

ОСОБЕННОСТИ БИОХИМИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ КРОВИ ПОСЛЕ СЕАНСА ГИПЕРБАРИЧЕСКОЙ ОКСИГЕНАЦИИ У ТЯЖЕЛОБОЖЖЕННЫХ БОЛЬНЫХ

Костина О.В.¹, Пушкин А.С.¹, Диденко Н.В.¹, Загреков В.И.¹, Беляева К.Л.¹, Преснякова М.В.¹

¹ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России, Нижний Новгород, e-mail: olkosta@rambler.ru

Цель исследования – изучение влияния гипербарической оксигенации (ГБО) на показатели биохимического профиля тяжелообожженных пациентов в краткосрочный период времени. Обследованы 9 больных с площадью ожога $51,7 \pm 18,2\%$ поверхности тела. Забор крови осуществляли до сеанса ГБО и в течение 20 минут после него. Помимо стандартных биохимических анализов, исследовались показатели, характеризующие свободнорадикальное окисление, антиоксидантную систему защиты, активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и лактатдегидрогеназы в прямой/обратной реакциях. После сеанса ГБО у пациентов в сыворотке крови не отмечалось значимых изменений содержания мочевины, креатинина, общего белка, альбумина, преальбумина, СРБ, общего билирубина, холестерина, цинка, активности трансаминаз. Наблюдались снижение концентрации глюкозы на 10% и увеличение активности лактатдегидрогеназы в прямой реакции на 11% ($p < 0,05$) в сыворотке крови, активности эритроцитарных ферментов – лактатдегидрогеназы в прямой и обратной реакциях и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы – на 5% ($p < 0,05$). Снижение концентрации лактата происходило в 47% случаев, в остальных случаях зарегистрировано возрастание. Частота встречаемости снижения активности свободнорадикальных процессов в эритроцитах составила 60%, тогда как в плазме крови снижение происходило в 40% случаев. Наблюдаемые изменения происходили на фоне стимуляции общей антиоксидантной активности плазмы крови и увеличения энзиматической активности супероксиддисмутазы, каталазы и глутатионредуктазы в 90–95% случаев. Изменения концентрации глюкозы и активности лактатдегидрогеназы коррелировали с показателями про- и антиоксидантного баланса. Проведенные исследования свидетельствуют о наличии положительного адаптогенного эффекта ГБО у тяжелообожженных больных.

Ключевые слова: ожоговая болезнь, гипербарическая оксигенация, биохимические показатели крови, свободнорадикальное окисление, антиоксидантная защита.

FEATURES OF BIOCHEMICAL CHANGES IN BLOOD AFTER A SESSION OF HYPERBARIC OXYGENATION IN SEVERELY BURNED PATIENTS

Kostina O.V.¹, Pushkin A.S.¹, Didenko N.V.¹, Zagrekov V.I.¹, Belyaeva K.L.¹, Presnyakova M.V.¹

¹FSBEI HE PRMU MOH Russia, Nizhny Novgorod, e-mail: olkosta@rambler.ru

The aim – to study the hyperbaric oxygenation (HBO) effect on the biochemical profile of severely burned patients in a time short period. 9 patients with a burn area of $51.7 \pm 18.2\%$ of the body surface were examined. Blood was taken before the HBO session and within 20 minutes after. Standard biochemical analyses and indicators characterizing lipoperoxidation, antioxidant defense system, glucose-6-phosphate dehydrogenase and lactate dehydrogenase activity in direct/reverse reactions were studied. After the HBO session there were no significant changes in the serum levels of urea, creatinine, total protein, albumin, prealbumin, CRP, total bilirubin, cholesterol, zinc, and transaminase activity. There was a decrease in glucose concentration by 10% and an increase in the lactate dehydrogenase activity in direct reaction by 11% ($p = 0,01$) in blood serum, the activity of lactate dehydrogenase in direct and reverse reactions and glucose-6-phosphate dehydrogenase in erythrocytes – by 5% ($p < 0,001$). A lactate concentration decrease occurred in 47% of cases, in other cases an increase was registered. The occurrence frequency of the free radical processes activity decrease in erythrocytes was 60% of cases, whereas in blood plasma – 40%. The observed changes occurred against the background of stimulation of the total antioxidant activity of blood plasma and an increase in the enzymatic activity of superoxide dismutase, catalase and glutathione reductase in 90–95% of cases. Changes in glucose concentration and lactate dehydrogenase activity correlated with pro- and antioxidant balance indicators. The conducted studies indicate the presence of a positive adaptogenic effect of HBO in severely burned patients.

Keywords: burn disease, hyperbaric oxygenation, biochemical parameters of blood, free radical oxidation, antioxidant defense.

Патогенез тяжелой термической травмы включает комплекс различных изменений, затрагивающих все жизненно важные системы. Развитие ожоговой болезни сопровождается выраженным системным воспалительным ответом, нарушениями микроциркуляции и гемокоагуляции, полиорганной недостаточностью, гипоксией тканей, окислительным стрессом, гиперкатаболизмом и другими патологическими изменениями [1]. В качестве дополнительного метода лечения ожоговой болезни с целью улучшения оксигенации тканей используют гипербарическую оксигенотерапию (ГБО), которая положительно влияет на заживление ран, уменьшает отек и улучшает кровоток в пограничных областях, способствует уменьшению частоты развития раневых инфекций, активации эпителизации, повышению жизнеспособности кожных трансплантатов, а также снижению вероятности появления стрессовых язв Кушинга и развития ожоговой энцефалопатии [2]. У обожженных больных отмечается антиноцицептивный эффект ГБО-терапии, обусловленный увеличением экспрессии опиоидных рецепторов и синтеза мелатонина, а также снижением синтеза нейропептидов, связанных с болевыми ощущениями [3].

