THE OXIDANT–ANTIOXIDANT EQUILIBRIUM IN THE BLOOD OF PEOPLE WITH SUDDEN SENSORINEURAL HEARING LOSS AFTER THE FIRST HYPERBARIC OXYGEN THERAPY SESSION— A PRELIMINARY STUDY

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

ОКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНЫЙ БАЛАНС КРОВИ ЛЮДЕЙ С ВНЕЗАПНОЙ ПЕРЦЕПТИВНОЙ ТУГОУХОСТЬЮ ПОСЛЕ ПРОВЕДЕНИЯ ПЕРВОЙ ПРОЦЕДУРЫ ГИПЕРБАРИЧЕСКОЙ ОКСИГЕНАЦИИ - ПРЕДВАРИТЕЛЬНОЙ ИССЛЕДОВАНИЕ

OXIDATIONS-ANTIOXIDATIONS-BALANCE IM BLUT VON PERSONEN MIT PLÖTZLICHEM SENSORINEURALEN HÖRVERLUST (SSNHL) NACH DER DURCHGEFÜHRTEN ERSTEN BEHANDLUNG MIT SAUERSTOFFHYPERBARIE - VORLÄUFIGE UNTERSUCHUNG

EQUILIBRIO OXIDO-ANTIOXIDANTE EN SANGRE EN PERSONAS CON PÉRDIDA AUDITIVA NEUROSENSORIAL SÚBITA TRAS DEL PRIMER TRATAMIENTO CON OXÍGENO HIPERBÁRICO - EXAMEN PRELIMINAR

Jarosław Paprocki[1)], Marta Pawłowska[1)], Paweł Sutkowy[1)], Jacek Piechocki[2)] , Alina Woźniak[1)]

[1)] Institute of Medical Biology of Ludwik Rydygier Collegium Medicum in Bydgoszcz, Nicolaus Copernicus University, Torun, Poland
[1)] Katedra Biologii Medycznej, Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu
[2)] Mazovian Centre for Hyperbaric Therapy and Wound Treatment, Warsaw, Poland
[2)] Mazowieckie Centrum Terapii Hiperbarycznej i Leczenia Ran w Warszawie

STRESZCZENIA / ABSTRACTS

The activity of selected antioxidant enzymes: superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx) in erythrocytes, and the concentration of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) in blood plasma and erythrocytes, were determined in people subjected to hyperbaric oxygen (HBO) therapy due to sudden sensorineural hearing loss (SSNHL). Venous blood samples were taken immediately before entering the hyperbaric chamber and 5 min after leaving it. In the study group, two age subgroups were distinguished: group I consisting of subjects under 35 and group II consisting of subjects over 50.
The obtained values were analysed statistically using Student's t-test. Differences were considered as statistically significant at $p < 0.05$. A statistically significant decrease in the CAT activity was shown 5 min after leaving the hyperbaric chamber in pooled subjects ($p < 0.01$) and group I ($p < 0.05$). Furthermore, a statistically significant decrease in the erythrocyte TBARS concentration was observed in group II ($p < 0.05$).
It was demonstrated that a single exposure to hyperbaric oxygen affects the oxidant–antioxidant equilibrium as evidenced by, e.g., a statistically significant decrease in the activity of catalase in erythrocytes. It is possible that the antioxidant response to HBO depends on the age of subjects.
Keywords: sudden sensorineural hearing loss (SSNHL), hyperbaric oxygen (HBO), superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx), malondialdehyde (MDA), thiobarbituric acid reactive substances (TBARS).

ARTICLE INFO

PolHypRes 2017 Vol. 61 Issue 4 pp. 15 - 24
ISSN: 1734-7009 **eISSN:** 2084-0535
DOI: 10.1515/phr-2017-0018
Pages: 10, figures: 0, tables: 1
page www of the periodical: www.phr.net.pl

Publisher
Polish Hyperbaric Medicine and Technology Society

Typ artykułu: oryginalny
Original article

Termin nadesłania: 13.08.2017r.
Termin zatwierdzenia do druku: 29.09.2017r.

Oznaczono aktywność wybranych enzymów antyoksydacyjnych: dysmutazy ponadtlenkowej (SOD), katalazy (CAT) i peroksydazy glutationowej (GPx) w erytrocytach oraz stężenie substancji reagujacych 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 znamienne 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).

