

На правах рукописи

Яковлев Николай Викторович

**ВЛИЯНИЕ ГИПЕРБАРИЧЕСКОЙ ОКСИГЕНАЦИИ В КЛИНИЧЕСКИ
ПРИМЕНЯЕМЫХ РЕЖИМАХ НА ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ
ЛИПИДОВ И АНТИОКСИДАНТНУЮ АКТИВНОСТЬ ЛЕГКИХ
ЗДОРОВОГО ОРГАНИЗМА**

03.00.13 - физиология

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук**

0826-11

Курск - 2004



Работа выполнена в Государственном учреждении высшего и послевузовского профессионального образования «Воронежская государственная медицинская академия им Н.Н. Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель:

доктор биологических наук, профессор
Гулов Владимир Павлович

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор **Комиссаров Виктор Ильич**
кандидат медицинских наук **Афанасьев Юрий Петрович**

Ведущая организация:

Российский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «11» 06 2004 г. в «15» часов на заседании диссертационного совета Д 208.039.01 при Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Курский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации» по адресу: 305041, г. Курск, ул. К. Маркса, д. 3.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГОУ ВПО КГМУ Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Автореферат разослан «___» _____ 2004 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета

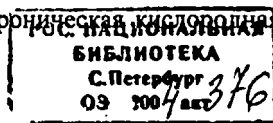


Калуцкий П.В.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. С 50-х годов двадцатого столетия кислород под повышенным давлением (гипербарическая оксигенация, ГБО) стал использоваться при различных заболеваниях, сопровождающихся общей гипоксией организма, таких как геморрагический шок, легочная, сердечная патология и др. (А.Н. Леонов, 1969, В.И. Бураковский, Л.А. Бокерия, 1974; Г.Л. Ратнер, 1974; В.Л. Лукич, 1975, Б.В. Петровский, С.Н. Ефун, 1976; I. Voerema, 1986; R.A. Thompson, 1974 и многие др.). Вместе с тем работы последних десятилетий демонстрируют широкое обращение к ГБО как методу терапии заболеваний, не сопровождающихся системной гипоксией, и у здоровых людей в связи с их профессиональной деятельностью. Из семидесяти шести нозологических форм, при которых рекомендуется применение ГБО в соответствии с Приказом Министерства здравоохранения СССР №977 (от 4.11.1975 г.), двадцать пять не сопровождаются системной гипоксией организма и локальной гипоксией легких. ГБО используется при лечении глазных, ЛОР, желудочно-кишечных, кожных, стоматологических заболеваний (О. Д. Кузьминов, 1980, 2001; В.И. Панин, 2003; Г.Ф. Воробьев, 2002; Ю.Е. Кондратенко, 1999; Л.И. Урлина, 1975). Кроме того, ГБО используется применительно и к здоровому организму для реабилитации военных летчиков (Н.А. Кудряшова, 1997, 2003), а также как метод повышения устойчивости организма к декомпрессионной болезни у подводников (В.И. Кулешов, 1997; А.А. Мясников, 1997).

В адаптационно-метаболической теории (А.Н. Леонов, 1969-2003) гипербарический кислород выступает регулятором степени развития и соотношения приспособительных, компенсаторных и патологических реакций организма, обладая мощным саногенетическим потенциалом. Вместе с тем кислород при определенных параметрах оксигенации может оказывать токсический эффект на организм (А.Г. Жиронкин, 1972; Г.Л. Зальцман, А.И. Селивра, 1975, А.А. Кричевская, А.И. Лукаш, 1977; Р. Вег, 1978 и др.). При длительном постоянном и дискретном многократном воздействии сравнительно небольших давлений кислорода (до 3 ата) может развиться хроническая кислородная сика -



ция, при которой наиболее чувствительным к гипероксии органом являются легкие, где токсическое действие кислорода реализуется формированием ателектазов, пневмонии, отека легких (А.Г. Жиронкин, 1972; Н.М. Харченко и др., 1986, К.К. Зайцева и др., 1987, L. Smith, 1899 и др.).

Известно, что одним из первичных механизмов токсического действия кислорода является генерация агрессивных свободных радикалов с нарушением мембранной проницаемости клеток и формированием окислительного стресса (Ю.А. Владимиров, 1972; Б.В. Петровский, 1972; С.Н. Ефуни, 1976, Е.Б. Меньшикова, 1994, A. Bast, 1989, H. Sies, 1991). При этом ведущей стресс-лимитирующей системой является антиоксидантная система (Е.Б. Меньшикова, 1993, 1994, Н.К. Зенков, 1993). В проанализированной нами литературе встречаются единичные работы по изучению действия ГБО на метаболизм легких в режимах, близких к его курсовому применению в клинической практике при нелегочной патологии. Таким образом, вопрос о возможности токсического действия многократных сеансов ГБО на легкие, находящиеся перед оксигенацией в условии нормального кислородного режима, остается открытым. Не лишено оснований и предположение о возможности донозологических эффектов гипероксии, которые впоследствии могут реализоваться в виде пульмосклеротических процессов.