В 2017 г. на 10-й Европейской согласительной конференции по гипербарической медицине было рекомендовано использовать ГБО-терапию в лечении обожженных пациентов [4], однако, несмотря на отмеченные положительные результаты применения гипербарической оксигенации, этот метод пока не вошел в рутинную клиническую практику, поскольку доказательная база потенциальных полезных или нежелательных эффектов ГБО при ожоговой травме оценивается как недостаточная [5]. Приводятся различные сведения (наличие положительного эффекта / отсутствие какого-либо эффекта) о влиянии ГБО на длительность пребывания обожженных больных в стационаре, на скорость заживления ран, летальность [6], сообщаются противоречивые данные о воздействии ГБО на процессы свободнорадикального окисления, воспаления и ангиогенеза, что, очевидно, связано с высокой индивидуальной вариабельностью течения ожоговой болезни и различными режимами проведения гипербарической оксигенации [7].

При использовании ГБО в терапии ожоговой болезни необходимо учитывать, что гипероксия приводит к образованию активных форм кислорода (АФК) и сдвигу баланса между про- и антиоксидантами в сторону прооксидантов, который является обратимым в случае сохранения активности антиоксидантной системы (АОС) на достаточном уровне [8]. Однако в условиях дефицита антиоксидантов избыточная выработка АФК может быть сопряжена с развитием окислительного стресса и, как следствие, с усугублением различных нарушений гомеостаза [9]. В связи с этим необходимо обосновать целесообразность применения ГБО при ожоговой болезни, ориентируясь не только на клинические эффекты, но и на изменения

лабораторных показателей крови обожженных пациентов, а также на то, насколько быстро они происходят.

Цель работы: изучить влияние гипербарической оксигенации на показатели биохимического профиля тяжелообожженных пациентов в краткосрочный период времени.

Материал и методы исследования. Проведено пилотное проспективное нерандомизированное исследование «до-после». Набор пациентов осуществлялся на базе отделения реанимации и интенсивной терапии ожогового центра Университетской клиники ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России. Исследование проведено в соответствии со стандартами Хельсинкской декларации (2013) и одобрено локальным этическим комитетом Приволжского исследовательского медицинского университета, протокол № 17 от 11.10.2019 г. От каждого пациента получено письменное информированное согласие на участие в исследовании. В контрольную группу вошли 30 условно здоровых добровольцев, сопоставимых по возрасту и полу. В основную группу исследования вошли 9 пациентов (2 женщины и 7 мужчин) с площадью ожога $51,7 \pm 18,2\%$ поверхности тела, средний возраст пациентов составил $44 \pm 9,95$ года. Стандартная терапия ожоговой болезни дополнялась проведением сеансов ГБО, которая начиналась на 2–3-и сутки после получения термической травмы. Лечение гипербарическим кислородом проводилось в барокамерах БЛКС-307, БЛКС-307/1 производства государственного космического научно-производственного центра им. М.В. Хруничева. При проведении сеанса ГБО использовался режим «малых доз» с компрессией 5 мин, изопрессией 1,2–1,4 Ата с экспозицией 50 мин, декомпрессией 5 мин. Взятие крови у пациента осуществляли непосредственно до сеанса ГБО и в течение 20 минут после его проведения. Пяти пациентам было проведено 4 сеанса ГБО, четырем – 5 сеансов, в итоге общее количество пар сравнения до и после сеанса ГБО составило 40.

В сыворотке крови определяли содержание общего белка, альбумина, преальбумина, мочевины, креатинина, общего билирубина, глюкозы, холестерина, цинка, активность аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ), лактатдегидрогеназы в прямой реакции – ЛДГпр.сыв. на биохимическом анализаторе ILAB 650 (Италия, США, Япония). Концентрацию С-реактивного белка (СРБ) определяли на анализаторе AU 480 Beckman Coulter (США). Для исследований использовали наборы реагентов BioSystems (Испания). Содержание лактата измеряли на анализаторе Biosen c_line Clinic (ЕКФ, Германия). В гемолизате отмытых эритроцитов оценивали активность АОС – супероксиддисмутаза (СОД) [10], каталазы и глутатионредуктазы (ГР) [11], а также активность ЛДГ в прямой и обратной реакциях (ЛДГпр.эр. и ЛДГобр.эр., катализирующих реакции лактат↔пируват и пируват↔лактат, соответственно), глюкозо-6-

фосфатдегидрогеназы (ГлбфДГ) [12]. Для оценки активности ферментов использовали спектрофотометр ПЭ-5400 (Россия). Оценку общей антиоксидантной активности плазмы крови (ОАА), активности свободнорадикального окисления в плазме крови (СРОпл.) и эритроцитах (СРОэр.) выполняли методом индуцированной биохемилюминесценции на биохемилюминометре БХЛ-07 (Россия) [13]. Определение диеновых конъюгатов (ДК) и оснований Шиффа (ОШ) в плазме крови осуществляли по методу Б.С. Хышиктеуева и соавт. [14]. Содержание малонового диальдегида (МДАпл.) в плазме крови и эритроцитах (МДАэр.) определяли по реакции с тиобарбитуровой кислотой с использованием наборов реагентов «ТБК-АГАТ» (ООО «Агат-Мед», Россия) на спектрофотометре ПЭ-5400 (Россия).