Отмечена активность избранных антиоксиднатных ферментов: супероксиддисмутазы (SOD), каталазы (CAT) и глутатион пероксидаза (GPx) в эритроцитах, а также концентрация реактивных веществ тиобарбитуровой кислоты (TBARS) в плазме и в эритроцитах людей, подвергшихся воздействию гипербарической оксигенации (HBO) по поводу появления внезапной перцептивной тугоухости (SSNHL). Венозная кровь для анализа была забрана непосредственно перед процедурой HBO, а также через 5 мин. после выхода из барокамеры. В группе испытуемых было выделено 2 подгруппы, которые отличались по возрасту: группа I - моложе 35 лет, группа II - старше 50 лет.
Полученные результаты прошли статический анализ с использованием теста Т-Стьюдента. Статически значимой была признана разница при уровне значимости p<0,05. Через 5 мин после выхода их барокамеры было выявлено статистически значимое снижение активности CAT у всех испытуемых вместе (p<0,01), а также в I группе (p<0,05). Отмечены статически значимое снижение концентрации TBARS в эритроцитах II группы больных (p<0,05).
Выявлено, что одноразовая гипербарическая экспозиция оказывает влияние на оксидантно-антиоксидантный баланс, что подтверждает статистически значимое снижение активности каталазы в эритроцитах. Возможно, что антиоксидантный ответ на воздействие HBO зависит от возраста испытуемых.
Ключевые слова: внезапная перцептивная тугоухость (SSNHL), гипербарическая оксигенация (HBO), супероксиддисмутаза (SOD), каталаза (CAT), глутатион пероксидаза (GPx), малондиальдегид (MDA), реактивные вещества тиобарбитуровой кислоты (TBARS).

Es wurde die Aktivität ausgewählten antioxidierender Enzyme markiert: Superoxiddismutase (SOD), Katalase (CAT)und Glutathionperoxidase (GPx) in den Erytrozyten sowie die Konzentration von Substanzen, die mit Thiobarbitursäure (TBARS) reagieren, im Plasma und in den Erytrozyten von Personen, die der Wirkung einer Sauerstoffhyperbarie (HBO) wegen eines plötzlichen sensorineuralen Hörverlusts (SSNHL) unterzogen wurden. Das arterielle Blut für die Untersuchungen wurden unmittelbar vor der HBO-Behandlung sowie ca. 5 Minuten nach dem Verlassen der Überdruckkammer abgenommen. In der untersuchten Gruppe wurden 2 Untergruppen ausgegliedert, im unterschiedlichen Alter: Gruppe I mit Personen unter 35 Jahren, Gruppe II mit Personen über 50 Jahren.
Die erzielten Ergebnisse wurden der statistischen Analyse mit dem Test T-Student unterzogen. Als statistisch wesentlich wurden Unterschiede auf einem Niveau der Wesentlichkeit von p<0,05 angesehen. 5 Minuten nach dem Verlassen der Druckkammer wurde eine statistisch wesentliche Minderung der CAT-Aktivität bei allen Personen insgesamt (p<0,01) sowie in Gruppe I (p<0,05) nachgewiesen. Darüber hinaus wurden eine statistisch wesentliche Minderung der Konzentration von TBARS in den Erytrozyten in der Patientengruppe II festgestellt (p<0,05).
Es wurde nachgewiesen, dass eine einmalige hyperbare Exposition die Oxidations-Antioxidations-Balance beeinflusst, wovon u.a. die statistisch wesentliche Minderung der Aktivität der Katalase in den Erytrozyten zeugt. Es ist möglich, dass die antioxidative Antwort auf die Wirkung von HBO vom Alter der untersuchten Personen abhängt.
Schlüsselwörter: plötzlicher sensorineuraler Hörverlust (SSNHL), hyperbare Oxygenierung (HBO), Superoxiddismutase (SOD), Katalase (CAT), Glutathionperoxidase (GPx), Malondialdehyd (MDA), Substanzen, die mit Thiobarbitursäure (TBARS) reagieren.

