

ПЕРВЫЙ МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ  
УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.М. СЕЧЕНОВА МИНИСТЕРСТВА  
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ (СЕЧЕНОВСКИЙ  
УНИВЕРСИТЕТ)

*На правах рукописи*

Михалева Анастасия Юрьевна

**Влияние гипербарической оксигенации на функцию миокарда и уровни  
маркеров оксидативного стресса у крыс с сахарным диабетом I типа**

Научная специальность 3.3.3. Патологическая физиология

Диссертация  
на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

**Научный руководитель:**  
доктор медицинских наук, профессор  
Болевич Сергей Бранкович

Москва – 2024

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>ВВЕДЕНИЕ .....</b>	<b>4</b>
<b>ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР .....</b>	<b>15</b>
<b>1.1. Сахарный диабет .....</b>	<b>15</b>
1.1.1. Этиология и эпидемиология сахарного диабета .....	15
1.1.2. Сердечно-сосудистые осложнения при сахарном диабете.....	17
1.1.3. Лечение сахарного диабета.....	20
<b>1.2. Гипербарическая оксигенация.....</b>	<b>22</b>
1.2.1. История применения гипербарической оксигенации.....	22
1.2.2. Определение и физиологические принципы гипербарической оксигенации	23
1.2.3. Показания к применению гипербарической оксигенации .....	26
1.2.4. Противопоказания к применению гипербарической оксигенации.....	28
1.2.5. Побочные эффекты гипербарической оксигенации .....	29
<b>1.3. Гипербарическая оксигенация и сердечно-сосудистая система .....</b>	<b>32</b>
<b>1.4. Гипербарическая оксигенация и сахарный диабет.....</b>	<b>36</b>
<b>ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ .....</b>	<b>44</b>
<b>2.1. Материалы и методы.....</b>	<b>44</b>
<b>2.2. Мониторинг сердечной функции <i>ex vivo</i> .....</b>	<b>52</b>
<b>2.3. Статистический анализ .....</b>	<b>53</b>
<b>ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ .....</b>	<b>54</b>
<b>3.1. Уровень глюкозы крови у экспериментальных животных при моделировании сахарного диабета 1-го типа, получавших инсулин, гипербарическую оксигенацию и их сочетание .....</b>	<b>54</b>
<b>3.2. Определение уровней маркеров окислительного стресса.....</b>	<b>55</b>
3.2.1. Определение уровня супероксидного <i>анион-радикала</i> .....	55
3.2.2. Определение уровня перекиси водорода .....	56
3.2.3. Определение индекса перекисного окисления липидов .....	58
3.2.4. Определение уровня оксида азота.....	60
<b>3.3. Исследование особенностей коронарного кровообращения и кардиодинамических параметров сердца у экспериментальных животных..</b>	<b>63</b>

3.3.1. Определение максимальной скорости нарастания давления в левом желудочке ( $dp/dt \max$ ) у крыс-самцов в эксперименте .....	63
3.3.2. Определение минимальной скорости нарастания давления в левом желудочке ( $dp/dt \min$ ) у экспериментальных животных.....	65
3.3.3. Определение систолического давления в левом желудочке у экспериментальных животных при моделировании сахарного диабета и различных вариантах коррекции гликемии .....	67
3.3.4. Определение диастолического давления в левом желудочке у экспериментальных животных при моделировании сахарного диабета и различных вариантах коррекции гликемии .....	68
3.3.5. Определение частоты сердечных сокращений у экспериментальных животных с сахарного диабета и различными видами коррекции гликемии .....	70
3.3.6. Определение объема циркулирующей крови по кровеносным сосудам миокарда у экспериментальных животных при моделировании сахарного диабета и различных вариантах коррекции гликемии .....	71
<b>3.4. Исследование динамики изменения биомаркеров окислительного стресса в периферической крови у крыс с сахарным диабетом .....</b>	<b>73</b>
<b>ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ.....</b>	<b>78</b>
<b>ГЛАВА 5. ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....</b>	<b>84</b>
<b>ВЫВОДЫ .....</b>	<b>91</b>
<b>СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....</b>	<b>92</b>
<b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ .....</b>	<b>94</b>

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность темы исследования и степень ее разработанности

Сахарный диабет (СД) - группа гетерогенных заболеваний, в основе которых лежит абсолютная или относительная инсулиновая недостаточность. Наиболее важными являются 1-й и 2-й типы диабета. Инсулинозависимый 1-й тип СД (10–15% от общего числа больных) обусловлен абсолютной инсулиновой недостаточностью вследствие деструкции  $\beta$ -клеток поджелудочной железы. Обычно заболевание развивается по аутоиммунному механизму. Чаще встречающийся инсулинорезистентный СД 2-го типа характеризуется относительной инсулиновой недостаточностью, вызванной снижением чувствительности тканей к инсулину или нарушениями транспорта к ним инсулина. Деструкция  $\beta$ -клеток при этом не характерна.

Основными осложнениями хронического нарушения обменных процессов в организме при СД является развитие заболеваний, характеризующихся прогрессирующим нарушением функции всех клеточных структур, особенно в сосудистых стенках, сердце, почках, органах зрения и нервах [30, 35, 87, 126].

СД страдает более 400 миллионов человек. Это заболевание является причиной смерти 1,6 миллионов людей в год [7]. Основными органами-мишенями оказываются сердце, почки, глаза, нервы, кровеносные сосуды, головной мозг [35, 87, 126], что может вызывать развитие коматозных состояний, макро-, микроангиопатии, нефро-, нейро-, офтальмопатии и другие осложнения. Наиболее частым осложнением СД является развивающаяся у 50% больных сердечная недостаточность, которая приводит к смертности в 1-й год после постановки диагноза 30-40% пациентов, а через 5 лет этот показатель увеличивается до 40-60% [7, 65, 131, 167].

Перспективным и заведомо вспомогательным методом лечения СД является гипербарическая оксигенация (ГБО) [11]. Воздействие ГБО на клиническое течение диабета, особенно 1-го типа, до сих пор изучено недостаточно.

Соответствующие молекулярные механизмы известны еще хуже. Между тем установлено, что ГБО улучшает восстановление при таких сопутствующих СД ишемических состояниях, как церебральная ишемия, сочетанное ишемическое и реперфузионное повреждение, окклюзия центральной артерии сетчатки, заболевание периферических артерий, диабетическая гангрена стопы и другие сосудистые осложнения [11, 15, 16, 79, 142, 170, 171, 174, 176, 178]. ГБО способна снижать концентрацию глюкозы в крови у больных СД 2-го типа не менее чем на 20% [62, 118, 141, 178]. Также снижается уровни HbA1c (маркера воспаления), С-реактивного белка и резистентность к инсулину [62, 141]. Предполагается, что одним из механизмов таких эффектов является ослабление гипоксии жировой ткани и сопутствующих воспалительных реакций.

ГБО способствует улучшению микроциркуляции, усилению ангиогенеза, активирует антиоксидантную защиту, стимулирует пролиферацию фибробластов и синтез коллагена, приводит к подавлению воспалительных процессов, обладает антиатерогенным действием [78, 115]. Благодаря ГБО увеличивается выживаемость клеток в условиях гипоксии за счет улучшения митохондриального дыхания, происходит ингибирование апоптоза в  $\beta$ -клетках поджелудочной железы, нарушение адгезии лейкоцитов к сосудистой стенке, усиление их бактерицидного действия, а также снижение выраженности эндотелиальной дисфункции, что способствует стиханию воспаления и снижению развития сопутствующих сосудистых осложнений у больных, страдающих СД [11, 168, 185].

Предиктором злокачественных аритмий у больных СД 1-го и 2-го типов является синдром удлиненного интервала QT. Ежедневные в течение двух недель сеансы ГБО приводили к уменьшению удлиненного интервала QT [150]. Влияние ГБО на диастолическую функцию миокарда пациентов с сахарным диабетом изучали Aparci M. et al (2008). После 10 сеансов ГБО улучшались параметры диастолической функции по данным доплер-эхокардиографии. При этом систолическое и диастолическое артериальное давление, частота сердечных сокращений и эхокардиографические параметры левых желудочков достоверно не

изменились. Также ГБО улучшала релаксационную способность левого желудочка и динамику наполнения правого желудочка [104]. Предполагается, что ГБО имитирует ишемическое прекондиционирование миокарда с соответствующим уменьшением интенсивности воспалительных реакций и окислительного стресса.

Российские ученые пришли к выводу о наибольшей эффективности многократных курсов ГБО у больных с СД 1-го типа: снижается потребность в лекарственном инсулине, восстанавливается остаточная секреция инсулина, подавляется синтез глюкагона и гидрокортизона. Три курса ГБО-терапии, назначенные пациентам с СД 1-го типа с интервалом в 4 месяца, более эффективны, чем два курса с интервалом в 6 месяцев; при этом из трех процедур максимальный эффект достигается во время второго курса. Такая же закономерность воспроизводится при 2-м типе СД [18, 19].

Прерывистая терапия ГБО усиливает релаксацию сосудов, индуцированную ацетилхолином, у крыс с диабетом 1-го типа. Эффект реализуется через NO-сигнальный путь без изменений показателей окислительного стресса [109].

ГБО у больных СД 1-го типа может снижать концентрацию в крови маркеров окислительного стресса [18, 19, 101, 104, 109], являющегося одним из основных факторов, повреждающих ткани [41]. В то же время, продолжительное воздействие ГБО способно усугубить оксидативный стресс и усугубить агрессивность течения заболевания. Несмотря на это, на сегодняшний день отсутствуют комплексные исследования, которые могли бы оценить позитивные и токсические эффекты ГБО [5].

### **Цель исследования**

Выявить влияние гипербарической оксигенации, инсулинотерапии и их сочетанного применения на показатели оксидативного стресса и насосной функции сердца, при экспериментальном сахарном диабете 1 типа.

## **Задачи исследования**

1. Сопоставить гипергликемический эффект оксигенобаротерапии, инсулинотерапии и их сочетанного применения у крыс с сахарным диабетом 1 типа;
2. Изучить влияние гипербарической оксигенации, инсулинотерапии и их сочетанного воздействия на кардиодинамические показатели изолированного сердца крысы с сахарным диабетом 1 типа;
3. Выявить особенности влияния гипербарической оксигенации, инсулинотерапии и их сочетанного применения на показатели оксидативного стресса (маркеры прооксидантов) изолированного сердца крысы с сахарным диабетом 1 типа;
4. Выявить особенности влияния гипербарической оксигенации, инсулинотерапии, и их сочетанного применения на показатели оксидативного стресса (маркеры прооксидантов и антиоксидантов) в крови крыс с сахарным диабетом 1 типа;
5. Найти потенциальные молекулярные механизмы, действия гипербарической оксигенации на уровне глюкозы крови и показатели сердечной деятельности у крыс с сахарным диабетом 1 типа.

## **Научная новизна исследования**

- Впервые было показано благоприятное и с терапевтической точки зрения эффективное влияние гипербарической оксигенации на кардиодинамические параметры и сократимость миокарда у крыс с сахарным диабетом 1 типа.
- Впервые было зарегистрировано положительное влияние гипербарической оксигенации на изменение коронарного кровообращения у крыс с сахарным диабетом 1 типа.
- Впервые было выявлено, что гипербарическая оксигенация снижает в ткани миокарда животных с сахарным диабетом 1 типа содержание прооксидантных

факторов: супероксидного анион радикала и перекиси водорода, инициирующих процесс липопероксидации, продукты которого оказывают значительный цитотоксический эффект. Это означает наличие у гипербарической оксигенации существенного антиоксидантного кардиопротективного эффекта.

- Впервые было зарегистрировано что, применение гипербарической оксигенации обеспечивало увеличение эффективности антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутазы, каталазы и глутатионпероксидазы). Это позволяет рекомендовать гипербарическую оксигенацию для снижения степени альтерации сердца при сахарном диабете 1 типа.

- Впервые обоснован терапевтический эффект гипербарической оксигенации на сердце у крыс с сахарным диабетом 1 типа через фармакокинетическое действие кислорода, кислородно-зависимый ответ миоцитов (митохондрий) и гомеостатическое действие на функцию других органов.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Функциональные показатели сердечной деятельности при сахарном диабете 1-го типа улучшаются после терапевтического воздействия ГБО. Молекулярные механизмы этого эффекта сопряжены с активацией компонентов антиоксидантной системы и ослаблением оксидативного стресса. Сочетание инсулинотерапии с сеансами ГБО вызывает аддитивный эффект по снижению уровня оксидативного стресса при СД 1-го типа, что может иметь клиническое значение. Результаты исследования следует учитывать при использовании гипербарической оксигенации в качестве вспомогательного метода лечения сахарного диабета.