Статистическую обработку данных проводили с применением программы Statistika 6.0. Для проверки характера распределения вариационных рядов использовали W-критерий Шапиро–Уилка. При описании данных рассчитывали медиану, первый и третий квартили – Ме (Q1; Q3). Статистическую значимость различий между изучаемыми показателями вычисляли с использованием непараметрических критериев Вилкоксона и U-критерия Манна–Уитни. Интенсивность ассоциации между переменными оценивали с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена (r). Критическая величина уровня значимости (p) принималась равной 0,05.

Результаты исследования и их обсуждение. Анализ полученных результатов показал, что в ранний период ожоговой болезни у тяжелообожженных пациентов регистрировались биохимические нарушения, свидетельствующие о тяжести состояния больных: гипергликемия, повышение уровня мочевины, гипопроteinемия, снижение уровня холестерина, гипоцинкемия, повышение активности трансаминаз, депрессия лактатдегидрогеназы. Эти изменения происходили на фоне выраженной воспалительной реакции, которую отражали низкий уровень преальбумина и высокая концентрация СРБ (табл. 1).

Анализ всей совокупности результатов, полученных после сеанса ГБО, показал отсутствие значимых изменений содержания мочевины, креатинина, общего белка, альбумина, преальбумина, СРБ, общего билирубина, холестерина, цинка, активности АЛТ и АСТ. В то же время после сеанса ГБО в сыворотке крови отмечались снижение концентрации глюкозы почти на 10% и увеличение активности ЛДГпр., катализирующей реакцию превращения лактата в пируват, на 11% ($p=0,01$). Обращает на себя внимание тот факт, что каталитическая активность ЛДГпр.эр) до сеанса ГБО была снижена по сравнению с показателем здоровых людей на 26,6%, а ЛДГобр.эр. – на 8,5%, что способствовало накоплению лактата. После ГБО выявлено небольшое, но статистически значимое увеличение

активности эритроцитарных ферментов ЛДГ в прямой и обратной реакциях, а также ГлбфДг – в среднем на 5% ($p<0,001$).

Таблица 1

Биохимические показатели сыворотки крови у тяжелообожженных больных до и после сеанса ГБО

Показатель	Контрольная группа	Основная группа	
		До сеанса ГБО	После сеанса ГБО
Глюкоза, ммоль/л	4,83 (4,36; 5,22)	7,5 (6,4; 8,7) ¹	6,8 (6,3; 7,4) ^{1,2}
Мочевина, ммоль/л	4,57 (3,62; 5,35)	5,1 (3,6; 6,3) ¹	5,2 (3,6; 6,4) ¹
Креатинин, мкмоль/л	84,1(76,1; 93,9)	80,8 (73,0; 96,8)	82,75 (72,9; 96,5)
Общий белок, г/л	73,9 (71,5; 76)	54,4 (49,1; 59,2) ¹	55,75 (47,6; 60,7) ¹
Альбумин, г/л	45,1(42,8; 48)	28,4 (24,9; 32,5) ¹	28,35 (24,3; 32,9) ¹
Преальбумин, г/л	0,238 (0,224; 0,300)	0,111 (0,096; 0,153) ¹	0,113 (0,098; 0,169) ¹
СРБ, мг/л	4,14 (3; 6)	110,0 (75,1; 141,4) ¹	110 (70,4; 131,8) ¹
Общий билирубин мкмоль/л	13,5 (9,39; 17,11)	10,75 (8,24; 12,72) ¹	11,13 (8,45; 13,98) ¹
Холестерин, ммоль/л	4,55 (3,94; 5,12)	3,7 (3,4; 4,0) ¹	3,7 (3,5; 4,1) ¹
Цинк	10,8 (9,7; 11,5)	7,6 (6,3; 8,6) ¹	7,55 (6,85; 8,9) ¹
Лактат ммоль/л	2,02 (1,5; 2,32)	2,17 (1,5; 2,51)	2,05 (1,66; 2,84) ¹
АЛТ, ед/л	14,2 (11,9; 18,8)	23,55 (18,6; 47,9) ¹	24,25 (18,2; 47,5) ¹
АСТ, ед/л	18,1 (4,4; 22,5)	33,6 (22,4; 51,8) ¹	32 (23; 53) ¹
ЛДГпр.сыв., ед/л	247,0 (194,0; 342,0)	185 (129; 293) ¹	205 (136; 315) ^{1,2}
ЛДГпр.эр., нмоль НАДН/мин·мг белка	54,67 (45,56; 62,17)	40,12 (36,63; 43,46) ¹	42,17 (39,57; 46,67) ^{1,2}
ЛДГобр.эр., нмоль НАДН/мин·мг белка	300,58 (287,04; 324,41)	275,19 (237,7; 296,38) ¹	289,4 (272,92; 329,64) ²
ГлбфДГ, НАДФН/мин·мг белка	52,70(45,90; 57,70)	54,07 (47,48; 59,5) ¹	57,29 (49,67; 63,82) ²

Примечание: ¹ – статистическая значимость различий по сравнению с показателями контрольной группы, ² – статистическая значимость различий по сравнению с показателями пациентов до сеанса ГБО ($p<0,05$).