Se determinó la actividad de algunas enzimas antioxidantes seleccionadas: superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT) y glutatión peroxidasa (GPx) en los eritrocitos, así como la concentración de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) en plasma y eritrocitos sometidos a hiperbaria de oxígeno (HBO) como consecuencia de la aparición de una pérdida auditiva neurosensorial súbita (SSNHL). La sangre venosa se recogió directamente antes del procedimiento de HBO y unos 5 minutos después de la salida de la cámara hiperbárica. En el grupo de estudio se identificaron 2 subgrupos que difirieron en la edad: el grupo I estaba formado por personas menores de 35 años y el grupo II, por personas mayores de 50 años.
Los resultados obtenidos se sometieron a un análisis estadístico mediante la prueba T-Student. Por diferencias estadísticamente significativas se entendió un nivel de significancia del p<0,05. Unos 5 minutos después de haber salido de la cámara hiperbárica se observó una disminución significativa de la actividad de la CAT en todos los sujetos analizados en conjunto (p<0.01), así como en el grupo I (p<0,05). Además, se observó una disminución estadísticamente significativa de las TBARS en los eritrocitos en el grupo II de pacientes (p<0,05).
Se ha demostrado que una única exposición hiperbárica influye sobre el equilibrio oxidativo-antioxidante, lo que se evidencia en una disminución estadísticamente significativa de la actividad de la catalasa presente en los eritrocitos. Es posible que la respuesta antioxidante a la HBO dependa de la edad de los sujetos estudiados.
Palabras clave: pérdida auditiva neurosensorial súbita (SSNHL), hiperbaria de oxígeno (HBO), superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), glutatión peroxidasa (GPx), malon- dialdehído (MDA), sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS).

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 dobębenkowo, 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

INTRODUCTION

Sudden sensorineural hearing loss (SSNHL) is a rapid-onset and frequent pathology. It is associated with a loss of function of one of the most important human senses. Hearing loss occurs when hearing impairment is greater than 30 dB and involves three or more frequencies. Deafness occurs in up to three days [1,4]. The incidence of this disease in Poland is approximately 5–20 cases per 100,000 people per year. The disease occurs most often between 30 and 60 years of age, with the hearing loss usually affecting one ear, rarely two [2,5,6]. The causes of sudden hearing loss usually have a vascular (50–70%), viral (28–40%) or autoimmune (approx. 15%) background [2,3].

Deafness is usually accompanied by tinnitus and an unpleasant feeling of ear blockage described by the patients as clogged ear. Moreover, frequent vertigo and balance disturbance occur [3]. SSNHL is usually treated pharmacologically with corticosteroids. During hospitalisation, the drugs are administered intravenously or intratympanically, while in an outpatient setting—mainly orally. Glucocorticosteroids are administered orally at a dose gradually tapered until discontinuation. SSNHL therapy can also include antivirals, drugs stimulating microcirculation, as well as diuretics, vitamins and diet supplements [9,12,13]. In cases of vertigo (30–40%) or tinnitus, further therapeutic procedures are required. Hyperbaric oxygen (HBO) therapy is gaining popularity in combination with pharmacotherapy. HBO therapy is the only known method that allows increasing oxygen partial concentration in the inner ear fluid.

Oxygen reaches the spiral organ in two ways: by diffusion from the stria vascularis via the cochlear duct endolymph, and by diffusion from the middle ear through the round window [11]. The presence of pure oxygen in the breathing mixture along with high pressure in the chamber (0.25 MPa) increases the pressure of oxygen in the entire body, including the middle ear. This increase is accompanied by the return of the electrophysiological function of the cochlea [12,13].

Hyperbaric oxygen therapy consists of breathing 100% oxygen in a specially adapted chamber in which the pressure is higher than the local ambient pressure. For the purposes of the therapy, a pressure of approximately 0.25 MPa is used [7]. Such pressure, along with breathing 100% oxygen through a special mask, allows oxygenation of all organs and tissues of the body, including the middle ear in order to resolve the symptoms of deafness. In the course of SSNHL treatment using HBO, a series of 15 everyday sessions in the hyperbaric chamber is used, according to the standards followed by the Mazovian Centre for Hyperbaric Therapy and Wound Treatment in Warsaw, Poland.

