osób poddanych HBO pierwszy raz. Benedetti i wsp. [26] z kolei wykazali, że aktywność tego enzymu wzrasta bezpośrednio po HBO. Zmiany prezentowane w badaniu własnym niniejszej pracy nie potwierdzają tego faktu, jedynie w grupie II wykazano nieistotną statystycznie tendencję do wzrostu aktywności CAT. Możliwe, że może to mieć związek z wiekiem osób badanych.

Liu i wsp. [27] sugerują, że obniżenie aktywności katalazy jest wynikiem reakcji metalu z kompleksem substrat-enzym, bądź blokadą aktywności katalitycznej tego enzymu. Inne badania równowagi oksydacyjno-antyoksydacyjnej u osób poddanych działaniu HBO zostały przeprowadzone u 14 zdrowych, niepalących osób w wieku 25-30 lat i nie wykazały znamienych statystycznie zmian aktywności CAT i SOD [28]. Wyniki tego doświadczenia nie potwierdzają uzyskanych w badaniu własnym wyników. Wyjaśnieniem może być farmakoterapia glikokortykosteroidowa, która była przyjmowana przez chorych przed oraz w trakcie trwania badań.

Peroksydaza glutationowa katalizuje reakcję H_2O_2 z glutationem i zapobiega tym samym reakcji Fentona [16]. Reakcja katalizowana przez GPx chroni zatem organizm przed szkodliwym działaniem RFT. Należy ponadto pamiętać, że GPx chroni przed procesem peroksydacji lipidów [16]. Peroksydaza glutationowa redukuje nadtlarki lipidów do alkoholu [16,17]. W badaniu własnym nie obserwowano istotnych statystycznie zmian aktywności GPx u wszystkich badanych analizowanych łącznie oraz w wyszczególnionych grupach. Wcześniejsze badania Paprockiego i wsp. [21] również nie wykazały istotnych statystycznie zmian aktywności tego enzymu u wszystkich osób badanych łącznie, natomiast wykazały istotny wzrost aktywności tego enzymu u osób poddanych wielokrotnie hiperbarii tlenowej. W innym doświadczeniu oceniano wpływ HBO na przebieg eksperymentalnie wywołanego ostrego zapalenia trzustki u szczurów laboratoryjnych.

Część szczurów poddano działaniu HBO, a pozostała nie leczono w taki sposób - grupa kontrolna. Po zakończeniu doświadczenia u wszystkich zwierząt w lizacie krwinek oznaczono aktywność SOD, GPx i stężenie MDA. U zwierząt poddanych działaniu HBO stwierdzono znamienne statystycznie obniżenie się stężenia MDA oraz wzrost aktywności GPx oraz SOD [29]. Kolejne badania u zwierząt mierzące z kolei aktywność GPx oraz poziom substancji reagujących z kwasem tiobarbiturowym (TBARS) wykonano u szczurów po przeprowadzonym przeszczepie skóry. 40 szczurów rasy *Sprague-Dawley* po przeszczepie skóry podzielono na dwie grupy.

Pierwszą grupę (28 szczurów) poddawano przez 28 dni codziennej, dwukrotnej hiperbarii tlenowej przy ciśnieniu 2 ATA. Drugą grupę (21 szczurów) tworzyły szczury niepoddawane tego typu zabiegom. Po przeprowadzonym doświadczeniu stwierdzono znamieny statystycznie wzrost aktywności markerów stresu oksydacyjnego w obu grupach, jednak w grupie poddanej terapii HBO wzrost ten był zdecydowanie większy w porównaniu z grupą kontrolną bez HBO. Zaobserwowany fakt nasilenia procesu peroksydacji lipidów w przeszczepionej skórze może budzić zdaniem autorów wątpliwość, co do bezpieczeństwa stosowania HBO u osób poddanych przeszczepowi tkanek [30]. Inny eksperyment wykazał generację RFT oraz nasilenie procesu peroksydacji lipidów w tkance nerwowej zwierząt doświadczalnych poddanych HBO.