Детальный анализ биохимических параметров крови до и после сеанса ГБО-терапии обнаружил индивидуальную вариабельность реакции отдельных показателей на гипероксию. Так, при сравнении результатов исследования до и после воздействия гипероксии было обнаружено, что частота встречаемости снижения концентрации глюкозы после сеанса ГБО составила 75% случаев – в 1,1 раза по сравнению с уровнем до сеанса ($p=0,001$). В 4 случаях выявлено увеличение уровня глюкозы на 1,2–2,4 ммоль/л, в остальных случаях увеличение

было незначительным. Отмечено, что в 47% случаев происходило снижение концентрации лактата – в среднем в 1,36 раза по сравнению со значением до сеанса ГБО ($p=0,001$). В остальных случаях был зарегистрирован рост концентрации этого метаболита – в 1,4 раза относительно уровня до сеанса ГБО ($p=0,001$). Частота встречаемости увеличения активности ЛДГпр. в сыворотке крови после ГБО составила 42%. После сеанса ГБО в большинстве случаев также была выявлена активация эритроцитарных ферментов: частота встречаемости повышения активности ЛДГпр. составляла 72%, ЛДГобр. – 90%, Г6фДГ – 87,5%. В остальных случаях не было зафиксировано значительных изменений ферментативной активности.

В связи с тем, что энергетический метаболизм связан с клеточным гомеостазом АФК, была изучена ответная реакция про- и антиоксидантной систем на действие гипербарооксигенотерапии. Представленные в таблице 2 данные свидетельствуют о нарушении равновесия прооксидантов и антиоксидантов у тяжелообожженных больных в сторону интенсификации свободнорадикальных процессов. Проведение сеанса ГБО не оказывало стимулирующего влияния на процессы липопероксидации в плазме крови: не было выявлено увеличения интенсивности СРО и концентрации продуктов липопероксидации, однако наблюдалось увеличение ОАА на 10% ($p<0,001$). В эритроцитах обнаружено незначительное снижение уровня СРО ($p=0,04$). ГБО оказала слабое влияние на содержание МДА в эритроцитах, но привела к активации антиоксидантных ферментов: если активность глутатионредуктазы возросла на 4%, СОД – на 7%, то максимальная активация была зафиксирована у каталазы – на 22,6% по сравнению с уровнем до сеанса ГБО ($p<0,001$).

Таблица 2

Изменения параметров свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы у тяжелообожженных больных после сеанса ГБО

Показатель, значения нормы	Контрольная группа	Основная группа	
		До сеанса ГБО	После сеанса ГБО
СРОпл., усл.ед.	9,56 (98,61; 10,40)	10,91 (10,32; 11,28) ¹	10,95 (10,47; 11,70) ¹
ОАА, усл.ед.	0,754 (0,70; 0,76)	0,566 (0,522; 0,600) ¹	0,624 (0,581; 0,658) ^{1,2}
МДАпл., мкмоль/л	1,021 (0,98; 1,06)	1,187 (1,024; 1,218) ¹	1,212 (1,014; 1,275) ¹
ДК, мкмоль/л	0,601 (0,56; 0,650)	0,669 (0,64; 0,69) ¹	0,671 (0,65; 0,71) ¹
ОШ, мкмоль/л	1,57 (1,39; 1,76)	1,683 (1,635; 1,736) ¹	1,679 (1,643; 1,761) ¹
СРОэр., усл.ед.	8,66 (8,12; 9,10)	9,31 (8,86; 9,81) ¹	9,26 (8,38; 9,71) ^{1,2}
МДАэр., мкмоль/л	6,00 (5,84; 6,11)	10,73 (9,52; 11,77) ¹	10,67 (9,11; 11,33) ^{1,2}
СОД, % ингибирования / мин·мг белка	922,3 (898,5; 931,0)	730,6 (688,0; 865,2) ¹	783,2 (708,3; 899,2) ^{1,2}

Каталаза, мкмоль H ₂ O ₂ /мин·мг белка	41,8 (35,7; 49,7)	42,7 (40,2; 55,9) ¹	52,4 (44,5; 57,7) ^{1,2}
ГР, нмоль НАДФН/мин·мг белка	79,7 (73,6; 86,1)	77,9 (73,8; 82,6)	80,96 (76,1; 89,0) ²

Примечание: ¹ – статистическая значимость различий по сравнению с показателями контрольной группы, ² – статистическая значимость различий по сравнению с показателями пациентов до сеанса ГБО (p<0,05).

Детальный анализ параметров, характеризующих процессы СРО и антиоксидантную систему защиты, позволил выявить индивидуальную вариабельность реакции на гипербарооксигенацию (табл. 3). Обращают на себя внимание повышение общей антиоксидантной активности плазмы крови во всех без исключения случаях и превалирующее увеличение энзиматической активности антиоксидантных ферментов. Оценка изменений прооксидантного компонента выявила следующие особенности: в эритроцитах в большинстве случаев (60%) было выявлено снижение уровня СРО и содержания МДА на 8% и 7% соответственно (p<0,001), в 40% случаев увеличение этих показателей было небольшим, но статистически значимым – на 5 и 2% соответственно (p<0,001). В плазме крови, наоборот, чаще отмечали стимуляцию свободнорадикальных процессов, выявленные отличия между значениями интенсивности СРО и продуктов липопероксидации до и после сеанса были незначительны, исключение составили изменения концентрации МДА: возрастание происходило на 7% (56% случаев), снижение – на 13% (44% случаев) (p<0,001).