The increase in the concentration of oxygen in the breathing mixture may lead to an enhanced generation of reactive oxygen species (ROS) in body cells. Once the oxidant–antioxidant equilibrium in human body is disrupted, excess ROS cause damage to DNA, proteins and lipid structures of cell membranes [14,15]. ROS include, e.g., superoxide anion ($O_2^{\cdot-}$), hydrogen peroxide (H_2O_2) and hydroxyl radical (OH)[16]. To prevent damage to cellular structures, human body has developed mechanisms capable of removing these reactive oxygen species. Among compounds endowed with antioxidative

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.: anionorodnik ponadtlenkowy ($O_2^{\cdot-}$), 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 ponadtlenkowa (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.

properties are non-enzymatic ROS scavengers, such as vitamins A, B, C and E, and antioxidant enzymes, such as superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPx) [17]. A marker of oxidative stress is, e.g., the intensity of lipid peroxidation—a process consisting of repeated free radical chain reactions leading to the degradation of fatty acids forming cell membranes. Products of lipid peroxidation that are toxic to cells include thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) [18].

MATERIAL AND METHODS

The study was conducted in a group of 32 people (mean age = 45 ± 16 years, haemoglobin—HGB = 15.0 ± 1.5 g/dL; haematocritHCT = 44.3 ± 10.4%) who were patients of the Mazovian Centre for Hyperbaric Therapy and Wound Treatment in Warsaw, Poland. The study group was divided into two subgroups: group I comprised subjects aged under 35 years (n = 11, mean age = 28.2 ± 5.8 years,HGB = 14.3 ± 2.1 g/dL;HCT = 40.9 ± 5.8%), while group II comprised subjects aged over 50 years (n = 12, mean age = 63.3 ± 8.6 years; HGB = 15.4 ± 1.10 g/dL; HCT = 43.9 ± 2.6%).

A single hyperbaric therapy session lasted 90 min. The procedure consisted of two 10-minute periods of compression and decompression at the beginning and at the end of treatment, respectively, and three 20-minute periods of breathing with 100% oxygen. The latter periods were divided by two 5-minute breaks periods during which the subjects breathed atmospheric air. The total time spent under the pressure of 0.25 MPa was 70 min, and during that time the subjects breathed hyperbaric oxygen for a total of one hour [7].

The study was approved by the Bioethics Committee of the Ludwik Rydygier Collegium Medicum in Bydgoszcz, Nicolaus Copernicus University in Torun, Poland.

The subjects were treated with hyperbaric oxygen therapy in the Haux Starmed 2200 hyperbaric chamber which created the same environmental conditions for all study subjects, providing constant pressure, humidity, temperature, and allowing them to breathe pure oxygen for the same amount of time.

The material for biochemical tests was blood taken by qualified medical personnel from the basilic vein. Blood samples for the analysis were taken at two time points: before treatment in the hyperbaric chamber and approx. 5 min after treatment.

The activity of SOD, CAT and GPx was determined in erythrocytes, while the concentration of TBARS was determined in erythrocytes and blood plasma. The biochemical analyses were conducted at the Institute of Medical Biology of Ludwik Rydygier Collegium Medicum in Bydgoszcz, Nicolaus Copernicus University in Torun, Poland.

The TBARS concentration was measured using the method by Buege and Aust [32] as modified by Esterbauer and Cheeseman [33]. Lipid peroxidation products were identified using thiobarbituric acid (TBA). The main lipid peroxidation product that reacts with thiobarbituric acid is malondialdehyde (MDA), therefore, for the sake of simplicity, the levels of TBARS were expressed as the concentration of MDA. The MDA concentration in erythrocytes was expressed in nmol MDA/g Hb, and that in blood plasma was expressed in nmol MDA/mL of plasma.

Determination of the SOD activity was based on

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 nadtlenku 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 nadtlenku 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. 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±194,68 U/g Hb do 763,59±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±169,33 U/g Hb a po przeprowadzonym zabiegu zmniejszyła się do 784,04±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±119,09 U/g Hb do 735,30±125,38 U/g Hb (tab. 1).

Aktywność CAT w erytrocytach wszystkich badanych łącznie po HBO obniżyła się istotne statystycznie o 5,9% (tab. 1, $p<0,01$). Stwierdzono również istotne 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 znamiennych statystycznie zmian

the inhibition of adrenaline autoxidation to adrenochrome in alkaline conditions. To measure the SOD activity, a previously obtained haemolysate after removal of haemoglobin with a chloroform–ethanol mixture was used. Centrifugation generated two layers: upper layer containing the enzyme and lower layer containing denatured haemoglobin and chloroform [32]. The SOD activity was determined by continuous recording of the reaction using a reaction kinetics programme on a Varian spectrophotometer, and expressed in U/g Hb.