Фактические данные диссертационного исследования и теоретические заключения, сделанные на их основе, включены в материалы для преподавания (лекции, занятия и др.) и используются при обучении студентов, подготовке ординаторов, аспирантов и слушателей на кафедрах патологической физиологии Института цифрового биодизайна и моделирования живых систем, а также на

кафедре физиологии медицинского факультета университета г. Крагуевац (Сербия).

### **Методология и методы исследования**

Для изучения влияния гипербарической оксигенации на функцию миокарда и уровни маркеров оксидативного стресса у крыс с сахарным диабетом I типа, индуцированным инъекцией стрептозотоцина, использовались 24 здоровые крысы линии Wistar albino мужского пола в возрасте 8 недель с массой тела 200–250 г.

Подопытные животные были разделены на 4 группы по 6 особей: получавшие инсулинотерапию, лечение ГБО, комбинированное лечение (инсулинотерапию совместно с ГБО) и группу контроля (не подвергавшиеся лечению).

Для мониторинга уровня гликемии экспериментальным животным с сахарным диабетом I типа вначале подкожно вводили по 5 ЕД/сут экзогенного ДНК-рекомбинантного инсулина человека пролонгированного действия. Для поддержания нормогликемии (от 60 до 150 мг/дл) инсулинотерапия проводилась в течение 24 часов и затем корректировалась для каждого животного в зависимости от его уровня гликемии в среднем каждые 3 дня (от 3 до 5 ЕД/сут).

Протокол ГБО терапии: на экспериментальных крыс воздействовали 100% кислородом при 2,8 АТМ 1 раз в сутки в течение 1 часа 5 дней в неделю в течение 2-х недель.

Перед выведением исследуемых животных из эксперимента им вводили кетамин с ксилазином, после чего производилась декапитация с использованием гильотины для мелких экспериментальных животных, сразу после чего брали образцы цельной крови и проводили спектрофотометрическое определение биомаркеров окислительного стресса и мониторинг сердечной функции *ex vivo* с использованием аппарата Лангендорфа.

При экспериментальной работе соблюдались положения предписанных актов (EU Directive for the Protection of the Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes 86/609 / EES) и принципы этики.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием статистического пакета IBMSPSS версия 26.0.

### **Основные научные результаты**

Монотерапия инсулином экспериментальных крыс с инсулинозависимым сахарным диабетом сопровождается увеличением содержания как прооксидантов, так и антиоксидантов [11]. Количественные изменения биомаркеров окислительного стресса показали, что уровни супероксидного анион-радикала, пероксида водорода, малонового диальдегида, оксида азота в группах лечения 2, 3, 4 имеют тенденцию к снижению в сравнении с 1-й группой животных с сахарным диабетом. Наиболее заметное статистически значимое снижение наблюдалось в 3-й и 4-й группах, где лечение проводилось СД+ИНС+ГБО и СД+ГБО, соответственно [5]. ГБО способствует восстановлению исходной активности перекисного окисления липидов за счёт изменения уровней изучаемых прооксидантов (в основном за счёт снижения) и повышения уровней антиоксидантов (за счёт их повышения), что согласуется с данными профессиональной литературы [5, 11]. Монотерапия ГБО снижает содержание супероксидного анион-радикала и пероксида водорода, не влияет на уровень малонового диальдегида и снижает уровень диоксида азота, при этом наблюдается активация супероксиддисмутазы и каталазы при сохранении уровня восстановленного глутатиона [5].

С точки зрения компенсации диабета повторные курсы ГБО в течение года снижают потребление инсулина, восстанавливают остаточную секрецию инсулина и подавляют выделение таких контринсулярных гормонов, как глюкагон, соматотропный гормон и гидрокортизон. Эффективнее проводить пациентам с инсулинозависимым диабетом три курса ГБО с интервалом в четыре месяца, чем два курса с интервалом в шесть месяцев; однако при трехкурсовой методике максимальное благоприятное воздействие ГБО на гормонально-метаболический статус достигается только во время второго курса, а третий курс

лишь усиливает уже достигнутый эффект. Комбинированное лечение ГБО и экзогенным ДНК-рекомбинантным инсулином человека пролонгированного действия продемонстрировало не только благоприятное влияние на коронарный окислительный статус, но и положительное воздействие на кардиодинамику изолированного сердца крыс. Систолическое давление в левом желудочке и величина максимальной скорости нарастания давления в левом желудочке – два кардиодинамических параметра, характеризующих систолическую функцию, а параметры величины минимальной скорости нарастания давления в левом желудочке и диастолического давления в левом желудочке связаны с диастолической функцией сердца; все четыре указанных кардиодинамических параметра, а также коронарный кровоток улучшились в группе крыс, получавших комбинированное лечение (СД+ИНС+ГБО) [71].

### **Личный вклад автора**

Автор является ключевой фигурой, участвовавшей в выборе направления исследования, формулировании его цели и задач, а также в анализе и обобщении полученных фактических данных. Также он занимался подготовкой обзора отечественной и зарубежной литературы по теме исследования.

В диссертации автор описывает проведенные лабораторные исследования, как был произведен анализ и статистическая обработка полученных данных, обобщает, формулирует и научно обосновывает результаты, приводит выводы, подчеркивающие теоретическую и практическую значимость работы и рекомендации, основанные на её итогах. Более того, он занимался подготовкой научных публикаций и докладов, а также их внедрением в практику.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Терапевтические сеансы ГБО улучшают показатели насосной функции сердца при экспериментальном сахарном диабете 1-го типа. Этот эффект может оказаться сопоставим с аналогичным влиянием инсулинотерапии.
2. Сочетанное применение инсулинотерапии и ГБО наиболее эффективно улучшает кардиологические функциональные показатели по сравнению с каждым видом терапии в отдельности.
3. Терапевтические сеансы ГБО, как и инсулинотерапия могут снижать чрезмерно высокую активность прооксидантов, характерную для сахарного диабета 1-го типа. При совместном применении ГБО и инсулинотерапии возможен аддитивный эффект.
4. Молекулярные механизмы улучшения функциональных кардиологических показателей после сеансов ГБО, инсулинотерапии и их сочетанного применения сопряжены с активацией антиоксидантной системы с соответствующим снижением активности прооксидантов.

### **Соответствие диссертации паспорту научной специальности**

Научные положения диссертации соответствуют паспорту специальности 3.3.3. – патологическая физиология. Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, конкретно пунктам 1 и 4 паспорта специальности.

### **Степень достоверности и апробация результатов диссертации**

Достоверность результатов диссертационного исследования основана на репрезентативной выборке из 24 крыс, разделенных на 4 группы по 6 особей в каждой. Статистическая обработка и сравнительный анализ собранных данных проводились следующим образом: 1) для описания отдельных параметров

использовались абсолютные значения, их процентные соотношения, средние значения выборки, медиана и стандартное отклонение, ранжирование и доверительные интервалы 95%; 2) для проверки нормальности распределения применялись тесты Колмогорова, Смирнова и Шапиро-Уилка; 3) для выявления различий между показателями использовались t-критерий Стьюдента, парный t-критерий, критерий Манна-Уитни, критерий абсолютной вероятности Фишера, а также однофакторный или двухфакторный дисперсионный анализ. При тестировании значимости разницы между параметрами в случае нескольких подгрупп применялся тест Бонферрони. С целью оценки нормальности распределения использовали тесты Kruskal Wallis и Tukey post hoc test для сравнения изменений в процентах между группами. Достоверными считали различия при уровне  $p < 0,05$ . Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием статистического пакета IBMSPSS версия 26.0.

Первичная документация диссертации была проверена комиссией, созданной распоряжением проректора по научно-исследовательской работе ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) доцента Д.В. Бутнару, распоряжение от 17 ноября 2020 года № 270.

Материалы диссертации используются в работе сотрудников института и кафедры физиологии факультета медицинских наук университета г. Крагуевац (Сербия), кафедры патологии человека ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), а также в учебном процессе на занятиях и лекциях кафедры патологии человека и кафедры патофизиологии Сеченовского Университета.

Апробация результатов исследования прошла на совместной научно-методической конференции сотрудников кафедры патологической физиологии Института цифрового биодизайна и моделирования сложных систем и кафедры физиологии факультета медицинских наук университета г. Крагуевац (Сербия), которая состоялась 26 ноября 2020 года.

### **Публикации по теме диссертации**

По теме диссертации опубликовано 5 печатных работ, в том числе:

- Научных статей, отражающих основные результаты диссертации – 2 статьи,  
из них:

- в изданиях из Перечня Университета/Перечня ВАК при Минобрнауки – 1  
статья, в журналах, включенных в международные базы: Scopus – 1 статья;

- Обзорных статей – 1 (в изданиях из Перечня Университета/Перечня ВАК при  
Минобрнауки);

- В иных изданиях - 2 тезиса.

### **Объем и структура диссертации**

Диссертация изложена на \_114\_ страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов исследования и их обсуждения, заключения. Список литературы содержит \_186\_ источников, из них \_20\_ отечественных и \_166\_ зарубежных авторов. Работа иллюстрирована \_13\_ рисунками и содержит \_3\_ таблицы.

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1. Сахарный диабет

#### 1.1.1. Этиология и эпидемиология сахарного диабета

Сахарный диабет (СД) относится к группе гетерогенных заболеваний, характеризующихся нарушением углеводного обмена, в результате чего происходит нарушение утилизации тканями глюкозы, что вызывает увеличение ее концентрации в крови. Основными осложнениями хронического нарушения обменных процессов в организме при СД является развитие заболеваний, характеризующихся прогрессирующим нарушением функции всех клеточных структур, особенно в сосудистых стенках, сердце, почках, органах зрения и нервах [30, 87, 126]. По данным Всемирной организации здравоохранения, 422 миллиона человек во всем мире страдают от сахарного диабета. Ежегодно причиной смерти 1,6 миллионов человек напрямую является сахарный диабет [7]. Статистические данные International Diabetes Federation еще более неутешительны: на 2021 год было зафиксировано 537 миллионов больных с верифицированным СД [120]. В дополнение к этому огромное количество больных имеют преддиабет. Так, например, в Соединенных Штатах Америки он диагностирован у приблизительно 86,1 миллионов взрослых. Эти данные свидетельствуют о постоянном глобальном росте числа больных и распространенности диабета в течение последних нескольких десятилетий. В связи с тем, что развивающиеся при СД осложнения приводят к поражению практически всех тканей в организме, он остается лидирующей причиной развития высокой смертности от сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ), почечной недостаточности, а также инвалидизации больных из-за частого инфицирования любых ран и нарушения кровообращения, что провоцирует необходимость проведения ампутации конечностей и полную потерю зрения. Кроме того, ранняя диагностика сахарного диабета 2-го типа (СД2 или

инсулиннезависимый сахарный диабет) у подростков и молодых лиц (до 40 лет) связана с более агрессивной формой заболевания, а также с преждевременным развитием тяжелых осложнений. Этот прогрессивный рост распространенности СД, особенно СД2, связан с несколькими причинами: старением населения, малоподвижным образом жизни, плохо контролируемым уровнем глюкозы, курением и увеличением количества больных с ожирением. Ожирение выделяется самым важным фактором риска развития СД2, уровень которого значительно увеличился за последние несколько десятилетий. Однако, известно, что такая форма сахарного диабета, помимо ожирения, сопровождается нарушением секреции инсулина, обусловленную дисфункцией  $\beta$  - клеток поджелудочной железы, что и провоцирует развитие диабета.

Нарушение секреции инсулина при СД может иметь различную этиологию. Согласно новым рекомендациям, СД можно разделить на несколько общих категорий:

1) Сахарный диабет 1-го типа (СД1 или инсулинозависимый диабет), в основе которого лежит аутоиммунное разрушение  $\beta$  - клеток поджелудочной железы, что как правило заканчивается развитием абсолютной инсулиновой недостаточности.

2) Сахарный диабет 2-го типа (СД2 или инсулиннезависимый диабет), характеризуется нарушением секреции инсулина  $\beta$  - клетками, и часто сопровождается инсулинорезистентностью.

3) Гестационный СД (впервые выявляющийся во время беременности во втором или третьем триместре, но не верифицированной до её наступления).