Таблица 3

Частота встречаемости отклонений параметров, характеризующих состояние про- и антиоксидантной систем, после сеанса ГБО (n=40)

Показатель	Увеличение, %	Снижение, %
ОАА	100	0
СОД	93	7
Каталаза	90	10
ГР	95	5
СРОэр.	40	60
МДАэр.	40	60
СРОпл.	63	27
ДК	60	40
МДАпл.	56	44

ОШ	60	40
----	----	----

Разделение показателей концентрации молочной кислоты как маркера гипоксии в зависимости от направленности изменений после сеанса ГБО выявило ряд особенностей. Так, статистически значимое снижение содержания глюкозы, МДАэр. и повышение активности ЛДГпр.сыв. происходили только тогда, когда отмечалось снижение уровня лактата. Повышение содержания этого метаболита сопровождалось тенденцией к росту концентрации диеновых конъюгатов с 0,662 (0,635; 0,805) мкмоль/л до 0,672 (0,65; 0,84) мкмоль/л ($p=0,02$). Корреляционный анализ выявил сопряженность изменений уровня глюкозы и активности лактатдегидрогеназы с изменениями отдельных показателей про- и антиоксидантного баланса (табл. 4).

Таблица 4

Взаимосвязь изменений показателей энергетического метаболизма и системы СРО-АОС в зависимости от изменений уровня лактата после ГБО

Направленность изменений уровня лактата после ГБО	Показатели	r	p
Снижение концентрации лактата	Глюкоза - ДК	0,57	0,01
	ЛДГпр.эр. - СОД	0,47	0,048
	ЛДГпр.эр. - ОАА	0,727	0,001
	ЛДГпр.эр. - ГР	0,63	0,005
	ЛДГобр.эр. - каталаза	0,53	0,03
	ЛДГобр.эр. - ГР	0,57	0,01
Повышение концентрации лактата	ЛДГобр.эр. - ОШ	0,69	0,001
	ЛДГобр.эр. - ГР	0,56	0,01

Проведенные исследования показали, что сеанс ГБО практически не оказывает влияния на большинство показателей рутинного биохимического анализа крови тяжелообожженных больных. Поскольку исследования были проведены практически сразу после сеанса ГБО, вполне вероятно, что отсутствие изменений может быть связано с недостаточным интервалом времени, необходимым для обеспечения ответных метаболических перестроек в организме пациента. Воздействие гипербарической оксигенотерапии оказало влияние на показатели энергетического обмена, связанные с утилизацией глюкозы. В патогенезе тяжелой термической травмы значительную роль играет развитие гипоксии, лабораторным маркером которой является повышение концентрации лактата. Причиной роста содержания этого

метаболизма является то, что при дефиците кислорода клетки переключаются на менее эффективный путь получения энергии – анаэробный гликолиз, продукт реакций которого – пируват – на фоне низкого напряжения O_2 не имеет возможности в дальнейшем вступать в реакции окислительного декарбоксилирования и превращается в лактат. Свой вклад в образование молочной кислоты вносит и гипоксией индуцибельный фактор 1 (HIF-1), который активирует лактатдегидрогеназу, катализирующую превращение пирувата в лактат [15]. В условиях гипоксии происходит ингибирование пируватдегидрогеназы, блокируется путь превращения пирувата в ацетилСоА, в результате чего становится невозможным его вступление в цикл трикарбоновых кислот. Кроме того, во время гипоксических состояний угнетается пируваткарбоксилаза, катализирующая превращение пирувата в оксалоацетат на пути глюконеогенеза. Еще одним источником лактата может являться повышенный при ожоговой болезни катаболизм белков, приводящий к высвобождению аминокислот, в том числе аланина, который превращается при участии аланинаминотрансферазы в пировиноградную и затем в молочную кислоту [16].

Изменения концентрации лактата после сеанса ГБО у обожженных больных происходили разнонаправленно. Уменьшение содержания молочной кислоты могло быть обусловлено снижением активности гликогенолиза и анаэробного гликолиза [17]. Образовавшиеся в результате воздействия гипероксии АФК могли ингибировать гликолитические ферменты. Угнетение гликолиза способствует метаболическому перепрограммированию на окислительный пентозофосфатный путь. Этот сдвиг приводит к увеличению выработки никотинамидадениндинуклеотидфосфата, который необходим для функционирования глутатионредуктазной/глутатионпероксидазной антиоксидантной защиты [18]. Подтверждением этому служит выявленное повышение активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и глутатионредуктазы после гипербарической оксигенации.