Badanie przeprowadzono u szczurów *Sprague-Dawley* poddanych 100% tlenoterapii przez 2 godziny przy ciśnieniu rzędu: 1, 1,5, 2, 2,5 oraz 3 ATA. Po zakończonym doświadczeniu stwierdzono, że wraz ze wzrostem ciśnienia proporcjonalnie wzrasta stężenie TBARS oraz aktywność SOD w tkance nerwowej [23]. W kolejnym badaniu oceniano stężenie MDA u samców królików rasy *New Zealand* poddanych doświadczalnie całkowitemu niedokrwieniu mózgu. Część zwierząt po wywołaniu niedokrwienia została poddana działaniu HBO przez 75 min przy ciśnieniu 2,8 ATA, pozostałe króliki stanowiły grupę kontrolną. W mózgu zwierząt po HBO wykazano wyższe wartości MDA oraz GPx w porównaniu do grupy nie poddanej

działaniu tlenu hiperbarycznego. Korowe potencjały somatosensoryczne z kolei w grupie poddanych HBO były o 50% wyższe w porównaniu z grupą kontrolną [31]. Badanie to potwierdza korzystny wpływ HBO na funkcjonowanie mózgu po wystąpieniu niedokrwienia mózgu.

Uzyskane wyniki własne oraz analiza piśmiennictwa wskazują, że działanie HBO na procesy oksydacyjno-redukcyjne nie jest jednoznacznie wyjaśnione i może zależeć od wielu czynników.

WNIOSKI

1. Jednorazowa ekspozycja na działanie tlenu hiperbarycznego wpływa na równowagę oksydacyjno-antyoksydacyjną, o czym świadczy istotne statystycznie obniżenie się aktywności katalazy w erytrocytach.
2. Odpowiedź antyoksydacyjna na działanie HBO może zależeć do wieku osób badanych.

Autorzy dziękują Mazowieckiemu Centrum Terapii Hiperbarycznej i Leczenia Ran w Warszawie za stworzenie życzliwej atmosfery oraz idealnych warunków do przeprowadzenia eksperymentu.