The CAT activity was determined by measuring the decrease in the absorbance of a solution of hydrogen peroxide (H_2O_2) decomposed by the enzyme. The decrease in the absorbance value is directly proportional to the reduction of the H_2O_2 concentration in the solution [34]. The CAT activity was expressed in IU/g Hb.

The GPx activity was determined at 20°C using a method based on decomposition of hydrogen peroxide by the enzyme with the concurrent oxidation of reduced glutathione [22]. The results were expressed in U/g Hb.

The study results were presented as means with standard deviation (SD) values. Statistical analysis was conducted using Student's t-test, and differences were considered as statistically significant at $p < 0.05$. The hypothesis of statistical significance of these coefficients was tested.

RESULTS

The SOD activity in the erythrocytes of pooled subjects after the hyperbaric exposure decreased in a statistically insignificant manner by approx. 2% from 778.61 ± 194.68 to 763.59 ± 152.52 U/g Hb (Tab. 1). In the erythrocytes of subjects from group I, the SOD activity after HBO therapy also showed a statistically insignificant tendency to decrease. In group I, the activity of this enzyme was 836.32± 169.33 U/g Hb before treatment, and decreased to 784.04 ± 168.40 U/g Hb after treatment. In group II, the SOD activity after HBO therapy remained roughly at the same level, with only a slight increasing tendency from 729.89 ± 119.09 to 735.30 ± 125.38 U/g Hb (Tab. 1).

The CAT activity in the erythrocytes of pooled subjects after HBO therapy decreased in a statistically significant manner by approx. 5.9% ($p < 0.01$; Tab. 1). A statistically significant ($p<0.05$) decrease in the activity of this enzyme (approx. 10.4%) was also observed in group I. In group II, a statistically insignificant tendency of the CAT activity to decrease by approx. 1.9% was seen (Tab. 1).

No statistically significant changes in the activity of GPx were noted after HBO therapy. The activity of this enzyme in the erythrocytes of pooled subjects showed a tendency to increase after treatment by approx. 18.4% from 8.8 ± 5.8 to 10.42 ± 5.24 U/g Hb. The GPx activity after the hyperbaric exposure increased by 13% in subjects from group I and by 18.5% in subjects from group II (Tab. 1).

The TBARS concentration in the erythrocytes of pooled subjects after the hyperbaric exposure had a tendency to decrease by approx. 7% from 26.31 ± 8.65 to 24.48 ± 8.53 nmol MDA/g Hb (Tab. 1). In group I, a decreasing tendency in the levels of TBARS in erythrocytes was observed. In group II, the TBARS concentration in erythrocytes decreased in a statistically significant manner after the hyperbaric exposure

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±5,8 do 10,42±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±8,65 nmol MDA/g Hb do 24,48±8,53 nmol MDA/g Hb (tab. 1). W grupie I wykazano tendencję do zmniejszania sie 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±6,62 nmol MDA/g Hb, a po przeprowadzonym zabiegu zmniejszył się o 15,6% do 24,42±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).

(p < 0.05). Before the exposure, the TBARS concentration in this group was 28.95 ± 6.62 nmol MDA/g Hb, and decreased by 15.6% after treatment to 24.42 ± 5.81 nmol MDA/g Hb (Tab. 1).

No statistically significant changes were noted in the TBARS concentration in the blood plasma of subjects after HBO therapy. However, a tendency of TBARS to increase in the blood plasma of pooled subjects was seen. The concentration of these lipid peroxidation products after HBO therapy decreased by 2% (p > 0.05) in subjects from group I and increased by 6.8% in subjects from group II (p > 0.05; Tab. 1).

Tab. 1

The activity of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx) in the erythrocytes, and the concentration of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) in the blood plasma and erythrocytes of patients subjected to hyperbaric oxygen (HBO) therapy.

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).

	Pooled subject n=32		Group I n=11		Group II n=12	
Parameter determined	Before treatment	Approx. 5 min post-treatment	Before treatment	Approx. 5 min post-treatment	Before treatment	Approx. 5 min post-treatment
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

The results are expressed as mean ± SD.
*—statistically significant difference compared to the pre-treatment activity, p < 0.05
**—statistically significant difference compared to the pre-treatment activity, 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 Gravesa-Basedowa przyjmujących glikokortykosteroidy. Inne badanie

DISCUSSION

Breathing 100% oxygen may increase generation of reactive oxygen species in the body and affect the oxidant–antioxidant equilibrium. Respiratory chain is the main source of these toxic forms of oxygen in the cell. In the process of cellular respiration, part of oxygen naturally undergoes incomplete reduction, which leads to the formation of ROS [16,19].