Полученные нами результаты, свидетельствующие о повышении концентрации лактата сразу после сеанса ГБО у других пациентов, согласуются с данными K.M. Fosen и S.R. Thom [19]. Авторы предполагают, что одной из причин возрастания уровня молочной кислоты также является активация свободнорадикальных процессов: чрезмерная генерация АФК и NO^\bullet вследствие гипероксии тканей может носить повреждающий характер и препятствовать протеканию реакций цикла трикарбоновых кислот и окислительного фосфорилирования. В ситуации, когда ткани больше не находятся под влиянием гипероксии, то есть после сеанса ГБО, повышенный вследствие активации аэробных реакций уровень никотинамидадениндинуклеотида (НАДН) может привести к обратному эффекту ЛДГ, катализирующей превращение пирувата и НАДН в лактат и $НАД^+$. В то же время увеличение количества АФК после ГБО может усилить активность HIF-1, регулирующего активность

ЛДГ, что также будет способствовать повышению уровня молочной кислоты [20]. Увеличение концентрации лактата может усиливать экспрессию генов провоспалительных цитокинов (IL-6 и HSP70), способствовать развитию ацидоза, ослаблять экспрессию супероксиддисмутазы, усиливать генерацию гидроксильного радикала в реакции Фентона, что в итоге может усугубить дисбаланс между про- и антиоксидантами. Положительные эффекты увеличения уровня лактата заключаются в активации ангиогенеза, синтеза гиалуроновой кислоты, коллагена, что стимулирует репарацию тканей [21].

Выявленное у тяжелообожженных больных снижение активности ЛДГ в сыворотке крови и эритроцитах свидетельствует о недостаточности энергетического метаболизма. Возрастание активности ЛДГ пр. в сыворотке крови после сеанса ГБО может быть связано с улучшением кислородообеспечения тканей. Однако нельзя исключать вероятность происхождения этого фермента из клеток вследствие негативного действия АФК, образовавшихся в результате гипероксии, хотя нами не было зафиксировано повышения активности АЛТ и АСТ как маркеров повреждения клеток. Несмотря на то что после сеанса ГБО изменения активности эритроцитарной ЛДГ были статистически значимыми, увеличение показателя было невелико и сопоставимо в прямой и обратной реакциях – в среднем на 5% в обоих случаях, что предполагало активацию энергетического обмена в клетке с сохранением равновесия в реакциях лактат \leftrightarrow пируват.

Учитывая зависимость энергетического обмена от свободнорадикальных процессов, изучение баланса между про- и антиоксидантами было необходимым этапом нашего исследования. Оценка состояния системы СРО-АОС у тяжелообожженных больных показала наличие окислительного стресса, о чем свидетельствовали повышенная активность свободнорадикальных процессов в плазме крови и эритроцитах, увеличение концентрации продуктов липопероксидации, сочетавшиеся со сниженной активностью как ферментативного, так и неферментативного звена антиоксидантов. Среди ферментов в наибольшей степени отмечалась недостаточность СОД – ключевого фермента, лимитирующего превращение супероксидного анион-радикала в другие АФК. Выявленные изменения являются закономерным процессом в патогенезе ожоговой травмы, оказывающим влияние на метаболические, воспалительные, гемокоагуляционные и другие нарушения [22]. Основными причинами дисбаланса между про- и антиоксидантами при ожоговой болезни являются гипоксия, нарушения кровообращения, эндогенная интоксикация и инфекция [23]. Логично предположить, что устранение гипоксии как патогенетического фактора развития окислительного стресса окажет влияние на баланс между про- и антиоксидантами. Одним из способов коррекции гипоксического состояния является гипербарическая оксигенация, однако ГБО может оказывать токсический эффект в случае усиления генерации АФК, не

компенсированного адекватной реакцией со стороны АОС защиты, что способно привести к усугублению окислительного стресса.

Анализируя полученные данные об изменениях в про- и антиоксидантной системах, можно предположить, что увеличение скорости потребления кислорода в результате действия ГБО привело к усилению СРО в эритроцитах в 40% случаев и в плазме в 60% случаев, что согласуется с данными, полученными F. Gürdöl и соавт. у больных с сахарным диабетом, свидетельствовавшими о росте концентрации МДА сразу после сеанса ГБО [24]. Увеличение количества АФК привело к ответной активации СОД, каталазы и глутатионредуктазы, вероятно, связанной с конформационными изменениями ферментных молекул. Повышение активности антиоксидантных ферментов в 60% случаев сопровождалось увеличением перекисной резистентности эритроцитов, снижением концентрации в них уровня МДА. Большая частота встречаемости усиления активности свободнорадикальных процессов и роста концентрации липопероксидации в плазме крови, чем в эритроцитах, свидетельствовала о ее более высокой чувствительности к действию кислорода. Тем не менее, при оценке изменений прооксидантного компонента плазмы крови до и после ГБО статистически значимой разницы между медианами показателей СРОпл. и концентрациями продуктов липопероксидации обнаружено не было, что, вероятно, связано с активацией АОС. Исключение составили те случаи, когда на фоне увеличения концентрации лактата происходил рост содержания диеновых конъюгатов, а также случаи увеличения концентрации МДА и ОШ, что свидетельствовало о наличии стимулирующего эффекта гипербарооксигенации на свободнорадикальные процессы. Следует также отметить, что даже при минимальных значениях показателей, характеризующих АОС, после сеанса ГБО не происходило истощения антиоксидантного резерва, наоборот, отмечалась его стимуляция.