4) Специфические типы СД различной этиологии, такие как, моногенные формы диабета (неонатальный и ювенильный диабет, при заболеваниях экзокринной части поджелудочной железы (например, при муковисцидозе или панкреатите) и диабет, индуцированный лекарствами или химическими препаратами (например, при применении глюкокортикоидов, лечении ВИЧ инфекции или после проведения трансплантации органов) [30].

Клиническая картина и течение болезни при СД1 и СД2 могут очень сильно различаться, что проявляет гетерогенность самого заболевания. Адекватная

классификация имеет решающее значение для определения терапии, но существуют случаи, когда нельзя четко классифицировать заболевание как СД1 или СД2 при установлении диагноза. В последнее время традиционное представление о том, что СД1 чаще встречается у детей, а СД2 у взрослых, не совсем верно, учитывая, что оба типа заболевания встречаются в разных возрастных группах [30]. У пациентов детской возрастной группы, страдающих СД1, нередко встречаются такие симптомы, как полиурия и полидипсия, а в 1/3 случаев ранним осложнением болезни является развитие диабетического кетоацидоза [117]. В то же время у взрослых пациентов при дебюте СД1 симптоматика может быть представлена разными проявлениями: могут отсутствовать классические симптомы и даже развиваться временная ремиссия болезни [117, 182]. Поэтому классификация СД периодически пересматривается и модифицируется, т. к. вариабельность симптомов может приводить к неверной трактовке типа диабета и, соответственно, установление неверного диагноза приводит к неэффективному лечению. При всех типах СД причиной гипергликемии становится прогрессирующая гибель  $\beta$ -клеток поджелудочной железы и /или нарушение их функции, что происходит под влиянием различных факторов, как генетических, так и факторов окружающей среды. Поэтому у больных с разными типами СД часто встречаются одинаковые хронические осложнения, различие может заключаться лишь в темпах их прогрессирования [49].

Принимая во внимание все эти факты и опубликованные к этому времени статистические данные, жизненно важно выявить основные причины развития СД и его осложнений, чтобы лучше и эффективнее разработать стратегии терапевтического вмешательства при этом заболевании.

### **1.1.2. Сердечно-сосудистые осложнения при сахарном диабете**

Роковыми последствиями СД являются развитие поражения мелких кровеносных сосудов (микроангиопатий), например, диабетической ретинопатии,

невропатии, нефропатии; и макроангиопатий, в результате которых патологические изменения затрагивают крупные кровеносные сосуды. Макрососудистые осложнения представляют собой агрессивное течение атеросклеротических процессов, которые значительно повышают риск развития инфаркта миокарда, инсульта и гангрены стопы (диабетическая стопа) [125].

Как показали длительные исследования разных профильных специалистов, у больных, страдающих СД, в 50% случаев из всех сопутствующих заболеваний встречается сердечная недостаточность. Неоспоримым является факт худшего прогноза и низкой выживаемости больных с сердечной недостаточностью и СД, нежели без него. Благодаря многолетним клиническим исследованиям было выявлено, что около 30–40% таких пациентов погибает в 1-й год после выставления диагноза, а через 5 лет этот показатель возрастает до 40-60%, что, как правило, вызвано возникновением желудочковых аритмий и рефрактерной сердечной недостаточностью [65, 131]. Классификация хронической сердечной недостаточности (ХСН) - NYHA (классификация выраженности ХСН Нью-Йоркской кардиологической ассоциации) предоставляет полезную прогностическую информацию для каждого отдельного пациента. По классификации NYHA, годовая смертность составляет 30–70% на пациентов с IV стадией, 5–10% на пациентов со II стадией [28]. Интересно, что у людей с сочетанием СД и сердечной недостаточности фракция выброса в равном количестве случаев может быть как сохранена, так и снижена [169]. Существует прямая связь между степенью нарушения обмена веществ при СД и прогрессированием ХСН, поэтому нередко ее развитие начинается уже на этапе преддиабета. Поэтому в базовую терапию больных с СД и сердечной недостаточностью необходимо включать препараты для коррекции гипергликемии и сердечной недостаточности одновременно. Схемы лечения больных с сердечной недостаточностью и СД, блокада РААС (ренин – ангиотензин - альдостероновой системы), кардиоселективная блокада  $\beta$ -адренорецепторов, блокада минералокортикоидных рецепторов, одинаковы, как и у больных без СД, хотя клинические результаты не настолько благоприятны.

Считается, что новые ингибиторы рецепторов ангиотензина / неприлизина лучше влияют на исходы, встречающиеся у пациентов с СД и сердечной недостаточностью, чем без первого [37].

Артериальная гипертензия идет «рука об руку» с СД2. Так, у больных с СД она встречается в 2 раза чаще, чем без него. Зафиксировано, что у больных с артериальной гипертензией чаще, чем у людей с нормальным артериальным давлением встречается резистентность к инсулину, из-за чего вероятность развития СД у них выше. ССЗ, осложняющиеся развитием гипертонической болезни, сохраняют лидерство среди причин заболеваемости и высокой смертности больных с СД. В генезе и СД, и гипертензии прослеживаются единые факторы риска: формирование эндотелиальной дисфункции, наличие воспалительных процессов в сосудистой стенке, усугубляющиеся ремоделированием артерий, развитие атеросклероза, дислипидемии и ожирения. То же самое прослеживается на этапе манифестации сердечно-сосудистых осложнений при этих нозологиях [11, 125]. Наиболее вероятной причиной таких совпадений может быть единство механизмов активации РААС, окислительного стресса, иммунной системы, развития воспаления, что упрочняет связь между СД и гипертензией. Такие сосудистые механизмы, как окислительный стресс, воспаление, активация иммунной системы и микроРНК, встречаются при обеих болезнях. Таким образом, повреждение сосудов и эндотелиальная дисфункция, формирующее и при СД, и при артериальной гипертензии, усиливают влияние друг на друга [11, 140]. Поэтому прием гипогликемических препаратов и их эффекты рассматриваются как важный клинический фактор, влияющий на стабилизацию артериального давления [11, 125]. Тиазолидиндионы, относящиеся к агонистам PPAR- $\gamma$  (рецепторов, активируемых пероксисомным пролифератором гамма), обладают нейтральным или слегка положительным эффектом на показатели артериального давления [11, 43]. На данном этапе нет четкого понимания следующих вопросов: как влияет лекарственная коррекция уровня гликемии на частоту возникновения ССЗ и какова вероятность положительного влияния побочных и нежелательных реакций со стороны

сердечно-сосудистой системы, развивающихся при приеме гипогликемических препаратов, на соотношение польза/риск в развитии ССЗ [84, 132]?

### 1.1.3. Лечение сахарного диабета

Лечение СД начитается с изменения привычек и образа жизни пациента, так как чаще всего его развитие вызвано неправильным питанием больных, и рекомендуется контроль массы тела с увеличением физической активности согласно общему состоянию [7, 31, 120]. Далее решается вопрос о проведении лечения с помощью лекарственных препаратов. На этапе проведения фармакотерапии назначение лекарственных средств должно быть постепенным, с учетом индивидуальной реактивности, эффективности коррекции уровня гликемии, дополнительной потенциальной пользы, режима дозирования и экономической целесообразности применения тех или иных препаратов [7, 120, 83].

Так как при СД1 наблюдается абсолютная инсулиновая недостаточность, ведущим способом ее коррекции является введение инсулина [7, 11, 83, 119, 120, 185]. Если при СД2 пероральные гипогликемические препараты не способны нормализовать уровень глюкозы крови и HbA1c (гликированного гемоглобина или гликогемоглобина (A1c)), то возможна как монотерапия инсулином, так и сочетанное с пероральными гипогликемическими средствами назначение [11]. Инсулинотерапию чаще всего начинают с введения базального инсулина с разовой суточной дозой 0,1–0,2 Дж/кг массы тела. У пациентов с более высокими эпизодами гипергликемии (HbA1c >9,0 %) в дополнение к базальному инсулину перед едой можно вводить двухфазный или прандиальный инсулин в разовых индивидуальных дозах в зависимости от суточного гликемического профиля [45].

Наиболее назначаемым и безопасным противодиабетическим препаратом из пероральных гипогликемических средств, представляющим группу бигуанидов, является метформин. Он применяется у людей с ожирением и избыточной массой тела. Метформин по-прежнему остается препаратом выбора для монотерапии, так

как повышает чувствительность тканей к инсулину, способствует поступлению глюкозы в клетки периферических тканей и подавляет глюконеогенез в печени [129]. Метформин может способствовать потере веса и, как было показано в некоторых работах, снижению в сыворотке крови уровней триглицеридов, холестерина и липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) [54]. Через определенное время метформин становится недостаточно эффективным фармакологическим средством в процессах гликорегуляции. Все необязательные пероральные фармакологические средства в сочетании с оптимальной дозой метформина оказывают примерно одинаковый терапевтический эффект, снижая значения HbA1c в среднем примерно на 0,8–2,2%, но с различными последствиями для изменения массы тела и склонности к гипогликемическим состояниям [45, 155]. Комбинация двойной терапии метформином и производными сульфонилмочевины является одной из наиболее распространенных. Вместе они способствуют более эффективному метаболическому контролю и снижению HbA1c на 0,8–1,5%. Производные сульфонилмочевины усиливают эндогенную секрецию инсулина  $\beta$ -клетками поджелудочной железы, однако они не имеют долговременного защитного действия на функцию  $\beta$ -клеток и могут ускорять истощение и гибель  $\beta$ -клеток [166].

Тиазолидиндионы являются активаторами  $\gamma$ -рецепторов пролифератором пероксисом, что способствует улучшению чувствительности к инсулину в адипоцитах, сердечной мышце и печени [63]. При резистентности к инсулину у пациентов с СД2 использование тиазолидиндионов дает стойкий эффект до 5 лет [24]. Распространенным побочным эффектом является увеличение веса. Однако, чем больше прибавка веса, тем больше снижение уровня HbA1c, а также восстановление функции  $\beta$ -клеток и их чувствительности к инсулину [179]. Комбинация метформина и одного из препаратов из группы тиазолидиндионов приводит к значительному снижению показателей HbA1c, повышению уровня чувствительности тканей к инсулину и, таким образом, приводит к улучшению секреторной роли  $\beta$ -клеток поджелудочной железы [159].

Ингибиторы дипептидилпептидазы-4 (ДПП-4 или глиптины) действуют путем ингибирования одноименного фермента. Ингибирование этого фермента отвечает за задержку инактивации инкретиновых гормонов, таких как глюкагоноподобный пептид-1 (ГПП-1, GLP-1 Glucagon-like peptide-1) и гастроингибирующий пептид (ГИП), которые участвуют в физиологической регуляции гомеостаза глюкозы [163]. ГПП-1 и ГПП-2 побуждают  $\beta$ -клетки поджелудочной железы к синтезу инсулина, а ГПП-1 изолированно обладает эффектом снижения секреции глюкагона  $\alpha$ -клетками поджелудочной железы [139]. Эти эффекты в совокупности приводят к улучшению гликемического контроля у людей с СД2.

Использование аналогов ГПП-1 в основном представляет собой терапию на основе инкретинов. Это приводит к увеличению секреции инсулина глюкозозависимым образом, снижает секрецию глюкагона, и в конечном счете, подавляет выработку глюкозы в печени [55]. Стойкое снижение HbA1c может наблюдаться до трех лет. Хотя аналоги ГПП-1 не так хорошо переносятся пациентами, как ингибиторы ДПП4, они приводят к лучшему снижению уровня HbA1c и способствуют снижению массы тела [165].

## **1.2. ГИПЕРБАРИЧЕСКАЯ ОКСИГЕНАЦИЯ**

### **1.2.1. История применения гипербарической оксигенации**

История гипербарической медицины начинается в 1662 году, когда британский врач Натаниэль Хеншоу построил первую барокамеру. В отличие от современных барокамер, в первых камерах вместо чистого кислорода использовался сжатый воздух, так как считалось, что кислород оказывает токсическое действие [82].

Кислород был впервые открыт в 1775 году английским ученым Джоном Пристли, и сегодня это открытие является основой в применении гипербарической терапии. В 1789 г. Лавуазье и Сеген сообщили о токсическом действии концентрированного кислорода, тем самым поставив под сомнение использование кислорода в гипербарической медицине. В 1878 году Пол Берт

более точно описал токсическое воздействие кислорода на центральную нервную систему, проявлявшееся в виде судорог. Несмотря на мнение, что избыток кислорода токсичен, в 1887 г. Арнциус проанализировал литературу и зафиксировал около 300 статей, посвященных применению гипербарической оксигенации. Таким образом он показал, что интерес к применению гипербарической оксигенации (ГБО) был выраженным в достаточно значительной мере [86, 121, 122].