Цель исследования заключается в выявлении динамики развития окислительного стресса по взаимоотношению в легких процессов ПОЛ и антиоксидантных реакций при курсовых режимах ГБО с оценкой качества адаптации легких к хронической гипероксии.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. Изучить динамику процессов перекисного окисления липидов - ПОЛ (по содержанию малонового диальдегида — МДА) в ткани легких, плазме протекающей и оттекающей от них крови при ГБО (2 ата - 50 мин) на разных этапах оксигенации здоровых животных в процессе нарастания гипероксической нагрузки (1-18 сеансов).

2. Исследовать динамику активности антиоксидантных ферментов (каталаза, супероксиддисмутаза - СОД) и содержание метаболитов (мочевина, мочевая кислота) в легких, притекающей и оттекающей от них крови при ГБО на разных этапах оксигенации здоровых животных в процессе нарастания гипероксической нагрузки (1-18 сеансов).

3. Установить фазность развития проявлений окислительного стресса в легких в процессе нарастания числа сеансов ГБО (1-18 сеансов) по соотношению про- и антиоксидантных реакций и содержанию гемоглобина в плазме крови и ткани легких.

4. Выявить последствие курсов с различным числом сеансов ГБО по динамике процессов ПОЛ и активности антиоксидантных реагентов (СОД и мочевины) в ткани легких.

Научная новизна. Впервые исследованы механизмы многократного действия ГБО в клинических режимах на легкие здорового организма с анализом взаимосвязи показателей прооксидантных (процессы ПОЛ) и антиоксидантных реакций. Установлено, что проявления окислительного стресса в легких на протяжении 18 ежедневных сеансов имели фазный характер: две фазы компенсации (после 1-го и 10-го сеанса) чередовались с двумя фазами декомпенсации (после 5-го и 18-го сеансов). Впервые проведено исследование последствия ГБО на оксидантные и антиоксидантные реакции в легких как одного сеанса, так и курсов из 5-ти и 10-ти сеансов и выявлено, что процессы ПОЛ (по МДА), несмотря на активацию антиоксидантных реагентов, не нормализуются в течение 5-ти - 8-ми суток, и, следовательно, сохраняется состояние окислительного стресса.

Теоретическое значение работы. Теоретическое значение работы заключается в расширении представлений об адаптации здорового организма к гипероксической нагрузке. В ней показано, что к 10-му сеансу гипербарический кислород вызывал наивысшую степень активации антиоксидантных реакций и адаптации организма к гипероксии. С учетом феномена перекрестной адаптации при этом создаются перспективы использования ГБО в этом диапазоне при

различных состояниях человека как в норме, так и при патологии. Напротив, к 18-му сеансу гипербарический кислород вызывал торможение активированных перед этим антиоксидантных реакций и вторичное повышение процессов ПОЛ, что свидетельствует об дазадаптирующем действии кислорода под повышенным давлением и снижении резистентности к гипероксии. Полученные результаты могут быть использованы для дальнейшего развития адаптационно-метаболической теории гипербарической оксигенации и концепции адаптационной медицины.

Практическая значимость работы связана с тем, что она на основе выявленного к 10-му сеансу мощного адапттогенного действия гипербарического кислорода (2 ата - 50 мин), обосновывает использование его у здоровых и у больных людей как фактор адаптационной профилактики и адаптационной терапии. Напротив, выявленное к 18-му сеансу ГБО резкое снижение резистентности легких к окислительному стрессу обосновывает более дифференцированное отношение к назначению длительных курсов ГБО при заболеваниях без выраженной гипоксии организма или локальной гипоксии легких. Наряду с этим выраженное последствие одного, 5,10 сеансов ГБО в легких, характеризующееся сохранением проявления окислительного стресса в легких в течение 5-8 суток после заключительного сеанса ГБО, ставит вопрос о целесообразности антиоксидантной терапии после применения ГБО.

Внедрение полученных результатов. Основные положения работы внедрены в лечебную работу Межклинического отделения гипербарической оксигенации Московской медицинской академии им. И.М. Сеченова; в учебную работу кафедры военной токсикологии и медицинской защиты Государственного института усовершенствования врачей Министерства Обороны, кафедры военной и экстремальной медицины Воронежской государственной медицинской академии им. Н.Н. Бурденко.

Работа выполнена в соответствии с программно-целевым исследованием Воронежской государственной медицинской академии им. Н.Н. Бурденко «Общие закономерности и фундаментальные механизмы адаптации биологических

систем при гипо- и гипероксии» (руководитель - Заслуженный деятель науки РФ, профессор А.Н. Леонов) и проблемной комиссии «Гипербарическая оксигенация» (председатель - Лауреат Государственной премии СССР, профессор В.Л. Лукич) Научного совета по хирургии (председатель - академик РАН и РАМН Б.В. Петровский).

Положения, выносимые на защиту:

1. Динамика взаимоотношений процессов ПОЛ (по МДА) и антиоксидантных реакций легких характеризуется чередованием фаз компенсации окислительного стресса (после 1-го и 10-го сеансов ГБО) и декомпенсации - после 5-го и 18-го сеансов ГБО (2 ата - 50 мин), последнюю из которых можно рассматривать как предтоксическую стадию хронического гипероксического воздействия.