Отсутствие статистически значимых корреляционных связей между изменениями уровня лактата и показателями, характеризующими процессы СРО и активность АОС защиты, по всей видимости, связано с тем, что механизмы изменений содержания молочной кислоты в результате ГБО регулируются сложным многокомпонентным взаимодействием различных факторов, требующим более глубокого изучения. Тем не менее, следует отметить, что тенденция к нормализации баланса между про- и антиоксидантами под влиянием ГБО способствует снижению свободнорадикального повреждения клеточных мембран и создает оптимальное микроокружение для мембранолокализованных ферментов, что обеспечивает повышение энзиматической активности лактатдегидрогеназы в прямой и обратной реакциях, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, снижение концентрации глюкозы и лактата.

Ограничением данной работы является то, что описанные изменения наблюдались только в краткосрочный период – непосредственно после ГБО (в течение 20 минут после

окончания сеанса). Вполне вероятно, что гипербарическая оксигенация запускает в организме каскад реакций, результат которых будет более заметен спустя некоторое время, когда будет адаптирована трансляционная регуляция и кумулятивный эффект низкоинтенсивного курсового воздействия гипербарооксигенации на изменения показателей крови будет более выражен. Влияние курса ГБО на биохимический статус тяжелообожженных больных в динамике лечения будет изучено и описано нами в дальнейших публикациях.

Заключение. Таким образом, воздействие гипербарической оксигенации, проводимой в ранние сроки после получения тяжелой термической травмы, отражается в период времени, следующий непосредственно за процедурой, в первую очередь на показателях энергетического метаболизма, про- и антиоксидантного звена гомеостаза и практически не оказывает влияния на показатели рутинного биохимического анализа крови (содержание глюкозы, общего белка, преальбумина, мочевины, креатинина, общего билирубина, холестерина, цинка, активность аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы, концентрацию С-реактивного белка). Учитывая выявленную после сеанса ГБО тенденцию к нормализации концентрации глюкозы, активности лактатдегидрогеназы в прямой и обратной реакциях, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в сыворотке крови и эритроцитах, а также активацию антиоксидантов и отсутствие ярко выраженного прооксидантного эффекта, можно сделать вывод о положительном адаптогенном эффекте гипербарической оксигенации. Обнаруженные изменения биохимических параметров свидетельствуют о влиянии ГБО на тонкое равновесие в окислительно-восстановительном гомеостазе, которое является необходимым условием для поддержания энергетического обмена и клеточного метаболизма в целом. Несомненно, положительным эффектом ГБО является выявленное превалирование стимуляции антиоксидантного звена над прооксидантным. Тем не менее, для предотвращения возможных негативных последствий воздействия гипероксии как дополнительного экзогенного источника активных форм кислорода у тяжелообожженных пациентов рекомендуется индивидуализация схемы ГБО-терапии под контролем состояния про- и антиоксидантного баланса, что позволит сделать ГБО более эффективной и безопасной.

Список литературы

1. Jeschke M.G., van Baar M.E., Choudhry M.A., Chung K.K., Gibran N.S., Logsetty S. Burn injury. Nat Rev Dis Primers. 2020. vol. 6. no 1. P.11. DOI: 10.1038/s41572-020-0145-5.

2. Hatibie M.J., Islam A.A., Hatta M., Moenadjat Y., Susilo R.H., Rendy L. Hyperbaric Oxygen Therapy for Second-Degree Burn Healing: An Experimental Study in Rabbits. *Adv Skin Wound Care*. 2019. vol. 32. no 3. P. 1-4. DOI: 10.1097/01.ASW.0000553110.78375.7b.
3. Wu Z.S., Wu S.H., Lee S.S., Lin C.H., Chang C.H., Lo J.J., Chai C.Y., Wu C.S., Huang SH. Dose-Dependent Effect of Hyperbaric Oxygen Treatment on Burn-Induced Neuropathic Pain in Rats. *Int. J. Mol Sci*. 2019. vol. 20. no 8. P. 1951. DOI: 10.3390/ijms20081951.
4. Mathieu D., Marroni A., Kot J. Tenth European Consensus Conference on Hyperbaric Medicine: recommendations for accepted and non-accepted clinical indications and practice of hyperbaric oxygen treatment. *Diving Hyperb Med*. 2017. vol. 47. no 1. P.24-32. DOI: 10.28920/dhm47.1.24-32.
5. Weitgasser L., Ihra G., Schäfer B., Markstaller K., Radtke C. Update on hyperbaric oxygen therapy in burn treatment. *Wien Klin Wochenschr*. 2021. vol. 133. no 3-4. P. 137–143. DOI: 10.1007/s00508-019-01569-w.
6. Alyafi T., Al-Marzouki A.H., Al Hassani A.N. Therapeutic Outcome of Burn Patients Treated With Hyperbaric Oxygen. *Cureus*. 2021. vol. 13. no 10. P. 18671. DOI: 10.7759/cureus.18671.
7. De Wolde S.D., Hulskes R.H., Weenink R.P., Hollmann M.W., Van Hulst R.A. The Effects of Hyperbaric Oxygenation on Oxidative Stress, Inflammation and Angiogenesis. *Biomolecules*. 2021. vol. 11. no 8. P. 1210. DOI: 10.3390/biom11081210.
8. Thom S.R. Oxidative stress is fundamental to hyperbaric oxygen therapy. *J. Appl Physiol* 2009. vol. 106. no 3. P.988-995. DOI: 10.1152/jappphysiol.91004.2008.
9. Chen W., Liang X., Nong Z., Li Y., Pan X., Chen C., Huang L. The Multiple Applications and Possible Mechanisms of the Hyperbaric Oxygenation Therapy. *Med Chem*. 2019. vol. 15. no 5. P. 459-471. DOI: 10.2174/1573406415666181219101328.
10. Сирота Т.В. Новый подход в исследовании процесса аутоокисления адреналина и использование его для измерения активности супероксиддисмутазы // Вопросы медицинской химии. 1999. Т. 45. № 3. С. 109-116.
11. Сибгатуллина Г.В., Хаертдинова Л Р., Гумерова Е.А. Методы определения редокс-статуса культивируемых клеток растений: учебно-методическое пособие. Казань: Казанский (Приволжский) Федеральный университет, 2011. 61 с.
12. Кочетов Г.А. Практическое руководство по энзимологии. М.: Высшая школа; 1980. 272 с.
13. Кузьмина Е.И., Ермолин С.В., Учугина А.Ф. Методы хемилюминесценции в изучении нарушений свободнорадикального процесса, его регуляции при ряде заболеваний мочеполовой системы // Нижегородский медицинский журнал. 1993. № 1. С. 8.