За это время было построено несколько исторических барокамер. Первая барокамера в Северной Америке была создана в 1860 году в Канаде. А первая камера в США появилась в 1861 году в Нью-Йорке. Самая известная и широко используемая барокамера в США была оборудована для Каннингема в 1921 г., а к 1925 г. она стала единственной в мире камерой-операционной [52].

В бывшей Югославии первая барокамера была установлена в 1933 году, но из-за многочисленных технических проблем так и не была введена в эксплуатацию. В институте военно-морской медицины ВМС ЮНА (Сплит, Хорватия) в 1969 г. начала действовать большая рекомпрессионная камера для регулярного применения гипербарического кислорода в клинических целях [186].

Расцвет гипербарической медицины приходится на 1937 год: впервые Benhke и Shaw документально подтвердили успешность лечения декомпрессионной болезни с помощью гипербарического кислорода [67, 153]. На сегодняшний день ГБО активно применяется в лечении многих заболеваний, например, при отравлениях угарным газом, для купирования различных инфекций, репарации повреждений, в том числе у больных с СД. Достижения гипербарической медицины неуклонно растут, что расширяет показания к использованию ГБО [11, 162].

### **1.2.2. Определение и физиологические принципы ГБО**

Гипербарическая оксигенация относится к лечебно-диагностическим методам, характеризующимся созданием специализированных условий для больного,

которые позволяют вдыхать 100% чистый кислород под давлением выше атмосферного. В практической деятельности для лечебных целей как правило используется атмосферное давление более 1,5 абсолютных атмосфер (АТМ) (152 кПа). Применяются следующие стандартные схемы назначения ГБО: под атмосферным давлением 2,0–2,8 АТМ (203–284 кПа) человек находится в течение 60–120 минут один или два раза в день. Это позволяет снизить риск развития побочных эффектов от ГБО при максимальном достижении терапевтического эффекта [11, 31, 38].

Влияние ГБО на организм связано с газовыми законами и физиологическими и биохимическими эффектами самой гипероксии [11, 102, 114]. Утверждение закона Бойля, постоянная температура, давление и объем газа обратно пропорциональны. Это является основой для многих аспектов гипербарической терапии, включая небольшое повышение температуры в камере. Во время проведения лечения развивается явление, известное как «сдавливание», возникающее из-за того, что заблокированные евстахиевы трубы препятствуют выравниванию давления газа, а это приводит к появлению болезненной реакции на сжатие газа в среднем ухе. Закон Дальтона выражается в том, что в смешанном газе каждый элемент оказывает давление, пропорциональное его доле во всем объеме (парциальное давление) [183].

Эффекты применения ГБО также основаны на законе Генри: количество газа, растворенного в жидкости или ткани, пропорционально парциальному давлению этого газа, находящегося в контакте с жидкостью или тканью. Закон Генри можно применить к жидкостям тела и кислороду: степень физически растворенного газа в жидкостях тела прямо пропорциональна парциальному давлению кислорода, которому подвергается эта жидкость. Из этого следует, что пропорционально увеличению количества кислорода, которому подвергается пациент, увеличивается количество растворенного газа, т. е. содержание кислорода в жидкостях организма растет. В этом случае доступ кислорода к тканям значительно увеличивается, и он может диффундировать из плазмы крови,

достигая ишемизированных тканей и каждой их клетки независимо от степени развития патологических процессов в стенках кровеносных сосудов [8, 46, 183].

Доставка кислорода из крови к клеткам осуществляется двумя способами: первый заключается в транспорте его в соединении с гемоглобином, находящимся в эритроцитах, второй в растворенном в плазме состоянии. Воздействие ГБО обусловлено вытеснением пузырьков газа из плазмы и увеличением парциального давления кислорода в альвеолах. Этот процесс приводит к возрастанию объема растворенного кислорода, доставляемого кровью, что позволяет усиливать насыщение им ишемизированные ткани. Таким образом, увеличение показателей, отражающих количество переносимого с кровью кислорода, способствует поддержанию клеточного дыхания и возможности образования аденозинтрифосфата (АТФ) в ишемизированной / гипоксической ткани [11]. Доказано, что основные эффекты ГБО связаны с ее механическим воздействием на ткани благодаря повышенному давлению и изменением уровня функционирования физиологических систем организма [11, 90].

Биохимический аспект применения ГБО объясняется активацией механизма, ответственного за управляемое образование активных форм кислорода (АФК) и азота [11, 21, 29, 59, 76, 127, 160, 180, 181]. В результате этого происходит увеличение количества различных факторов роста и их рецепторов, активизация стволовых клеток / клеток-предшественников костного мозга, функциональные изменения в эффектах интегрин (снижается адгезия нейтрофилов) и хемокинов, синтезируемых моноцитами, а также гемоксигеназы-1, белков теплового шока и фактора, индуцируемого гипоксией 1 (Hypoxia-inducible factor 1-alpha, HIF-1), что приводит к стиханию воспалительных процессов [11].

Таким образом, ГБО способствует нивелированию негативных последствий патологических процессов, в которых воспаление и ишемия занимают лидирующее значение, что наблюдается, например, при хронических ранах [76, 162, 183] (Рисунок 1).

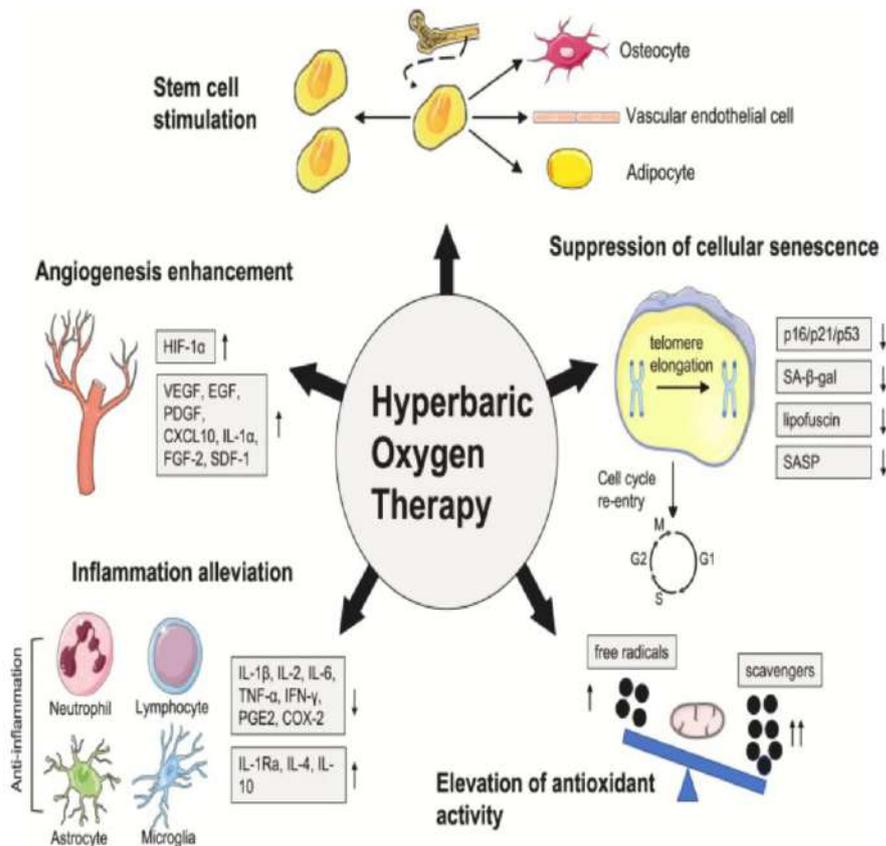


Рисунок 1 – Биохимические основы гипербарической оксигенации

### 1.2.3. Показания к применению гипербарической оксигенации

Первоначально гипербарическая терапия была разработана для лечения декомпрессионной болезни и побочных эффектов дайвинга. Однако на сегодняшний день преимущества ГБО позволяют использовать ее в качестве основного или вспомогательного лечения многих внутренних болезней и хирургических заболеваний. С 1960-х годов список показаний к ГБО расширяется. По данным 2016 г. ассоциации подводной и гипербарической медицины (Undersea and Hyperbaric Medical Society (UHMS)) показаниями для применения ГБО являются следующие заболевания и синдромы с различным этиопатогенезом [11, 76]:

- токсическое действие угарного газа;
- анемия;
- газовая эмболия;

- декомпрессионная болезнь;
- для улучшения репарации ран (при диабетической стопе, диабетической ретинопатии, нефропатии);
- внутричерепной абсцесс;
- остеомиелит;
- некротические инфекции мягких тканей;
- газовая гангрена;
- хронические лучевые поражения;
- тяжелые множественные травмы с ишемией;
- ожог;
- пересадка кожных трансплантатов [11].

Использование ГБО при острой воздушной эмболии и декомпрессионной болезни заключается в том, что сжатые пузырьки кислорода, которые возникают при повышенном атмосферном давлении, вытесняют эмболы с азотом и выравнивают по нему градиент давления между легкими и кровотоком, способствуя утилизации эмболов. Кроме того, ГБО может принести пользу при различных состояниях, в том числе вышеупомянутых по списку, за счет аналогичного основного механизма. На протяжении десятилетий механизм действия ГБО был направлен на нивелирование развивающейся или развившейся тканевой гипоксии за счет повышения физически растворенного кислорода в плазме крови. Известно, что повышение атмосферного давления при вдыхании 100% кислорода приводит к увеличению количества кислорода, растворенного в плазме. Так, исследование, опубликованное 1960 году Воегем et al., показало, что неанестезированные свиньи с 0,5% циркулирующим гемоглобином могли жить в результате значительного количества растворенного кислорода в плазме при создании гипербарических условий.

Применение кислорода сверх физиологической нормы может вызывать различные как терапевтические, так и токсические эффекты [11, 64, 97, 98, 107, 148, 178]. К потенциальным терапевтическим эффектам относятся: воздействие гидростатического давления, сопровождающееся элиминацией инертных газов из

тканей, фармакологические эффекты, обусловленные повышенным давлением кислорода в артериальной крови, и улучшение насыщения кислородом ишемизированных тканей с разной степенью функциональных нарушений [11, 38].

Положительные результаты от использования ГБО по сравнению с абсорбцией атмосферного кислорода обусловлены более высокой эффективностью проникновения кислорода через альвеолярный барьер, что приводит к более высокой концентрации кислорода, растворенного в крови, и увеличению расстояния для его доставки. Эти свойства позволяют удерживать аэробный метаболизм в различных участках тела даже в тканях с гипоперфузией [11, 177].

Основой для разработки протоколов лечения с помощью ГБО является сущность основных патологических процессов, вызывающих развитие болезни. Например, при наличии диабетических ран, применение ГБО осуществляется при давлении 2,0–2,4 АТМ в течение 30–40 дней [63]. При инсультах рекомендовано проводить лечение ГБО длительностью 2 месяца с режимом 5 дней в неделю и давлением 2 АТМ [96, 105].

#### **1.2.4. Противопоказания к применению гипербарической оксигенации**

Единственным абсолютным противопоказанием для применения ГБО в лечении больных значится нелеченый пневмоторакс. Если в анамнезе пациента присутствуют данные о получении лечения в связи с развитием пневмоторакса, учитывая все показания, следует произвести оценку между рисками и возможной пользой, получаемыми при использовании ГБО [80].

К относительным противопоказаниям к применению ГБО относят:

- Нелеченую артериальную гипертензию;
- Сахарный диабет (с уровнем гликемии более 300 мг% или менее 100 мг%);
- Застойную сердечную недостаточность с фракцией выброса менее 35%;
- Клаустрофобию;
- Острую инфекцию верхнего отдела дыхательного тракта;

- Наличие лихорадки;
- Наличие электрокардиостимулятора;
- Недавно перенесенное оперативное вмешательство на глазах;
- Недавно выполненную торакальную операцию;
- Наличие хронического обструктивного бронхита или астмы;
- Постоянное использование контактных линз [11, 80].

### **1.2.5. Побочные эффекты гипербарической оксигенации**

Среди всех способов лечения СД ГБО является самым безопасным [61, 108]. Тем не менее, существуют побочные эффекты, связанные с применением ГБО, которые являются самоограничивающимися и потенциально могут быть предотвращены при адекватной оценке риска. Наиболее частыми побочными эффектами ГБО являются баротравма среднего уха и придаточных пазух носа, повышение систолического и диастолического артериального давления, клаустрофобия и развитие гипогликемических реакций у больных с СД [108, 118]. Токсические эффекты кислорода при применении ГБО проявляются симптомами нарушения деятельности центральной нервной системы, развитием артериальной газовой эмболии или баротравмы легких [88, 148, 151, 161]. Придерживание клинических рекомендаций лечения при использовании ГБО в условиях поддержания атмосферного давления на уровне до 2–3 АТМ редко провоцирует их появление [108].