BIBLIOGRAFIA

1. Szmaja Z. Nagła Głuchota. Clinical audiology – an outline, Poznań, AM Poznań 2003;
2. Byl M. Seventy-six cases of presumed sudden hearing loss occurring in 1973; prognosis and incidence. Laryngoscope 1977; 87: 817-825;
3. Byl M. Sudden hearing loss research clinic. Otolaryngol Clin. North. Am, 1978; 11:71-79;
4. Cummings C. Otolaryngology-Head and Neck Surgery. Mosby. St. Louis, Baltimore 1993; 2: 3103-3112;
5. Fetterman B, Saunders J, Luxford W. Prognosis and treatment of sudden sensorineural hearing loss. Am. J. Otol. 1996; 17: 529-536;
6. Mattox D, Simmons F. Natural history of sudden sensorineural hearing loss. Ann. Otol. 1977; 86: 463-480;
7. Paprocki J, Gackowska M, Pawłowska M, Woźniak A. Current application of hyperbaric oxygenation. Medycyna Rodzinna. 2016; 4: 217-222;
8. Bednarek J, Wysocki H, Sowiński J. Peripheral parameters of oxidative stress in patients with infiltrative Graves ophthalmopathy treated with corticosteroids. Immunol. Lett. 2004; 93: 227-232;
9. Narożny W. The effect of glyocorticosteroids and hyperbaric oxygen on the inner ear in clinical studies on a patient with sudden sensorineural hearing loss and in experimental studies on chickens following noise-induced hearing loss. Ann. Acad. Med. Gedan. 2002; 32: 5-172;
10. Bernstein T. The immunobiology of autoimmune diseases of the inner ear. Immunology of ear. Raven Press, New York 1987; 419-426;
11. Narożny W. Microcirculation disorders in the cochlea. Audiologia kliniczna. Mediton, Łódź 2005; 61-64;
12. Narożny W. Hyperbaric oxygenation in the pathology of the inner ear – facts and myths. Otorinolaryngologia 2006; 5(4): 153-16;
13. Narożny W. The effect of hyperbaric oxygen on the damage of hair cells of the inner ear in chickens subjected to an exposure to wide band noise. Otolaryngol. Pol. 2006; 60: 401-405;
14. Dröge W. Free radicals in the physiological control of cell function. Physiol. Rev. 2002; 82(1): 47-95;
15. Rutkowski R, Pancewicz S, Rutkowski K, Rutkowska J. The importance of reactive oxygen and nitrogen species in the pathogenesis of inflammation. Pol. Merk. Lek. 2007; 23: 136-131;
16. Bartosz G. The two faces of oxygen. PWN, Warsaw 2003;
17. Gałęcka E, Jackiewicz R, Mrowicka M, Florkowski A, Gałęcki P. Antioxidant enzymes-structure, properties, functions. Pol. Merk. Lek. 2008; 25(147): 266-269;
18. Przybyszewski W, Kasperczyk J, Stokłosa K, Bkhiyan A. DNA damage caused by lipid peroxidation products. Postępy Hig. Med. Dosw. 2005; 59: 75-81;
19. Jain K. Textbook of hyperbaric medicine. Wyd. Hogrefe & Huber Publishers, Göttingen, 2004;
20. Aksoy Y, Yaponoglu T, Aksoy H, Yildirim K. The effect of dehydroepiandrosterone on renal ischemia reperfusion-induced oxidative stress in Rabbit. Urological Res. 2004; 32(2): 93-96;
21. Paprocki J, Sutkowy P, Krzyżńska-Malinowska E, Piechocki J, Woźniak A. The indicators of oxidant-antioxidant balance in patients subjected to hyperbaric oxygenation. PHR. 2013; 2(43): 23-38;
22. Freiburger J, Coulombe K, Suliman H, Caraway M, Piantadosi C. Superoxide dismutase responds to hyperoxia in rat hippocampus. Undersea Hyperb. Med. 2004; 31(2): 2227-2232;
23. Oter S, Korkmaz A, Topal T, Ozcan O, Sadir S, Ozler R, Bilgic H. Correlation between Hyperbaric oxygen exposure pressure and oxidative parameters in rat lung brain and erythrocytes. Clin. Biochem. 2005; 38(8): 706-711;
24. Gałęcka E, Jackiewicz R, Mrowicka M, Florkowski A, Gałęcki P. Antioxidant enzymes-structure, properties, functions. Pol. Merk. Lek. 2008; 25(147): 266-269;
25. Harabin A, Braisted J, Flynn E. Response of antioxidant enzymes to intermittent and continuous hyperbaric oxygen. J. Appl. Physiol. 1990; 69(1): 328-335;
26. Benedetti S, Lamorgese A, Piersantelli M, Pagliarini S, Benvenuti F, Canestrari F. Oxidative stress and antioxidant status in patients undergoing prolonged exposure to hyperbaric oxygen. Clin. Biochem. 2004; 37(4): 312-317;
27. Liu J, Xie J, Chu Y, Sun C, Chen C, Wang Q. Combined effect of cypermethrin and copper on catalase activity in soil. J. Soils. Sediments 2008; 8(5): 327-332;
28. Speit G, Bonzheim I. Genotoxic and protective effects of hyperbaric oxygen in A549 lung cells. Mutagenesis 2003; 18(6): 545-548;
29. Yasar M, Yildiz S, Mas R, Dundar K, Yilirim A, Korkmaz A, Aka C, Kaymakcioglu N, Ozisik T, Sen D. The effect of hyperbaric oxygen treatment on oxidative stress in experimental acute necrotizing pancreatitis. Physiol. Res. 2003; 52: 111-116;
30. Lemarié R, Hosgood G, VanSteenhouse J. Effect of hyperbaric oxygen on lipid peroxidation in free skin grafts in rats. Am J. Vet. Res 1998; 59: 913-917;
31. Mink R, Dutka A. Hyperbaric oxygen after global cerebral ischaemia in rabbits does not promote brain lipid peroxidation. Crit. Cate. Med. 1995; 23(8): 1398-1404;
32. Buege J, Aust S. Microsomal lipid peroxidation. Methods Enzymol 1978; 52: 302-310;
33. Esterbauer H, Cheeseman K. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroksynonenal. Methods Enzymol. 1990; 186: 407-421;
34. Beers R, Sizer J. Spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. J. Biol. Chem. 1952; 195(1): 133-140.

Jarosław Paprocki

Katedra Biologii Medycznej,

Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy,

Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

jaroslawpaprocki@interia.pl