2. В течение 18-ти дневного курса ГБО (2 ата, 50 мин, ежедневно) в проявлениях окислительного стресса в легких к 10 сеансу формируется период максимальной выраженности реакций антиоксидантной защиты и адаптации к гипероксии, а к 18 сеансу - период торможения активированных перед этим реакций антиоксидантной защиты и снижения адаптации и резистентности к гипероксии.

3. Как один, так и многократные (5 и 10) ежедневные сеансы ГБО оказывают выраженное последствие на процессы ПОЛ и реакции антиоксидантной защиты в легких в течение 5-8 суток, что свидетельствует о сохранении в организме состояния компенсированного или некомпенсированного окислительного стресса.

Апробация работы. Основные положения работы доложены и обсуждены на следующих научных форумах: XII научно-практическая конференция по космической биологии и авиакосмической медицине (Москва, 2002); XXI Международный симпозиум «Эколого-физиологические проблемы адаптации» (Москва, 2003); V Всеармейская научно-практическая конференция «Баротерапия в комплексном лечении раненых, пораженных и больных» (Санкт-Петербург, 2003); III Всероссийская конференция с международным участием «Механизмы функционирования висцеральных систем» (Санкт-Петербург, 2003); VII Меж-

дународная конференция «Высокое давление в биологии и медицине» (Москва, 2003); Научная конференция молодых ученых ВГМА (Воронеж, 2003).

По материалам диссертации опубликовано 8 научных работ.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 129 страницах машинописного текста, состоит из введения, литературного обзора, описания объектов и методов исследования, главы результатов исследований, их обсуждения, заключения и выводов. Диссертация иллюстрирована 7 таблицами и 8 рисунками. Указатель литературы содержит 270 источников, из них **152** отечественных и 118 зарубежных.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Объекты и методы исследования

Исследование выполнено на 96 белых беспородных половозрелых здоровых крысах. Объектом исследования служили легкие, притекающая к ним и оттекающая от них кровь. Работа выполнена в 8 сериях опытов: 1-я серия - контроль (здоровые, неоксигенированные животные), 2-я — животные после 1 сеанса ГБО, 3-я - после 5 сеансов, 4-я - после 10 сеансов, 5-я - после 18 сеансов, 6-я - через 5 суток после 1 сеанса ГБО, 7-я - через 5 суток после 5 сеансов **ГБО**, 8-я - через 8 суток после 10 сеансов ГБО. Гипербарическую оксигенацию проводили в барокамере медицинским кислородом в режиме 2 ата в течение 50 мин изопрессии ежедневно 1 сеанс в сутки.

В ткани легкого, притекающей и оттекающей крови исследовали следующие показатели. Малоновый диальдегид в ткани легкого и плазме крови определяли спектрофотометрическим методом (Л.И. Андреева с соавт., 1988). Параметр выбран как маркер «окислительного стресса», индуцируемого **ГБО**. В ферментном звене антиоксидантной системы определяли СОД в ткани легкого и плазме крови хемилюминесцентным методом (А.Н. Пашков, А.Ю. Романов, 1990) и каталазу в ткани легкого и эритроцитах крови спектрофотометрическим методом (М.А. Королук с соавт., 1988). Антиоксидантные метаболиты - мочевины и мочевую кислоту стандартным колориметрическим методам с исполь-

зованием реактивов фирм «Лахема» (Чехия) и «Vital Diagnostics» (Санкт-Петербург, Россия) соответственно. Внеэритроцитарный гемоглобин (ВЭГ) в плазме крови и ткани легкого как маркер нарушения мембраны эритроцитов и мембран диффузионного аэрогематического барьера определяли колориметрическим методом Т.Б. Дарвило, Н.К. Бянка (Л.И. Идельсон, М.Д. Бриллиант, 1970).

Примечание: исследование активности СОД проведено на базе кафедры медицинской биологии и генетики с курсом экологии (зав. - Заслуженный работник высшей школы, профессор А.Н. Пашков) при участии асс. Н.В. Князьковой, за что выражаем им искреннюю благодарность.

Результаты статистических исследований (независимые выборки) обрабатывали с использованием параметрического t-критерия Стьюдента с предварительной проверкой гипотезы о нормальности выборочного распределения. Статистический анализ проводили с помощью персонального компьютера и с использованием пакета статистических программ «Statistica 5.5» и «Microsoft Excel XP».

Полученные результаты и их обсуждение

Действие одного сеанса **ГБО**. Однократная оксигенация не сопровождалась повышением процессов ПОЛ (по уровню МДА) в легких (рис. 1), а также в плазме притекающей и оттекающей от них крови. Об отсутствии выраженных нарушений мембраны эритроцитов и мембран диффузионного аэрогематического барьера в легких свидетельствует и нормальное содержание внеэритроцитарного гемоглобина в плазме крови, а также отсутствие его нарастания и в легочной ткани по сравнению с контролем. Блокаду перекисного окисления липидов мембран у животных этой группы можно объяснить резко выраженной стимуляцией (на 78-128%) в легких всех изученных антиоксидантных реагентов, как ферментных (СОД и каталаза), так и метаболитов (мочевина и мочевая кислота) (рис. 1). В крови была увеличена активность СОД и концентрация мочевой кислоты (рис. 2 и 3).