Побочные эффекты, вызванные воздействием повышенного атмосферного давления и/или повышенной концентрации кислорода, приводят к избыточному образованию АФК в органах и тканях. Применение ГБО при давлении 2026–3039 гПа увеличивает риск формирования катаракты и миопии [11, 23, 80, 95, 106, 138]. Некоторые авторы, воздействуя на морских свинок гипербарическим кислородом при давлении 2534 гПа в течение 2–2,5 ч два раза в неделю в общей сложности до 100 сеансов, зафиксировали развитие катаракты у экспериментальных животных. Также было показано, что ГБО истощает пул восстановленного глутатиона в ядре

хрусталика, провоцирует окислительные изменения в ядерных белках, ядерное рассеивание света и миопический сдвиг силы хрусталика, что напоминает течение патологических процессов, предшествующих формированию катаракты у людей [11, 23]. ГБО обладает обратным эффектом в отношении геометрии хрусталика и градиентного показателя преломления по сравнению с аналогичными, зафиксированными после обусловленного убаином ингибирования системы микроциркуляции. В отличие от спровоцированных убаином сдвигов в показателях геометрии хрусталика и увеличения градиентного показателя преломления и миопического сдвига, ГБО не приводит к существенной трансформации геометрии хрусталика, хотя выражено уменьшает показатель величины градиентного преломления, вызывая снижение мощности хрусталика и развитие гипероптического сдвига в общей оптике бычьего хрусталика [11, 95].

Точно так же близорукость и катаракта были диагностированы у людей после воздействия 100% кислородом при давлении 2026–2534 гПа в течение 90 минут один раз в день в течение 150–850 сеансов [138]. Данные патологии редко развиваются при применении 48 сеансов ГБО при давлении 2534 гПа в течение 90 минут [81].

ГБО способствует увеличению количества воспалительных клеток у мышей [11, 77, 181] и приводит к избыточной продукции АФК у крыс [11, 72, 136, 147, 183], кроликов [11, 175] и людей [11, 42, 107]. Избыточное образование АФК является ключевым в механизмах формирования многих заболеваний и их осложнений. Интенсификация окислительного стресса и повышение уровня свободных радикалов запускают патологические механизмы, ответственные за развитие атеросклероза, инфаркта миокарда, артериальной гипертензии, диабета, катаракты, ретинопатии, почечной недостаточности и уремии [11, 39, 85, 89, 128, 130, 157].

При проведении терапии 40%-м кислородом и более вне зависимости от параметров атмосферного давления у крыс регистрируются множественные побочные эффекты, вызываемые повреждением эритроцитов образующимися АФК и снижением количества оксигемоглобина [137]. Мягкое воздействие ГБО,

наблюдаемое при содержании кислорода до 35–40%, не вызывает агрессивного течения окислительного стресса у людей [73] и крыс [56].

При применении ГБО для лечения хронической ишемической болезни сердца потенциальным нежелательным эффектом может стать развитие отека легких. Уивером и Черчиллем в своем исследовании зафиксировали 3 случая возникновения отека легких после лечения ГБО. Все трое пациентов были пожилого возраста и имели раны стоп или грудной клетки. Помимо основных показаний, у пациентов также были диагностированы заболевания сердца и низкая фракцией выброса. Поэтому авторы предлагают стараться воздерживаться от применения ГБО в лечении больных с сердечной недостаточностью и сниженной фракцией выброса [184].

В исследовании, проведенном Canarslan-Demir К. и соавторами, изучавшими сердечно-сосудистые эффекты, возникающие при лечении с применением ГБО, у больных, страдающих СД, по данным ЭКГ в конце проведения сеанса гипербарической оксигенации было зарегистрировано статистически значимое увеличение показателей QTc и дисперсии QTc ( $p < 0,001$  и  $p = 0,02$ , соответственно) и повышение уровня тропонина I, при этом динамика уровня Pro-BNP не показала статистической достоверности ( $p = 0,009$ ,  $p = 0,3$ , соответственно) [11, 34]. Таким образом, авторы пришли к заключению, что у пациентов с СД лечение ГБО непродолжительными курсами статистически достоверно влияет на показатели тропонина I, QT и QTc, поэтому в группе подобных больных при использовании ГБО необходим мониторинг соответствующих параметров [34].

В одной из научных публикаций было сообщение о развитии острого отека легких у 80-летнего пациента с ишемической кардиомиопатией (с фракцией выброса 25%), инсулинонезависимым сахарным диабетом и заболеваниями периферических сосудов после проведения ГБО. До выполнения сеансов ГБО у больного сердечная недостаточность документально не была верифицирована. Авторы публикации полагают, что фактором риска развития острого отека

легких, обусловленного воздействием ГБО, стала суммарная высокая чувствительность тканей больного к гипоксии [11, 26].

Также есть работа с описанием случая развития отека легких, обусловленного проведением ГБО, у пациента с диагностированной умеренной диастолической дисфункцией при нормальной фракции выброса [11]. В этом примере предполагаемым механизмом формирования отека легких, спровоцированного ГБО, является увеличение постнагрузки на сердце, повышение давления наполнения левого желудочка, усиление оксидативного стресса миокарда, увеличение проницаемости легочных капилляров или легочная кислородная токсичность. На основании вышеизложенного авторы рекомендуют с осторожностью применять ГБО у пациентов с низкой фракцией выброса или диастолической дисфункцией [147].

Для снижения риска формирования отека легких, связанного с применением ГБО, профильные специалисты предлагают индивидуально подбирать режим и дозировку ГБО-сеансов.

### **1.3. Гипербарическая оксигенация и сердечно-сосудистая система**

Среди всех наиболее важных хронических заболеваний, а также причин внезапной смерти ССЗ занимают самое важное место [68, 135]. На их долю приходится 45% всех смертей в Европе. Каждый год ССЗ вызывают более 4 миллионов смертей в Европе и около 1,8 миллиона смертей в Европейском союзе [68]. Термин ССЗ используется для обозначения состояний, поражающих сердце и/или кровеносные сосуды, но также может быть связан с повреждением артерий как в сердце, так и в головном мозге, почках и глазах [135]. К основным патологиям, обуславливающим развитие ССЗ, относят атеросклероз, артериальную гипертонию, заболевания коронарных артерий и ХСН [11].

Несмотря на то, что на данном этапе для лечения этих заболеваний существует огромный спектр лекарственных препаратов, долгосрочный прогноз и контроль осложнений остаются на достаточно низком уровне. Учитывая стремительный

рост популяции, увеличивается контингент больных, получающих неадекватную терапию, что является сильным стимулом для создания новых, более эффективных методов лечения и профилактики развития ССЗ [11, 164].

Среди терапевтических методов лечения ГБО чаще начинают применять как универсальный. Для обеспечения эффективности и безопасности лечения ГБО жизненно важную роль играет правильная дозировка [154].

Показано, что применение ГБО у больных с хронической ишемической болезнью сердца после 12–15 сеансов значительно уменьшает и даже прекращает возникновение стенокардии, облегчает симптомы сердечной недостаточности и значительно улучшает сократительную способность миокарда [9, 17, 20]. Также непрерывное лечение ГБО 31 больного с пароксизмальными тахикардиями при ишемической болезни сердца значительно уменьшило частоту и продолжительность пароксизмов с последующей длительной ремиссией [10]. Применение ГБО оказывает существенное влияние на уменьшение количества экстрасистол, а также на улучшение сократительной способности миокарда у больных с хронической ишемической болезнью сердца [13, 20].

В двух рандомизированных исследованиях изучался кислородный эффект ГБО у пациентов с инфарктом миокарда, получавших тромболизис. Были получены противоречивые результаты. В одном исследовании, которое было проведено на 74 пациентах с впервые перенесенным острым инфарктом миокарда, было зафиксировано, что дополнительная ГБО после тромболизиса при остром инфаркте миокарда оказывает благоприятное влияние на систолическую функцию левого желудочка и процесс ремоделирования. У пациентов, которые, получали комбинированное лечение со стрептокиназой и ГБО, наблюдалось снижение конечно-систолического объема на 20% и улучшение сердечного выброса на 10%. В этой же группе было продемонстрировано значительное увеличение фракции выброса, в то время как в группе больных, получавших только стрептокиназу, через три недели после инфаркта миокарда наблюдалось снижение фракции выброса [27]. С другом исследованием НОТ (Hypertension Optimal Treatment study), в которое вошли 112 больных, было показано, что применение ГБО приводит к

более коротким срокам купирования боли, незначительному увеличению фракции выброса без достоверного снижения уровня креатинфосфокиназы. Однако кислородная терапия также не влияла на диастолическую функцию левого желудочка [94].

Leitman et al. (2020) провели проспективное исследование для оценки влияния ГБО на эхокардиографические параметры у бессимптомных пациентов. Чтобы изучить влияние на сердечную функцию, лечение ГБО применялось в течение 90 минут, в общей сложности 60 дней. В результате исследования было зарегистрировано улучшение систолических сокращений левого и правого желудочков, а также работы сердца в целом. Поскольку повторная эхокардиография проводилась через 3 недели после последнего сеанса гипербарической оксигенотерапии, эти значительные изменения представляют собой потенциально устойчивые структурно-функциональные изменения, а не немедленные временные изменения [173].

Клиническое исследование Yogaratnam et al. (2010) показало, что preconditionирование пациентов с ишемической болезнью сердца с помощью ГБО перед операцией на сердце улучшало фракцию выброса и уменьшало повреждение миокарда [97]. Результаты исследования Жданова и Соколова также свидетельствуют о благотворном влиянии ГБО в сочетании с традиционной терапией инфаркта миокарда. Проводимое ими комбинированное лечение эффективно устраняло гипоксию и улучшало сократительную функцию миокарда, а также его насосную функцию [14].

Исследования на животных также показали преимущества использования ГБО. В исследовании, проведенном на модели крыс с индуцированным инфарктом миокарда, введение ГБО вызвало уменьшение размера инфаркта и увеличение выживаемости крыс [32, 111]. Более высокие значения показателей общего антиоксидантного ответа и 3-нитротирозина в зоне повреждения тканей левых отделов сердца у крыс на ГБО свидетельствуют о более высокой продукции монооксида азота (NO), что способствует лучшему восстановлению в зоне ишемии и лучшей васкуляризации [53].

Положительные эффекты ГБО также наблюдались в модели доксорубицин-индуцированной кардиотоксичности у крыс. Применение в течение 90 минут 100% кислорода при давлении 2,5 атмосферы не усиливало токсического действия доксорубицина. Более того, авторы пришли к заключению, что лечение ГБО защищает структуры миокарда от индуцированной доксорубицином токсичности [98].

Что касается влияния ГБО-терапии на образование АФК Teric et al. (2018) пришли к выводу, что ГБО-терапия может быть безопасной при ее использовании у пациентов с СД2 с сосудистыми осложнениями и без них. Они считают, что десятидневное лечение ГБО продолжительностью 1 час сильно мобилизует систему антиоксидантных ферментов и, таким образом, улучшает защиту от окислительного повреждения [116].

С другой стороны, при остром однократном воздействии ГБО увеличивается продукция супероксида и, как следствие, возникает временное нарушение вазорелаксации. Прерывистая ГБО не оказывает влияния на продукцию супероксида, зато увеличивается экспрессия антиоксидантных ферментов при таком воздействии [25].

Oliveira et al. (2020) на модели острого инфаркта миокарда изучили изменения окислительно-восстановительной системы, связанные с терапией ГБО, возникающие в течение первого часа после развития коронароокклюзии. Было показано, что лечение ГБО в течение 60 минут при давлении 2,5 атмосферы приводит к снижению смертности, что, в свою очередь, свидетельствует о благоприятном влиянии ГБО на выживаемость. Поскольку различий в размерах инфаркта миокарда не отмечалось, авторы пришли к заключению, что снижение уровня смертности животных могло быть связано с благотворным влиянием на изменение индуцированных инфарктом окислительно-восстановительных процессов, которые важны для поддержания благоприятной среды для выживания клеток и сердечного ритма [111].