14. Хышиктуев Б.С., Хышиктуева Н.А., Иванов В.Н. Методы определения продуктов перекисного окисления липидов в конденсате выдыхаемого воздуха и их клиническое значение // Клиническая лабораторная диагностика. 1996. № 3. С. 13-15.
15. Thiele R.H. Subcellular Energetics and Metabolism: Potential Therapeutic Applications. *Anesth Analg.* 2017. vol. 124. no 6. P. 1872-1885. DOI: 10.1213/ANE.0000000000001865.
16. Bundgaard H., Kjeldsen K., Suarez Krabbe K., van Hall G., Simonsen L., Qvist J., Hansen C.M., Moller K., Fonsmark L., Lav Madsen P., Klarlund Pedersen B. Endotoxemia stimulates skeletal muscle Na⁺-K⁺-ATPase and raises blood lactate under aerobic conditions in humans. *Am J. Physiol Heart Circ Physiol.* 2003. vol. 284. no 3. P. 1028-1034. DOI: 10.1152/ajpheart.00639.2002.
17. Silva T.C., Aidar F.J., Zanona A.F., Matos D.G., Pereira D.D., Rezende P.E.N., Ferreira A.R.P., Junior H.A., Santos J.L.D., Silva D.D.S., Barbosa F.D.S., Thuany M., Souza R.F. The Acute Effect of Hyperoxia on Onset of Blood Lactate Accumulation (OBLA) and Performance in Female Runners during the Maximal Treadmill Test. *Int. J. Environ Res Public Health.* 2021. vol. 18. no 9. P. 4546. DOI: 10.3390/ijerph18094546.
18. Ushio-Fukai M., Ash D., Nagarkoti S., Belin de Chantemèle E.J., Fulton D.J.R., Fukai T. Interplay Between Reactive Oxygen/Reactive Nitrogen Species and Metabolism in Vascular Biology and Disease. *Antioxid Redox Signal.* 2021. vol. 34. no 16. P. 1319-1354. DOI: 10.1089/ars.2020.8161.
19. Fosen K.M., Thom S.R. Hyperbaric oxygen, vasculogenic stem cells, and wound healing. *Antioxid Redox Signal.* 2014. vol. 21. no 11. P. 1634-1647. DOI: 10.1089/ars.2014.5940.
20. Ortega M.A., Fraile-Martinez O., García-Montero C., Callejón-Peláez E., Sáez M.A., Álvarez-Mon M.A., García-Honduvilla N., Monserrat J., Álvarez-Mon M., Bujan J., Canals M.L. A General Overview on the Hyperbaric Oxygen Therapy: Applications, Mechanisms and Translational Opportunities. *Medicina (Kaunas).* 2021. vol. 57. no 9. P. 864. DOI: 10.3390/medicina57090864.
21. Zieker D., Schäfer R., Glatzle J., Nieselt K., Coerper S., Kluba T., Northoff H., Königsrainer A., Hunt T.K., Beckert S. Lactate modulates gene expression in human mesenchymal stem cells. *Langenbecks Arch Surg.* 2008. vol. 393. no 3. P. 297-301. DOI: 10.1007/s00423-008-0286-6.
22. Sterling J.P., Lombardi V.C. Decreasing the Likelihood of Multiple Organ Dysfunction Syndrome in Burn Injury with Early Antioxidant Treatment. *Antioxidants (Basel).* 2021. vol. 10. no 8. P. 1192. DOI: 10.3390/antiox10081192.
23. Nielson C.B., Duethman N.C., Howard J.M., Moncure M., Wood JG. Burns: Pathophysiology of Systemic Complications and Current Management. *J. Burn Care Res.* 2017. vol. 38. no 1. P.469-481. DOI: 10.1097/BCR.0000000000000355.

24. Grdl F., Cımşıit M., Oner-Iyidoėan Y., Krpınar S., Yalçinkaya S., Koçak H. Early and late effects of hyperbaric oxygen treatment on oxidative stress parameters in diabetic patients. *Physiol Res.* 2008. vol. 57. no 1. P. 41-47. DOI: 10.33549/physiolres.931139.