Moreover, there is evidence of an effect of oral glucocorticosteroid therapy on the oxidant–antioxidant equilibrium in humans. Bednarek et al. [8] observed a decrease in the activity of CAT and SOD in people with Graves' disease taking glucocorticosteroids. Another study demonstrated a decrease in the activity of CAT and SOD, as well as the concentration of TBARS, in the kidneys

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 znamiennych 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. Paprocki i wsp. [21] we wcześniejszych badaniach również wykazali tendencję do zwiększenia się aktywności tego enzymu we krwi ochotników poddanych działaniu HBO. Freiberger 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 ponadtlenkowego ($O_2^{\cdot-}$), 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 mózgach 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 wpłynąć na uzyskane wyniki.

Katalaza to kolejny enzym obrony antyoksydacyjnej człowieka, który zapobiega powstawaniu nadtlenku 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 znamiennych 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 bezpośrenio 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 znamiennych statystycznie zmian aktywności CAT i SOD [28]. Wyniki

of rabbits after administration of glucocorticosteroids at a dose of 50 mg/kg b.w. following an experimentally induced ischaemia of the kidney lasting three hours [20].

In the presented study, no statistically significant changes in the SOD activity were observed. There was, however, a decreasing tendency in the activity of this enzyme seen in pooled subjects and in group I, and surprisingly an increasing tendency in the activity of the enzyme found in group II. Paprocki et al. [21] in an earlier study also showed an increasing tendency in the activity of this enzyme in the blood of volunteers treated with HBO. Freiberger et al. [22] demonstrated that an increased partial pressure of O_2 causes changes in the SOD activity. Their results suggest an increased generation of ROS, mainly superoxide anion (O_2^-)—a substrate in the dismutation reaction catalysed by SOD, in response to exposure to hyperbaric oxygen [24]. Harabin et al. [25] studied the effect of HBO on rats and guinea pigs subjected to a pressure of 2.8 ATA, as well as continuous and intermittent oxygen therapy (the latter consisting of 10-minute oxygen therapy sessions separated by 2.5-minute breaks during which the tested animals breathed air at a pressure of 2.8 ATA). The group demonstrated increased SOD activity in the lungs, and reduced CAT and GPx activity in the brains of both guinea pigs and rats subjected to continuous and intermittent oxygen therapy. They also showed that oxidative stress was less intense in animals in which the 2.5-minute breaks were introduced. In our own study, the periods of breathing 100% oxygen were separated by 5-minute breaks during which the subjects breathed atmospheric air, which could affect the obtained results.

Catalase is another enzyme of antioxidant defence in the human body, preventing the generation of hydrogen peroxide (H_2O_2) by catalysing the reaction of disproportionation into water and oxygen [34]. H_2O_2, due to its oxidizing action, is highly toxic to cells. In this study, a statistically significant decrease in the catalase activity was demonstrated in pooled subjects ($p < 0.01$) and group I ($p < 0.05$). No statistically significant changes in the activity of this enzyme were found in group II, apart from only a tendency for reduced activity. The currently presented results confirm those from a previous study by Paprocki et al. [21] in which a statistically significant decrease in the activity of CAT in subjects treated with HBO for the first time was observed. In turn, Benedetti et al. [26] showed that the activity of this enzyme increases immediately after HBO. Changes presented in this paper do not confirm that observation, with only a statistically insignificant increasing tendency in the CAT activity demonstrated in group II. It may be associated with the age of the subjects.

Liu et al. [27] suggested that the decreased catalase activity is a result of reaction between a metal and the substrate–enzyme complex, or blocked catalytic activity of catalase. Another study of the oxidant–antioxidant equilibrium in people exposed to HBO was conducted in 14 healthy non-smokers aged 25–30 years, and did not show any statistically significant changes in the CAT and SOD activity [28]. The results of that study do not confirm the results obtained in the authors' own study. It can be explained by the glucocorticosteroid pharmacotherapy that was administered to the subjects before and during the experiments.