Выявленное по результатам работы взаимодействие антиоксидантных и оксидантных реакций в легких животных после однократного сеанса ГБО позволяет считать, что приспособительные (антиоксидантные) реакции при этом резко преобладают над патологическими (прооксидантными по процессам ПОЛ) реакциями, практически блокируя их. Следовательно, окислительный стресс по его проявлениям в легких находится в фазе компенсации. С учетом анализа результатов последующих серий опытов проявление окислительного стресса в легких при однократном сеансе ГБО можно обозначить как первичную фазу компенсации.

Действие пяти сеансов ГБО существенно повышало интенсивность процессов ПОЛ в легких (рис. 1) - количество МДА увеличивалось как по сравнению с контролем (на 58%), так и с однократным сеансом ГБО (на 92%). Эта активация ПОЛ осуществлялась на фоне снижения по сравнению с однократным сеансом ГБО активности антиоксидантных ферментов и сохранении повышенной активности метаболитных антиоксидантов. В большей степени происходило уменьшение активности СОД, которая была достоверно ниже по сравнению с однократными сеансами ГБО и не отличалась от контрольной группы животных. Активность каталазы по абсолютной величине занимала промежуточное положение сравнительно с контрольными животными и животными после однократной оксигенации, достоверно не отличаясь от них. Снижение ферментной антиоксидантной защиты в легких у животных после 5-ти ежедневных сеансов ГБО можно объяснить тем, что исходно предсуществующие (до начала оксигенации) в тканях легкого антиоксидантные ферменты расходуются в условиях гипероксии (уменьшается их период полураспада), а активация их образования *de novo* через экспрессию соответствующих генов еще не достигла достаточной степени из-за небольшой продолжительности курса ГБО. Реакция метаболитных антиоксидантов (мочевины и мочевой кислоты) в этих условиях оказалась более устойчивой к гипероксической нагрузке - их повышенная концентрация достоверно не снижалась по сравнению с животными после однократного сеанса ГБО.

В притекающей и оттекающей от легких крови прооксидантные и антиоксидантные реакции имели отличие по сравнению с легкими. Процессы ПОЛ (по МДА) не увеличивались по сравнению с контролем, что было ассоциировано с повышением активности СОД и концентрации мочевины (рис. 2 и 3). Количество гемоглобина не было увеличено ни в плазме крови, ни в легочной ткани, что свидетельствует об отсутствии грубых структурных изменений мембран эритроцитов и аэрогематического барьера.

Анализ взаимодействия прооксидантных и антиоксидантных реакций в легких животных после курса из пяти ежедневных сеансов ГБО по сравнению с однократным сеансом позволяет считать, что степень компенсации окислительного стресса (и резистентность к нему) снижается, и обозначить это состояние как фазу первичной декомпенсации.

Действие 10 сеансов ГБО приводят к резкому снижению ПОЛ (по МДА) в легких по сравнению с 5-ти дневным курсом ГБО (на 65%) до уровня контрольных животных (рис. 1). Это согласуется с резкой активацией антиоксидантных реакций. Активность всех изученных реагентов (СОД каталазы, мочевины и мочевой кислоты) была увеличена по сравнению с контролем, а ферментных антиоксидантов (СОД и каталаза) - и по сравнению с предшествующим 5-ти дневным курсом ГБО. Аналогичная динамика по сравнению с контролем развивалась в притекающей и оттекающей от легких крови, за исключением увеличения мочевины (рис. 2 и 3). Отсутствие увеличения гемоглобина в плазме крови и ткани легких свидетельствовало против резкого повышения проницаемости мембран эритроцитов и аэрогематического барьера в условиях этой гипероксической нагрузки.

Оценивая эти результаты в целом, можно отметить сходство динамики и взаимодействия прооксидантных и антиоксидантных реакций, а также состояние окислительного стресса у животных после однократного и 10-ти кратных сеансов ГБО. Это позволяет характеризовать состояние в легких у животных данной серии опытов как компенсированный окислительный стресс (вторичную фазу компенсации). То, что эта компенсация развивается после первичной

фазы декомпенсации у животных с 5-кратными сеансами ГБО, свидетельствует о том, что между пятым и десятыми сеансами ГБО происходит эффективная адаптация легких здоровых животных к нарастающей гипероксической нагрузке.

Механизм вторичной фазы компенсации можно связать с действием гипербарического кислорода на геном клетки. В этом аспекте интересны результаты работы Т.П. Шкурат (2000), которая впервые показала, что уровень ПОЛ в клетках костного мозга коррелирует с цитогенетическим эффектом ГБО. Полученные в нашей работе результаты косвенно показывают, что формирование адаптации к гипероксической нагрузке сопровождается экспрессией генов, кодирующих образование СОД, каталазы и ферментов синтеза мочевины, мочевой кислоты. Косвенным свидетельством активации ГБО генетического аппарата клеток легких являются и данные, которые показали увеличение синтеза РНК в легких крыс при ГБО острой кровопотери (И.М. Тыртышников, 1971).