Chen W. et al. (2020), изучавшие у крыс с перевязанной левой передней нисходящей артерией пути активации защитных саногенетических механизмов

при воздействии ГБО в отношении изменения уровня функционирования митохондрий и запуска аутофагии, показали, как именно гипербарический кислород положительно влияет на работу сердца: происходят снижение уровня кислородного стресса, модуляция энергетического метаболизма и ингибирование клеточного апоптоза. Также авторами было показано, как применение ГБО предотвращает повреждение кардиомиоцитов при одновременном сосуществовании ишемических и реперфузионных процессов в альтерированном миокарде: за счет повышения уровней АТФ, АДФ, энергетического заряда и открытия переходной поры проницаемости митохондрий происходит предотвращение их дисфункции, ингибирование аутофагии, повышение уровней экспрессии генов или белков eIF4E-связывающего белка 1, мишени рапамицина (mTOR), митохондриальной ДНК, субъединицы 1 NADH-дегидрогеназы, митофузина 1 и митофузина 2, снижение уровня AMP, экспрессии генов или белков аутофагии 5 (Atg5), белка 1, связанного с динамином, и p53, цитохрома c и активных форм кислорода [99].

Oliveira et al. провели дополнительное исследование на крысах для изучения влияния раннего ГБО на смертность и размер инфаркта миокарда после формирования у них коронароокклюзии, которое показало смешанные результаты. В этой работе авторы зафиксировали, что введение ГБО достоверно уменьшало размер инфаркта, но при этом значимого изменения смертности не наблюдалось. Возможным объяснением расхождений между результатами этих исследований может быть различие в протоколе самого лечения ГБО [111].

#### **1.4. Гипербарическая оксигенация и сахарный диабет**

Достаточно четко определены критерии назначения и положительные эффекты от применения ГБО терапии при многих патологических состояниях, например, как при декомпрессионной болезни и СД2 при наличии плохо регенерирующих ран и язв. Нарушение кислородного баланса в плазме крови занимает важное место в патогенезе СД. К сожалению, введение инсулина не всегда позволяет

осуществлять адекватное суточное поддержание уровня глюкозы крови в пределах нормы [11]. Поэтому больным, страдающим СД, желательно присоединение дополнительных способов лечения СД, например, ГБО терапии. ГБО улучшает восстановление при таких сопутствующих СД ишемических состояниях, как церебральная ишемия, сочетанное ишемическое и реперфузионное повреждение, окклюзия центральной артерии сетчатки, заболевание периферических артерий, диабетическая гангрена стопы и другие сосудистые осложнения [11, 61, 103, 106, 142, 178].

Имеются данные о дополнительных преимуществах ГБО у больных с СД таких, как снижение концентрации глюкозы в крови натощак у больных СД2 не менее чем на 20% [22, 62, 102, 118, 142]. Кроме того, ГБО может вызывать снижение уровня HbA1c, маркера воспаления, С-реактивного белка и резистентность к инсулину, что измеряется с помощью гомеостатической модели резистентности к инсулину (НОМА-IR (Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance) [142]. Однако данных о влиянии ГБО на чувствительность периферических тканей к инсулину недостаточно. Не совсем понятно, является ли вызванное гипербарическим кислородом снижение гликемии уникальным для диабетиков явлением или это действительно физиологическое изменение, которое люди с СД2 не могут компенсировать. Так, при изучении влияния ГБО терапии на изменение толерантности тканей к инсулину у больных мужского пола в возрасте 40–80 лет, страдающих СД2 и ожирением или без них, с верифицированными диабетическими язвами, остеорадионекрозом и лучевым проктитом, было выявлено улучшение периферической чувствительности тканей к инсулину, наступавшее уже после выполнения 3-х сеансов и сохранявшееся вплоть до 30-го [11, 185]. Следует заметить, что инсулинотерапия проводилась у всех больных, и трем из них дополнительно были назначены пероральные гипогликемические препараты. При ГБО-терапии доставка кислорода идет под повышенным давлением и в высокой концентрации, при этом регистрируется повышение чувствительности тканей к инсулину, что может быть обусловлено воздействием как одного из этих факторов, так и их сочетания. Под действием ГБО увеличение

доставки с кровью кислорода к тканям усиливается в 10 раз. Это позволяет предположить, что одним из путей реализации влияния ГБО на повышение чувствительности тканей к инсулину может быть снижение выраженности гипоксии в жировой ткани и следующего за ней воспаления. Также было показано, как при возникновении гипоксии в жировой развиваются перенапряжение в эндоплазматическом ретикулуме и хроническое микровоспаление, что приводит к ингибированию сигнального каскада инсулина [11, 92, 158]. Помимо этого, некоторые результаты исследований свидетельствуют о снижении уровня С-реактивного белка после применения ГБО [11, 51, 142], что потенциально может трактоваться как возможность контролирования процессов, ответственных за поддержание хронического микровоспаления, при использовании ГБО. Еще одним объяснением повышения периферической чувствительности тканей к инсулину при воздействии ГБО может быть усиление экспрессии PPAR-1 $\alpha$ , являющегося основным регулятором митохондриального биогенеза, что было продемонстрировано в одном из исследований, проведенном на крысах [57]. Недавние исследования [93, 123] подтвердили благотворное влияние ГБО на чувствительность тканей к инсулину и в то же время заложили основу для возможно новых потенциальных механизмов этого эффекта. Они доказали, что у мышей со стрептозотоцин-индуцированным СД2 после обработки ГБО (1 ч/сут, 7 дней, при 2,0 АТМ) усиливается активация сигнального пути Akt, экспрессия GLUT4 (glucose transporter member 4, инсулинзависимого белка-переносчика глюкозы) в мышцах и UCP1 (uncoupling protein 1, термогенина, разобщающего белка 1) в бурой жировой ткани, что впоследствии приводит к ослаблению резистентности к инсулину и снижению гликемии [93, 3].

Запуская различные молекулярные механизмы в организме, ГБО реализует свое благотворное терапевтическое действие на пациентов с СД и его сосудистыми осложнениями. В исследованиях разных авторов было продемонстрировано каким образом ГБО положительно влияет на системный гемодинамический ответ: улучшается микроциркуляция, происходит стимуляция ангиогенеза, активизируется

антиоксидантная защита, стимулируется пролиферация фибробластов и синтез коллагена, стихают воспалительные процессы, снижается интенсивность атеросклеротического повреждения сосудов и уменьшается площадь атеросклеротических бляшек [11]. После воздействия гипербарического кислорода происходит увеличение его парциального давления на 4–6 часов после каждого сеанса. В результате наблюдается восстановление в митохондриях адекватного уровня течения биохимических реакций, относящихся к окислительному фосфорилированию, и повышение шансов клеток на выживание в условиях дефицита кислорода. Также происходит блокада механизмов активации апоптоза в  $\beta$ -клетках поджелудочной железы и снижение адгезии лейкоцитов, повышение их бактерицидного действия и снижение выраженности нарушений функции эндотелиальных клеток. Таким образом стихают воспалительные процессы, что отражается в минимизации диабетических сосудистых осложнений у больных [11, 172, 185].

NO занимает особое положение в процессе нарушения углеводного обмена, вызывающее формирование СД. При этом изменение концентрации NO при проведении ГБО терапии усиливает ее эффективность при СД. Важным является механизм реализации синтеза NO. Известно, что развитие сосудистых осложнений при СД обусловлено активацией аномального синтеза NO, что является одной из характерных черт хронической гипергликемии. Данные, полученные разными исследователями, изучавшими изменения при разных способах активации синтеза NO под воздействием ГБО на фоне СД бывают слишком разнородными. Например, ГБО, стимулируя образование эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOS) приводит к увеличению накопления в ранах оксида азота, запускающего усиленный ангиогенез [11, 40, 44, 110]. А анализ результатов, полученный в исследованиях на людях, свидетельствует о снижении синтеза оксида азота под влиянием ГБО из-за изменения регуляции активации индуцируемой и нейрональной синтаз оксида азота (iNOS, nNOS), отражающегося в стихании воспалительных процессов и снижении

прогрессирования атеросклеротического поражения сосудов [11, 36, 58, 100, 116, 133].

После подтверждения у здоровых крыс положительного воздействия ГБО на реактивность изолированных колец аорты к ангиотензину-(1–7) [11, 60], была выявлена значительная роль эйкозатриеновых кислот (EETs) в этом процессе. Закрепление полученных выводов было сделано после выполнения эксперимента на крысах со стрептозотоцин-индуцированным СД1 [11, 113]: расслабление аорты при действии ангиотензина-(1–7) (ANG-(1–7)) регистрируется намного выше у крыс с СД1, находившихся под воздействием ГБО, чем у крыс контрольной группы (с СД1 без проведения ГБО). Одновременно данных о выраженном влиянии ангиотензина II на сокращение аорты при использовании ГБО получено не было. Механизмами облегченного сосудорасслабляющего эффекта ANG-(1–7), обусловленного воздействием ГБО, приведшими к таким результатам, могут быть как влияние EET (на фоне повышенной чувствительности сосудов), так и усиление экспрессии некоторых изоформ фермента CYP (изофермента семейства цитохрома P450): мРНК CYP2J3 и CYP2C11. ГБО приводит к развитию выраженного, усиленного сосудистого ответа на образование ANG-(1–7) у крыс с СД1. При этом существенного изменения концентрации ANG-(1–7) в сыворотке не наблюдалось, из-за чего авторы пришли к заключению, что после применения ГБО изменения сосудистой реактивности не являются следствием возможного изменения артериального давления, количества в крови ANG-(1–7) или повышения уровня окислительного стресса [11, 60]. Возможно, данный эффект объясняет положительное влияние ГБО при таких патологических состояниях как, например, заживление хронических диабетически язв. Те же авторы, проведя исследование активности ангиотензинпревращающего фермента (АПФ) после ГБО терапии, пришли к аналогичным выводам относительно активности АПФ в сыворотке: после лечения ГБО у здоровых крыс, в отличие от крыс с СД, происходит повышение концентрации АПФ [11, 124].

Многие исследователи обращают внимание на выявления синдрома удлиненного интервала QT (СУИ QT), признанного одним из главных факторов

развития злокачественных аритмий и летального исхода [11, 144], который значительно ухудшает показатели смертности больных с СД. СУИ QT чаще диагностируется у больных с СД, чем без него [11, 75, 91]. Поэтому было проведено клиническое исследование, целью которого стало изучение влияния ГБО-терапии на больных с СД1 или СД2 и СУИ QT. После двух лет наблюдения за пациентами с СУИ QT он был значительно короче у пациентов, получавших ГБО, по сравнению с пациентами из группы плацебо. Это указывает на выраженное защитное влияние ГБО против удлинения интервала QT и возникновения из-за этого высокого риска негативных последствий в популяции диабетических пациентов [74]. Механизм более высокой распространенности СУИ QT у пациентов с диабетом до конца не ясен, однако потенциальными причинами могут быть более высокая частота развития инфаркта миокарда, а также наличие сердечной автономной нейропатии, т. е. факторов, которые, как известно, связаны с появлением СУИ QT [47, 150, 151]. Кроме того, известно, что синдром удлиненного интервала QT пролонгируется во время гипогликемии [74]. Сходные результаты были получены учеными [34, 101], изучавшими воздействие ГБО на дисперсию интервала QT (QTд) в качестве показателя неоднородности восстановления возбудимости, что рассматривается профильными специалистами как предиктор развития злокачественных аритмий, особенно у пациентов, страдающих СД2. Было продемонстрировано как повторное применение ГБО в течение 2-х недель уменьшает QTд у больных с СД [11, 101, 150].

По одной из новых концепций о формировании сердечной дисфункции при СД считается, что развитие диастолической дисфункции миокарда предшествует систолической, вне зависимости от воздействия иных факторов, например, артериальной гипертензии, ишемической болезни сердца и др. Это значительно изменяет показатели заболеваемости и смертности пациентов, страдающих СД. Диастолическая дисфункция левого желудочка рассматривается как один из ранних предикторов неблагоприятного прогноза у больных с СД несмотря на то, что ее выявляют и при адекватном метаболическом контроле [11, 143, 156]. Влияние ГБО на диастолическую функцию левого желудочка у пациентов с

сахарным диабетом изучали Aparci et al. (2008). Ими было доказано, что после 10 сеансов ГБО улучшались параметры диастолической функции миокарда, измеренные с помощью доплер-эхокардиографии, при этом систолическое и диастолическое артериальное давление, частота сердечных сокращений и эхокардиографические параметры левых желудочков достоверно не изменялись. Также ГБО-терапия приводила к улучшению релаксационной способности левого желудочка и динамики наполнения правого желудочка [104]. Предполагается, что механизм такого благоприятного воздействия на миокард на самом деле заключается в том, что ГБО имитирует ишемическое прекондиционирование миокарда, тем самым приводя к уменьшению воспаления и окислительного стресса [32, 145].