Glutathione peroxidase catalyses the reaction between H_2O_2 and glutathione, and thereby prevents the Fenton reaction [16]. Thus, the reaction catalysed by GPx

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 nadtlenki lipidów do alkoholu [16,17]. W badaniu własnym nie obserwowano istotnych statystycznie zmian aktywność 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 labolatoryjnych.

Część szczurów poddano działaniu HBO, a pozostałą 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 znamienny 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

protects the body from the harmful action of ROS. Moreover, it should be remembered that GPx protects against the process of lipid peroxidation [16].

Glutathione peroxidase reduces lipid peroxides to alcohol [16,17]. In the authors' own study, no statistically significant changes in the activity of GPx in pooled subjects and in each group were observed. Similarly, an earlier study by Paprocki et al. [21] did not show any statistically significant changes in the activity of this enzyme in pooled subjects, but in turn it showed a significant increase in the activity of the enzyme in people repeatedly treated with HBO. In another study, the effect of HBO on the course of experimentally induced acute pancreatitis in laboratory rats was assessed.

Some of the rats were treated with HBO, while the control group was not treated in such a way. At the end of the experiment, the activities of SOD and GPx, and the concentration of MDA were determined in blood cell lysates. In animals treated with HBO, a statistically significant decrease in the concentration of MDA, as well as increased activities of GPx and SOD were seen [29]. Further studies in animals in which the activity of GPx and the concentration of TBARS were measured were conducted in rats after skin grafts. Forty *Sprague Dawley* rats after skin grafts were divided into two groups.

Group I (28 rats) was subjected to HBO at a pressure of 2 ATA twice per day for 28 days. Group II (21 rats) consisted of rats not subjected to such a treatment. The conducted experiment allowed observation of a statistically significant increase in the activity of oxidative stress markers in both groups, but in the group treated with HBO that increase was much larger compared to the control group without HBO. The observed phenomenon of intensification of lipid peroxidation in the grafted skin may raise concerns about the safety of HBO in people subjected to organ transplantation [30]. Another experiment showed generation of ROS and an increase in lipid peroxidation in the nervous tissue of experimental animals treated with HBO.

The examination was conducted in *Sprague Dawley* rats treated with 100% oxygen therapy for 2 hours at a pressure of 1, 1.5, 2, 2.5 and 3 ATA. At the end of the experiment, it was found that the pressure increase was accompanied by a proportional increase in the TBARS concentration and the SOD activity in the nervous tissue [23]. In another study, the concentration of MDA was assessed in male *New Zealand* rabbits experimentally subjected to complete brain ischaemia. Some of the animals after inducing ischaemia were exposed to HBO for 75 min at a pressure of 2.8 ATA, while other rabbits constituted the control group. In the brains of animals after HBO, higher values for MDA and GPx were found in comparison with the group not treated with HBO. In turn, the cortical somatosensory potentials in the rabbits treated with HBO were 50% higher than in the control group [31]. This study confirms the beneficial effect of HBO on the functioning of the brain after cerebral ischaemia.

The obtained results of the authors' own study and literature analysis suggest that the effect of HBO on oxidation–reduction processes has not been clearly explained and may depend on many factors.

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 aksydacyjno-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. Odpowiedz 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.

CONCLUSIONS

1. A single exposure to hyperbaric oxygen affects the oxidant–antioxidant equilibrium as evidenced by, e.g., a statistically significant decrease in the activity of catalase in erythrocytes.
2. The antioxidant response to HBO may depend on the age of the subjects.

The authors thank the Mazovian Centre for Hyperbaric Therapy and Wound Treatment in Warsaw, Poland, for creating perfect work conditions and friendly atmosphere during the experiments.

REFERENCES

1. Szmeja 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 glycocorticosteroids 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. Otorynolaryngologia 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. Gałecka E, Jackiewicz R, Mrowicka M, Florkowski A, Gałecki 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, Yildrin K. The effect of dehydroepiandrosterone on renal ischemia reperfuzjon-induced oxidative stress in Rabit. Urological Res. 2004; 32(2): 93-96;
21. Paprocki J, Sutkowy P, Krzyżańska-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. Freiberger 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 pessure and oxidative parameters in rat lung brain and erytrocytes. Clin. Biochem. 2005; 38(8): 706-711;
24. Gałecka E, Jackiewicz R, Mrowicka M, Florkowski A, Gałecki 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, Pagliarani 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, Kaymakcioglus 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