Действие 18 сеансов ГБО привело к вторичному резкому повышению процессов ПОЛ (по МДА) в легких как по сравнению с контролем, так и с предшествующей серией опытов (10 сеансов ГБО). При этом увеличение процессов ПОЛ происходило в условиях выраженного ингибирования активности антиоксидантных реагентов (рис. 1). Хотя активность некоторых из них оставалась выше контроля (каталаза и мочевая кислота), доминировало снижение их активности по сравнению со всеми предшествующими вариантами гипероксической нагрузки: однократным сеансом ГБО (снижение СОД, мочевины и мочевой кислоты), 5-кратными сеансами ГБО (мочевины и мочевой кислоты), 10-кратными сеансами ГБО (СОД и каталазы).

Взаимосвязь прооксидантных и антиоксидантных реакций в легких у животных после 18 сеанса ГБО по сравнению с животными предшествующих серий опытов свидетельствует о развитии у них вторичной декомпенсаторной фазы - здесь четко выявляется недостаточность генетических механизмов компенсации окислительного стресса, связанных с увеличением синтеза в клетках антиоксидантных ферментов и ферментов синтеза антиоксидантных метаболитов.

тов. Вместе с тем, сохранение контрольного уровня гемоглобина в плазме крови и в легочной ткани свидетельствует об отсутствии резкой деструкции мембран эритроцитов и аэрогематического легочного барьера.

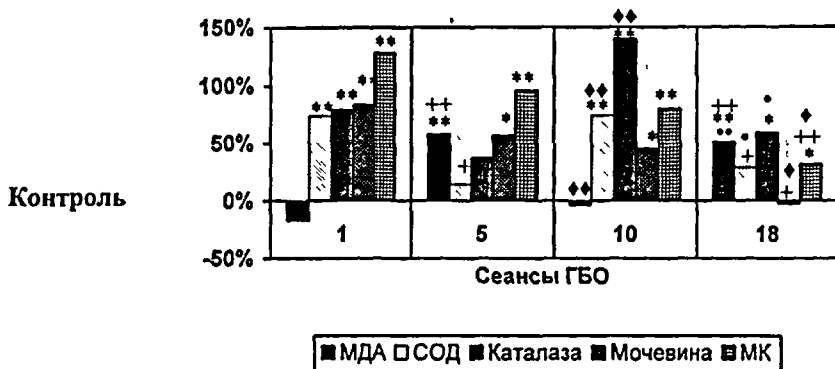


Рис. 1. Динамика изменения содержания малонового диальдегида, активности антиоксидантных ферментов и концентрации антиоксидантных метаболитов в легких при курсовом применении ГБО.

Примечание: МК - мочевая кислота; * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ - различие результатов с контролем; + $p < 0,05$, ++ $p < 0,01$ - с 1 сеансом; ♦ $p < 0,05$, ♦♦ $p < 0,01$ - с 5 сеансами; • $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ - с 10 сеансами.

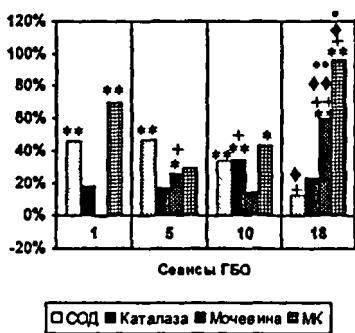


Рис. 2. Динамика изменения активности антиоксидантных ферментов и концентрации антиоксидантных метаболитов в оттекающей от легких крови. Контроль - 0%.

Примечание: те же, что на рис. 1.

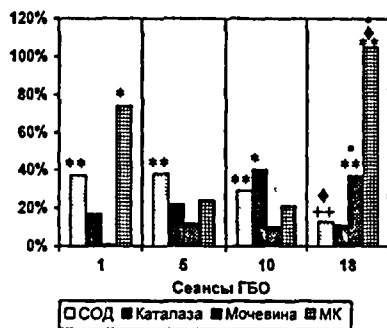


Рис. 3. Динамика изменения активности антиоксидантных ферментов и концентрации антиоксидантных метаболитов в притекающей к легким крови. Контроль - 0%.

Примечание: те же, что на рис. 1

Подводя итог обсуждению взаимодействия окислительных и антиоксидантных реакций в легких при окислительном стрессе организма, вызванным применением курсовых ежедневных сеансов ГБО, можно отметить, что динамика этих реакций в процессе нарастания гипероксической нагрузки формировала четыре последовательные фазы: первичная компенсация (один сеанс ГБО) → первичная декомпенсация (5 сеансов ГБО) → вторичная компенсация (10 сеансов ГБО) → вторичная декомпенсация (18 сеансов ГБО). При этом соотношение прооксидантных и антиоксидантных реакций свидетельствовало о развивающемся ингибировании антиоксидантной системы на высоте гипероксической нагрузки (18 сеансов), что характеризует формирование стадии истощения окислительного стресс-синдрома, а, следовательно, и снижение резистентности к стрессорному фактору - гипербарическому кислороду.

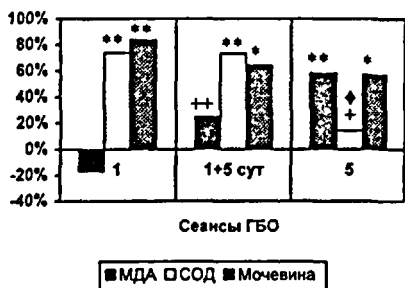


Рис. 4. Динамика изменения содержания МДА, СОД, мочевины на 5-е сутки после 1 сеанса ГБО в сравнении с однократным и 5-кратным воздействием ГБО и контрольным уровнем, который принят за 0%.