Более 20 лет назад наблюдались преимущества, но и определенные различия в эффектах ГБО терапии при СД1 и СД2. Наши исследователи пришли к следующему заключению: проведение ГБО терапии больным с СД1 в течение года несколькими курсами дает более выраженный положительный эффект, проявляющийся снижением дозы инсулина, восстановлением его остаточной секреции и угнетением секреции таких гормонов, как глюкагон, соматотропный гормон и гидрокортизон, чем однократное курсовое воздействие. При этом было обнаружено, что проведение лечения больных с СД1 с применением ГБО тремя курсами с периодичностью в 4 месяца приводит к более выраженному положительному эффекту, чем назначение двух курсов с перерывом в 6 месяцев. Интересно, что максимальное положительное влияние гипербарического кислорода на гормонально-метаболический статус возникает уже на второй процедуре, а третья лишь усиливает достигнутый эффект. Та же модальность наблюдалась при СД2 [18, 19].

Недавно было исследовано влияние прерывистой терапии ГБО на релаксацию сосудов, индуцированную ацетилхолином, у самок крыс Sprague-Dawley с диабетом на модели изолированной аорты. Индуцированную ацетилхолином вазорелаксацию исследовали *in vitro* на аортальных кольцах, оценивали системный окислительный стресс, антиоксидантную способность плазмы, а также

экспрессию различных генов для определения возможного механизма. Считается, что ГБО улучшает индуцированную ацетилхолином вазорелаксацию через NO-сигнальный путь, не влияя на окислительный стресс [109].

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1. Материалы и методы

Для изучения влияния гипербарической оксигенации на функцию миокарда и уровни маркеров оксидативного стресса у крыс с сахарным диабетом I типа использовались 24 здоровые крысы линии Wistar albino мужского пола в возрасте 8 недель с массой тела 200-250 г. Крыс содержали в виварии с чередованием светлого и темного периодов каждые 12 часов при температуре  $+22 \pm 2^\circ\text{C}$ . Экспериментальные животные получали воду и стандартный корм.

Перед выведением исследуемых животных из эксперимента им вводили кетамин с ксилазином, после чего производилась декапитация с использованием гильотины для мелких экспериментальных животных, сразу после чего брали образцы цельной крови. Пробирки, тщательно перемешивав с 3,8% раствором цитрата натрия, помещали в центрифугу и откручивали при комнатной температуре 3 раза по 10 минут при 3000 об/мин [5]. Для приготовления гемолизата полученную массу растворяли в дистиллированной воде.

При экспериментальной работе соблюдались положения предписанных актов (EU Directive for the Protection of the Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes 86/609 / EES) и принципы этики.

Животные были случайным образом разделены на 4 экспериментальные группы:

1-я группа (контрольная) – СД, спровоцированный введением стрептозотоцина (СТЗ) (n=6);

2-я группа – СД+ИНС, в которой на фоне индуцированного СТЗ СД проводилась инсулинотерапия НПХ (нейтральным протамином Хагедорна) по 3–5 ЕД/сут. (n=6);

3-я группа – СД+ИНС+ГБО (дополнительно к аналогичным для 2-й группы условиям животные подвергались воздействию 100% кислородом при 2,8 АТМ 1 ч раз в день в течение 5 дней две недели (n=6);

4-я группа – СД+ГБО (лабораторные крысы с СТЗ-индуцированным СД подвергались воздействию ГБО по схеме, используемой и в 3-й группе) (n=6) [5].

### ***Моделирование сахарного диабета 1-го типа***

За 24 часа до внутрибрюшинного введения экспериментальным крысам СТЗ (из расчета 60 мг/кг массы тела, растворенные в 0,01 М буфере цитрата натрия при рН=4,5) для моделирования СД1 их не кормили. Верификация СД проводилась с использованием портативного глюкометра, отражавшего уровни глюкозы крови, полученной из хвостовых вен [5]. Подтверждением развившегося СД1 у экспериментальных животных являлось превышение показателя глюкозы крови более 11,1 ммоль/л.

### ***Протокол лечения человеческим инсулином НПХ***

Для мониторинга уровня гликемии экспериментальным животным с СД1 подкожно вводили экзогенный ДНК-рекомбинантный инсулин человека *продолжительного действия* (НПХ инсулин) [5, 146]. Для поддержания нормогликемии (от 60 до 150 мг/дл) инсулинотерапия проводилась в течение 24 часов. Начальная доза НПХ инсулина, составлявшая 5 ЕД/сут, по ходу лечения корректировалась в среднем каждые 3 дня для каждого животного в зависимости от его уровня гликемии и составляла от 3 до 5 ЕД/сут [5].

### ***Гипербарическая оксигенация***

Для воздействия на экспериментальных крыс гипербарическим кислородом их помещали в барокамеру для мелких животных, в которой 1 раз в сутки в течение 1 часа на них воздействовали 100% кислородом при 2,8 АТМ [2] (Рисунок 2).

Протокол: экспериментальным животным ГБО терапия проводилась по 5 дней в неделю в течение 2-х недель.



Рисунок 2 – Специальная оксигенационная камера для мелких экспериментальных животных.

### *Спектрофотометрическое определение биомаркеров окислительно-восстановительный статуса*

Для изучения влияния гипербарической оксигенации на функцию миокарда и уровни маркеров оксидативного стресса у крыс с сахарным диабетом I типа в образцах коронарного венозного оттока были определены уровни супероксидного анион-радикала ( $O_2^-$ ), пероксида водорода ( $H_2O_2$ ), индекса перекисного окисления липидов (ИПОЛ), измеренного в виде TBARS, нитрита ( $NO_2^-$ ), восстановленного глутатиона (GSH), каталазы (CAT) и супероксиддисмутазы (СОД). Все биохимические анализы были выполнены спектрофотометрически (спектрофотометр Shimadzu UV-1800UV-VIS, Япония) [5].

## *Определение супероксидного анионного радикала*

Определение количества  $O_2^-$  в коронарном венозном оттоке и плазме основано на реакции  $O_2^-$  с нитро-тетразолиевым синим (Engl. Nitro Blue Tetrazolium, NBT) с образованием нитроформазного синего. Измерение проводится на длине волны, используя  $\lambda_{max} = 550$  нм [5, 48, 12].

### **Реагенты**

Реагенты, используемые для определения уровней  $O_2^-$ : TRIS (Трис (гидроксиметил) аминметан,  $C_4H_{11}NO_3$ ), 37% соляная кислота (HCl),  $Na_2EDTA$ , нитро-тетразолиевый синий хлорид (NBT,  $C_{40}H_{30}ClN_{10}O_6$ ), желатин ( $C_{15}H_{11}N_2NaO_2$ ).

### **Протокол**

В пробирку (12x100) добавлялось 50 мкл образца и 950 единиц смеси эссе. Смесь эссе (“ assay mixture”) представляет собой смесь 50 ммоль Трис-HCl буфера (pH=8,6), 0,1 мм EDTA, 0,1 мг/мл желатина и 0,1 мм NBT. В качестве контроля использовали раствор Кребса-Хензелейта (КХ). В начале реакции измерялась экстинкция смеси, и это обозначалось как экстинкция E1. Затем каждые 60 секунд перемешивали пластиковой палочкой и записывали экстинкцию после перемешивания, и этот процесс повторяли до достижения примерно одного и того же значения двух последовательных экстинкций [12]. Последняя экстинкция обозначалась как E2. Такая же процедура проводилась и для контроля. Изменялась концентрация высвобождаемого  $O_2^-$ .

После этого количество высвобождаемого  $O_2^-$  на грамм сердечной ткани определяли по следующему уравнению [12]:

$$\text{нмоль } O_2^-/\text{минут}/\text{гр} = \Delta E/0,015 \times 1/0,05 \times CF/m_{\text{сердца}}$$

## ***Определение перекиси водорода***

Определение  $H_2O_2$  основано на окислении фенольного красного путем перекиси водорода реакции, катализируемой ферментом пероксидазой хрена (англ. HorseradishPerOxidase - HRPO) [12]. С помощью этого метода можно определить возникновение и высвобождение  $H_2O_2$  в течение временного интервала 5–60 минут [138].

### **Реагенты**

Реагентами, используемыми для определения уровня  $H_2O_2$ , являются дигидрат гидрогенфосфата калия ( $K_2HPO_4 \times 2H_2O$ ), дигидрогенфосфат калия дигидрат ( $KH_2PO_4 \times 2H_2O$ ), хлорид натрия ( $NaCl$ ), перекись водорода ( $H_2O_2$ ), D(+)-моногидрат глюкозы (декстроза), фенол красный (Engl. phenol red,  $C_{19}H_{14}O_5S$ )), пероксидаза хрена (англ. peroxidase from horseradish, HRPO EC 1.11.1.7).

### **Протокол**

В пробирки (12x100) добавляли 200 мкл коронарного венозного оттока и 800 мкл свежеприготовленного раствора фенольного красного (англ. Fenol Red). Phenol Red Solution-PRS). PRS получали путем смешивания 140 ммоль  $NaCl$ , 10 ммоль фосфатного буфера калия ( $pH = 7$ ), 5,5 ммоль D(+)-глюкозы и 0,28 ммоль фенольного красного. После этого в образцы добавляли 10 мкл (1: 20) HRPO который подготовлен *ex tempore*. Образцы оставляли при комнатной температуре на 10 минут, после чего с помощью 1M  $NaOH$  настраивали  $pH \approx 12$ . В качестве контроля использовали раствор КХ вместо коронарного венозного оттока [12].

Измерение поглощения (A) проводилось спектрофотометрически на длине волны максимального поглощения  $\lambda_{max} = 610$  нм, в стеклянных цветтах с объемом 1 мл. Из полученных поглотителей вычиталось значение поглотителя контроля (B), что давало конечное поглощение ( $\Delta A$ ). Концентрация, а затем количество

высвобождаемого  $H_2O_2$  в коронарном венозном оттоке рассчитывали на основе [12]:

- 1) коэффициента поглощения (F)
- 2) поглотителя образца
- 3) количества высвобождаемого  $H_2O_2$  на грамм сердечной ткани.

### ***Определение индекса перекисного окисления липидов (измеренного как TBARS)***

Индекс перекисного окисления липидов определяли косвенно путем измерения продуктов реакции перекисного окисления липидов с тиобарбитурной кислотой, то есть уровней TBARS (англ. Thiobarbituric Acid Reactive Substances). Спектрофотометрический метод основан на определении уровней перекиси липидов на основе реакции малонильдиальдегида (MDA) с тиобарбитурной кислотой (ТВА) [134, 12].

### **Реагенты**

Реагентами, используемыми для определения уровней TBARS, являлись 2-тиобарбитурная кислота (ТВА), 28% трихлорсируксусная кислота (ТСА) и гидроксид натрия (NaOH).

### **Протокол**

В пробирку было помещено 800 мкл образца коронарного венозного оттока и 200 мкл 1% ТВА в 0,05 М гидроксида натрия. Образцы инкубировали на водяной бане в течение 15 минут при температуре 100°C, после чего в течение 15 минут инкубировали при комнатной температуре перед определением абсорбции. Абсорбцию измеряли спектрофотометрически при  $\lambda=530$  нм. Раствор КХ

использовали в качестве контроля в количестве, эквивалентном объему коронарного венозного оттока [12].

Количество высвобождаемых TBARS на грамм сердечной ткани рассчитывали следующим образом:

$$\text{нмоль TBARS/минуту/гр веса} = \Delta A / 1,56 \times 1,25 \times CF / m_{\text{сердца}}$$

Уровень TBARS выражался в пределах мкмоль, в отличие от других измеренных прооксидантов, концентрация которых выражается в нмоль, потому что количество TBARS на один ранг величина больше, чем все другие параметры [12].

### ***Определение нитрита***

Измерение уровней высвобождаемых  $\text{NO}_2^-$  в коронарном венозном оттоке представляет собой подходящий метод для косвенной оценки функциональности эндотелиальной системы L-аргинин: NO в коронарном кровообращении.

Окись азота (NO) в реакции с молекулярным кислородом приводит к образованию нитрита ( $\text{NO}_2^-$ ) следующим образом:



Поскольку в этой реакции образуется эквимольное количество нитрита, считается, что уровень нитрита в коронарном венозном оттоке на самом деле является уровнем высвобождаемого оксида азота. Метод основан на использовании реагента Грисса, который в присутствии нитритов приводит к образованию диазокомплекса фиолетового цвета [33, 12].