Примечание: ** $p < 0,01$, * $p < 0,05$ различие результатов по сравнению с контролем; ++ $p < 0,01$, + $p < 0,05$ - с 1 сеансом ГБО; ♦ $p < 0,05$ - с 5-ми сутками после 1 сеанса ГБО.

Последствие однократного сеанса ГБО. Через 5 суток после однократного сеанса ГБО состояние окислительного стресса в организме животных сохранялось по сравнению с состоянием сразу после однократного сеанса ГБО (рис. 4). Об этом свидетельствует увеличение содержания МДА, а также напряжение реакции антиоксидантной защиты - активация СОД и увеличение мочевины, по сравнению с контролем.

В механизмах последствия однократного сеанса ГБО, кроме

активации предсуществующих антиоксидантных ферментов и ферментов синтеза антиоксидантных метаболитов и освобождение их из связанных форм, можно предположить и генетические эффекты ГБО. Известно, что активация

ранних генов (универсальных регуляторов генома клеток) начинается в течение 10 мин действия фактора и достигает максимума через 40 мин (П.Е. Умрюхин, 2000), что соответствует времени однократной оксигенации. Показано также, что при действии ГБО (2,5 ата - в течение 30-90 мин) на здоровых людей в лимфоцитах их крови уже через 30 мин четко проявляется цитогенетический эффект гипероксии (Т.П. Шкурат, 2000).

При сравнении животных через 5 суток после однократного сеанса ГБО с животными, которые в течение 5 суток подвергались ежедневной оксигенации, видно (рис. 4), что пятикратная оксигенация ухудшала состояние окислительного стресса в легких - увеличивались процессы ПОЛ (по МДА) по сравнению с контролем и снижалась активность СОД по сравнению с животными сразу и через 5 суток после однократной оксигенации. Эти данные свидетельствуют, что первые пять ежедневных сеансов не повышают резистентность к окислительному стрессу, и ставят вопрос перед клиницистами и экспериментаторами о целесообразности увеличения временных промежутков между сеансами ГБО в начале ее курсового применения.

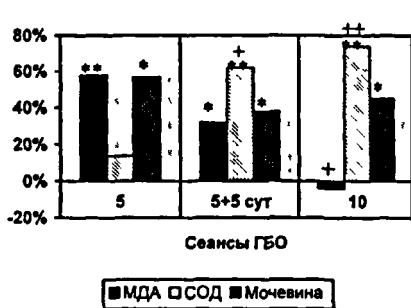


Рис. 5. Динамика изменения содержания МДА, СОД, мочевины на 5-е сутки после 5 сеансов ГБО в сравнении 5 и 10-кратными сеансами ГБО и контрольным уровнем, который принят за 0%.

Примечание: * $p < 0,01$, * $p < 0,05$ различие результатов по сравнению с контролем; ++ $p < 0,01$, ++ $p < 0,05$ - с 5 сеансами ГБО.

Последствие 5 сеансов ГБО. Начало последствия (состояние сразу после 5-ти сеансов ГБО) характеризовалось увеличением процессов ПОЛ и снижением активности СОД (рис. 5). Если в последующие 5 суток не применять ГБО, то обнаруживалась тенденция к снижению процессов ПОЛ (по МДА) и увеличение активности СОД как по сравнению с окончанием 5-кратного курса сеансов ГБО, так и по отношению к

контролю. Это свидетельствует о уменьшении степени, но не ликвидации окислительного стресса в периоде последствия 5 сеансов ГБО. Однако если после 5-го сеанса продолжать гипероксическое воздействие до 10 сеансов ГБО, то можно отметить более сильную активацию антиокислительных реакций (высокую активность СОД и концентрацию мочевины), приводящую к нормализации процессов ПОЛ в легких. Таким образом, в промежутке между 5 и 10 сеансами ГБО формируется высокая резистентность к окислительному стрессу.

Последствие десяти сеансов ГБО исследовалось через 8 суток после 10-го сеанса ГБО (рис. 6). При этом по сравнению с состоянием сразу после 10-кратных сеансов ГБО имела тенденция к снижению уровня мочевины и увеличивались процессы ПОЛ (по МДА); следовательно, компенсированный окис-

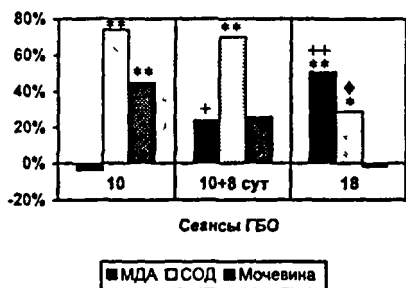


Рис. 6. Динамика изменения содержания МДА, СОД, мочевины на 8-е сутки после 10 сеансов ГБО в сравнении с 10 и 18-кратными сеансами и контролем, который принят за 0 %.

Примечание: * $p < 0,01$, * $p < 0,05$ - различие результатов по сравнению с контролем; ++ $p < 0,01$, + $p < 0,05$ - с 10 сеансами ГБО; ♦ $p < 0,05$ - с 8-ми сутками после 10 сеансов

лительный стресс превращался в декомпенсированный. Однако, если после 10 сеансов ГБО продолжать оксигенацию до 18 сеансов ГБО, то декомпенсация окислительного стресса увеличивалась - повышались процессы ПОЛ (по МДА), снижалась активность СОД, а концентрация мочевины уменьшалась по сравнению с непосредственным действием 10 сеансов ГБО. Это свидетельствует об отрицательном действии ежедневной гипероксической нагрузки в диапазоне 10-18

сеансов, и ставят вопрос об изменении параметров оксигенации (интервалов между сеансами, давления и продолжительности сеансов) при необходимости применения курсов с числом сеансов, превосходящих десять. Таким образом, анализ последствия одно- и многократных ежедневных сеансов ГБО показывает, что состояние окислительного стресса в организме (по показателям про- и

антиоксидантных реакций легких) сохраняется в течение 5-8 суток после курсов ГБО, при этом уровень компенсации стресса по сравнению с последним сеансом может как улучшаться (после 5 сеансов ГБО), так и ухудшаться (после одного и 10 сеансов ГБО).

Подводя итог анализу результатов работы в целом, можно отметить, что применяемые в профессиональной и медицинской практике курсовые режимы ГБО формируют в легких здоровых животных два главных феномена в развитии окислительного стресса. Первый формируется к 10-му сеансу ГБО и характеризуется наивысшей степенью активации адаптационных (антиокислительных) реакций, полностью блокирующих повышение процессов ПОЛ (по МДА). С учетом неспецифичности большинства адаптивных реакций и существования

явления перекрестной адаптации этот эффект ГБО можно использовать у здоровых людей в связи с их профессиональной деятельностью (адаптационная профилактика) и при лечении различных заболеваний, в том числе и без выраженной гипоксии организма (адаптационная терапия). Вместе с тем изучение последствий 10 сеансов ГБО показало, что через 8 суток после курса в легких сохраняется состояние окислительного стресса (активированы антиоксидантные реакции), что ставит вопрос о целесообразности применения антиоксидантной терапии в этом периоде. Полученные данные могут быть использованы для дальнейшей разработки адаптационно-метаболической теории ГБО А.Н. Леонова (1969-2003) и теории адаптационной медицины (Ф.З. Меерсон, 1993).

Второй феномен формируется к 18-му сеансу ГБО и характеризуется торможением активированных при гипероксии антиоксидантных реакций и вторичным повышением процессов ПОЛ. Этот этап при курсовом применении ГБО свидетельствует о развитии стадии истощения окислительного стресса и соответствует пограничной области для физиологии и патологии - состоянию предболезни, что требует более дифференцированного подхода к применению курсов ГБО, включающих 18 и более сеансов.

Результаты, полученные в данной работе, свидетельствуют об актуальности утверждения K.W. Donald (1968), высказанное им почти сорок лет назад:

«Пока очевидно, что кислород под высоким давлением может спасти жизнь людей, которые прежде не могли быть спасены. Тем не менее, необходимо определить размеры опасности, чтобы всякий раз можно было взвешивать целесообразность применения этого метода по сравнению с быстро улучшающейся и развивающейся техникой, позволяющей спасать жизнь людей при нормальном давлении».

ВЫВОДЫ

1. Гипербарическая оксигенация в режиме 2 ата - 50 мин, проводимая у здоровых крыс в виде одного и курсов из 5, 10 и 18 ежедневных сеансов, вызывала в легких прооксидантные (продукция МДА) и антиоксидантные реакции (усиление активности СОД, каталазы, увеличение концентрации мочевины и мочевой кислоты), динамика и взаимодействие которых имели фазное развитие в процессе нарастания гипероксической нагрузки.

2. Однократный сеанс ГБО активировал в легких стресс-лимитирующую антиоксидантную систему (увеличивал активность СОД на 74%, каталазы на 79%, содержание мочевины на 83% и мочевой кислоты на 128%), что препятствовало повышению уровня индикатора пероксидации липидов - МДА и соответствовало фазе компенсации окислительного стресса.

3. При действии курса из 5 сеансов ГБО активация антиоксидантов в легких была менее выражена (содержание мочевины увеличивалось на 57%, мочевой кислоты на 96%, активность ферментов достоверно не изменялась), что сочеталось с увеличением уровня МДА на 58% и соответствовало некомпенсированному окислительному стрессу.

4. При действии 10 сеансов ГБО в легких происходила активация как антиоксидантных ферментов (СОД на 74%, каталазы на 140%), так и метаболитов (повышение содержания мочевины на 45% и мочевой кислоты на 80%), что сопровождалось нормализацией повышенного на предыдущем этапе уровня МДА и соответствовало компенсированному окислительному стрессу.

5. Действие 18 сеансов ГБО оказывало в легких тормозящее влияние на активированные на предшествующих этапах гипероксической нагрузки антиоксиданты (СОД, каталазу, мочевины и мочевую кислоту), уровень которых, кроме мочевой кислоты, не отличался от контроля. При этом происходило вторичное повышение содержания МДА (на 51%), что соответствовало декомпенсированному окислительному стрессу.

6. Действие 1-18 сеансов ГБО активировало в притекающей к легким и оттекающей от них крови антиоксидантную систему, что препятствовало нарастанию концентрации МДА. Степень активации реагентов антиоксидантной системы находилась в зависимости от гипероксической нагрузки: 1 сеанс ГБО приводил к активации СОД и мочевой кислоты, 5 сеансов ГБО - СОД, в оттекающей крови мочевины, 10 сеансов ГБО - СОД каталазы и в оттекающей крови мочевой кислоты, 18 сеансов - мочевины и мочевой кислоты.

7. Исследование МДА, СОД и мочевины через 5 суток после однократного и 5-кратных сеансов, а также через 8 суток после курса из 10 сеансов ГБО выявляло её длительное последствие: во всех группах не было полной ликвидации проявлений окислительного стресса в легких, о чем свидетельствовала повышение активности СОД (во всех группах последствия), концентрации мочевины (последствие 1 и 5 сеансов) и увеличение МДА (последствия 5 сеансов).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Учитывая мощную стимуляцию реакций антиоксидантной защиты в промежутке между 5 и 10-м ежедневными сеансами ГБО (2 ата, 50 мин), этот курсовой режим может быть рекомендован у больных при заболеваниях, в патогенезе которых свободнорадикальные процессы играют важную роль. Он может быть рекомендован профилактически и здоровым людям, если их профессиональная деятельность будет сопровождаться возникновением резко выраженного окислительного стресса.

2. Снижение резистентности легких к гипероксии в промежутке между 10 и 18-м сеансами ГБО обосновывает необходимость более дифференцированных показаний к применению курсов с 18 и более сеансов, изменения параметров оксигенации и назначения антиоксидантной терапии.

СПИСОК РАБОТ ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Яковлев Н.В. Содержание малонового диальдегида и мочевины в легких здорового организма при различных режимах гипербарической оксигенации / Н.В. Яковлев, В.П. Гулов, А.В. Карпова // Материалы XII научно-практической конференции по космической биологии и авиакосмической медицине. - М., 2002. - С. 365-366.

2. Яковлев Н.В. Перекисное окисление липидов и антиоксидантные метаболиты легких здорового организма при многократных сеансах гипербарической оксигенации / Н.В. Яковлев // Бюллетень гипербарической биологии и медицины - 2002. - Т. 10. № 1-4. - С. 150-151.

3. Яковлев Н.В. Влияние одно- и многократных режимов гипербарической оксигенации на содержание малонового диальдегида, супероксиддисмутазы и каталазы в легких здорового организма / Н.В. Яковлев, В.П. Гулов // Баротерапия в комплексном лечении и реабилитации раненых, больных и пораженных: Материалы V Всеармейской научно-практической конференции - СПб, 2003. - С. 86.

4. Reactions of Lungs and brain of healthy organism on oxidative stress caused by applications of a hyperbaric oxygenation in clinically used conditions / V.N. Yakovlev, Y.V. Shepeleva, N.V. Yakovlev, V.P. Gulov // VIII International meeting on high pressure biology: Abstract. - Moscow, Russia, 2003. - P. 77-78.

5. Влияние курсовых режимов гипербарической оксигенации на перекисное окисление липидов и компоненты антиоксидантной системы в легких и головном мозге здоровых животных / Я.В. Шепелева, Н.В. Яковлев, В.П. Гулов, В.Н. Яковлев. - Эколого-физиологические проблемы адаптации: Материалы XXI международного симпозиума. - М.: РУДН, 2003. - С. 632-633.

6. Шепелева Я.В. Влияние многократных экспозиций гипербарического кислорода на здоровый организм в эксперименте / Я.В. Шепелева, Н.В. Яковлев // Механизмы функционирования висцеральных систем: III Всероссийская конференция с международным участием. - СПб, 2003. - С. 358-359.

7. Влияние однократных и пятикратных сеансов гипербарической оксигенации на процессы перекисного окисления липидов и антиоксидантную активность легких здорового организма / Н.В. Яковлев, А.В. Карпова, В.П. Гулов, Н.В. Князькова // ЦНИЛ - вчера, сегодня, завтра. - Воронеж, ВГМА. - 2003. - С. 232-234.

8. Влияние различной гипероксической нагрузки на процессы перекисного окисления липидов и состояние ферментативного и метаболического звеньев антиоксидантной защиты легких здорового организма / Н.В. Яковлев, А.В. Карпова, В.П. Гулов, С.В. Пурдяев // Бюллетень гипербарической биологии и медицины-2003:-Т. И, № 1-4.-С.103-105.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

Ата	- абсолютная атмосфера
ВЭГ	- внеэритроцитарный гемоглобин
ГБО	- гипербарическая оксигенация
МДА	- малоновый диальдегид
ПОЛ	- перекисное окисление липидов
РНК	- рибонуклеиновая кислота
СОД	- супероксиддисмутаза

Компьютерный набор и верстка типографии «Бум-Полиграф».

Заказ № 79 от 27.04.2004 г. Тираж 100 экземпляров.

Печатный лист 1,0. Усл. печ. л. 1,0. Формат 60/84/16. Бумага офсетная.

394084, г. Воронеж, пер. Новороссийский, 21.

Лицензия на полиграфическую деятельность ЛР № 006982 от 29.08.2001 г.