### **Реагенты**

Реагенты, используемые для определения уровней  $\text{NO}_2^-$ : сульфаниловая кислота (4-аминобензульфоновая кислота), N-(1-нафтил)-этилендиамин дигидрогидрат (NEDA), хлорид аммония ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ), бура ( $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ ), 85% ортофосфорная кислота ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ),  $\rho = 1,685 \text{ g cm}^{-3}$ ; нитрит натрия ( $\text{NaNO}_2$ ) [12].

## Протокол

Концентрация высвобождаемых нитритов определялась на основе калибровочной кривой, построение которой выполнялось на основе экстинкции образцов, содержащих в себе известную концентрацию нитритов, после реакции с реагентом Грисса в присутствии буфера [12]. Путем добавления 3, 6, 12 и 24 мкл водного раствора 1 ммоль  $\text{NaNO}_2$  в 1 мл КХ раствора, получая необходимую концентрацию нитрита. Следующим этапом определяли стандартный коэффициент (F) и разделяли разницу экстинкции образца и контроля на стандарт F:

$$\text{ммоль NO}_2/\text{мл оттока} = \Delta E (E_u - E_{sp})/F$$

После этого количество высвобождаемых нитритов на грамм сердечной ткани определяли следующим образом [12]:

$$\text{ммоль NO}_2/\text{минут/гр веса} = \Delta E/F \times CF (\text{коронарный поток})/m_{\text{сердца}}$$

### *Определение восстановленного глутатиона*

Определение антиоксидантного защитного фермента – активность восстановленного глутатиона (GSH) измеряли в лизате эритроцитов спектрофотометрическим методом. Этот метод основан на реакции окисления глутатиона 5, 5-дитио-бис-6, 2-нитробензойной кислотой методом Beutler. Для определения концентрации восстановленного глутатиона в 50 мкл лизированных эритроцитов добавляется 200 мкл 0,1% этилендиаминтетраацетата и 385 мкл осадочного буфера. Полученную таким образом смесь инкубируют в течение пятнадцати минут на льду, после чего в течение десяти минут центрифугируют при 4000 об/мин. После центрифугирования отбирается 300 мкл супернатанта, в который добавляется 750 мкл дифосфата натрия и 100 мкл 5,5-дитиобиса-6,2-нитробензойной кислоты. Полученную таким образом смесь инкубируют в течение десяти минут, после чего измеряется поглощение образца на длине волны 412 Нм. Процедура подготовки слепого зонда такая же, как и для образцов, при

этом вместо лизата эритроцитов используется тот же объем дистиллированной воды. Чтобы определить концентрацию GSH в образцах, была построена калибровочная кривая с использованием четырех стандартов с известными концентрациями глутатиона [5].

### ***Определение каталазы***

Определение антиоксидантного фермента – активности каталазы (САТ) проводилось по методу А эби. Для определения САТ использовали буфер, приготовленный образец лизата и 10 мМ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Активность САТ измеряли спектрофотометрически при длине волны 360 нм и выражали в Ед/мл/Нб гемолизата [5].

### ***Определение супероксиддисмутазы***

Определение антиоксидантного фермента – активности супероксиддисмутазы (СОД) оценивали с помощью эпинефринового метода согласно Beutler. Образец гомогената ткани сердца сначала смешивали с карбонатным буфером, а затем в смесь добавляли эпинефрин. Активность СОД измеряли при длине волны 470 нм и выражали в Ед/мл/Нб гемолизата [5].

## **2.2. Мониторинг сердечной функции *ex vivo***

На следующий день после завершения 2-недельной лечебной процедуры после кратковременной анестезии, вызванной кетамин/ксилазином крыс умерщвляли путем декапитации. Затем грудные клетки вскрывали с помощью срединной торакотомии и после извлечения сердца помещали в охлажденный до +4°C физиологический раствор. Затем для обеспечения непрерывной коронарной и ретроградной перфузии к сердцам присоединяли канюли от аппарата Лангендорфа. Для постоянной коронарной перфузии создавалось давление равное

70 см Н<sub>2</sub>О. Для ретроградной перфузии использовали буфер Кребса-Хензелейта с рН 7,4, температурой 37°С и балансом 95% О<sub>2</sub> и 5% СО<sub>2</sub>. Далее в левый желудочек устанавливали датчик, который позволял непрерывно, 24ч в сутки, фиксировать частоту сердечных сокращений (ЧСС), систолическое давление в левом желудочке (СДЛЖ), диастолическое давление в левом желудочке (ДДЛЖ), максимальную скорость роста давления в левом желудочке (dp/dt max) и минимальную скорость развития давления в левом желудочке (dp/dt min) [2]. Коронарный кровоток измерялся с помощью флоуметрии. Через 30 минут после начала сердечной перфузии сердца стабилизировались. После стабилизации сердца каждая группа подверглась 20-минутной глобальной ишемии (при которой кровоток прерывался), а затем 30-минутной реперфузии. Все кардиодинамические параметры и фракция выброса контролировались с 5-минутными интервалами в течение 30-минутной фазы реперфузии [5, 50, 71].

### 2.3. Статистический анализ

Результаты представлены в таблице и на графике. Методы описательной и аналитической статистики использовались в зависимости от распределения данных и применялся Т-критерий Стьюдента или непараметрический критерий для родственных выборок, а в случае ранговых сравнений - дисперсионный анализ и апостериорный критерий.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием статистического пакета IBMSPSS версия 26.0.

С целью оценки нормальности распределения использовали тесты Kruskal Wallis и Tukey post hoc test для сравнения изменений в процентах между группами [5]. Достоверными считали различия при уровне  $p < 0,05$ .

## ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 3.1. Уровень глюкозы крови у экспериментальных животных при моделировании сахарного диабета 1-го типа, получавших инсулин, гипербарическую оксигенацию и их сочетание

При моделировании СД 1-го типа у экспериментальных животных обнаружена выраженная гипергликемия до 25,6 нмоль/мл (Рисунок 3).

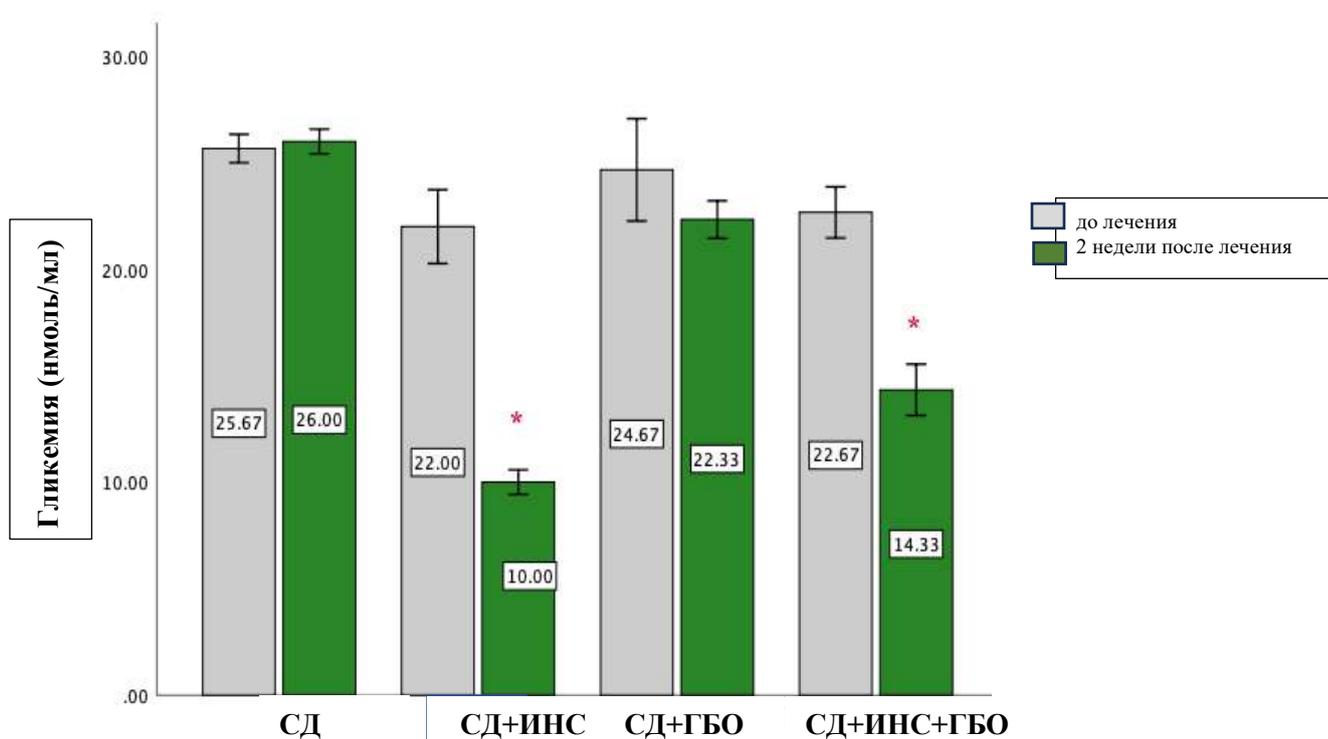


Рисунок 3 – Влияние инсулина, ГБО и сочетания инсулина с ГБО на уровни гликемии у крыс с СД до и после 2-недельного лечения. Данные представлены как среднее значение  $\pm$  стандартное отклонение. \*-  $p < 0,05$  до и после 2-недельного лечения.

Лечение инсулином в течение двух недель значительно снижало уровень глюкозы в крови (в 2,2 раза  $p < 0,05$ ). Применение ГБО снижало уровень глюкозы в крови в 1,1 раза, однако  $p > 0,05$ . Таким образом, даже ГБО сама по себе приводила к небольшому снижению гликемии, но без статистической значимости. Сочетанное применение инсулина и ГБО снижало уровень глюкозы в крови в 1,6

раза ( $p < 0,05$ ). Таким образом, инсулин не индуцирует нормогликемию, но значительно снижает гипергликемию в группах лечения (СД+ИНС и СД+ИНС+ГБО).

### 3.2. Определение уровней маркеров окислительного стресса

Маркеры окислительного стресса ( $O_2^-$ ,  $H_2O_2$ , TBARS и  $NO_2^-$ ) определяли в коронарном венозном оттоке у крыс с СД, собранном в момент стабилизации (S), затем в первую минуту реперфузии после ишемии (R) [12], а затем каждые 5 минут в течение тридцатиминутной реперфузии (Рисунок 3). Данные крысы получали инсулин, ГБО и их комбинацию.

#### 3.2.1. Определение уровня супероксидного анион-радикала

Уровень супероксидного анион-радикала ( $O_2^-$ ) на 1-й минуте реперфузии по сравнению с моментом стабилизации больше всего возрастал у крыс с СД (в 3,0 раза,  $p < 0,05$ ), а также у крыс с СД, получавших инсулин (в 1,6 раза,  $p < 0,05$ ). Аналогичный показатель в группе получавших ГБО возрастал в 1,4 раза ( $p < 0,05$ ) и получавших комбинацию инсулина с ГБО в 0,9 раза ( $p < 0,05$ ). Таким образом, на 1-й минуте реперфузии уровень супероксидного анион радикала у крыс с СД, получавших инсулин был выше в 1,3 раза ( $p < 0,05$ ), также отмечается увеличение в 1,5 раза исследуемого показателя ( $p < 0,05$ ), чем у крыс с СД и подвергнутых ГБО и ГБО с инсулином соответственно. Указанные изменения обнаружены и на 30-й минуте реперфузионного процесса. У крыс с СД без коррекции инсулином и СД, получавших инсулин, уровень исследуемого показателя был в 1,6 / 1,4 раза выше. ( $p < 0,05$  и  $p < 0,05$  соответственно).

Таким образом, уровень супероксидного анион-радикалов был самым низким в группе получавших комбинацию ГБО с инсулином почти во всех точках измерения, как во время стабилизации, так и во время реперфузии после ишемии. Наибольший скачок уровня супероксидного анион-радикала был зафиксирован на

1-й и 30-й минутах реперфузии в группе СД и группе, получавших инсулин. Комбинированное лечение инсулином и ГБО значительно подавляло выработку супероксидного анион-радикала в коронарном венозном оттоке у крыс с СД, особенно в первые минуты реперфузии и в меньшей степени на 30-й минуты реперфузии после 20-минутной ишемии (Рисунок 4).

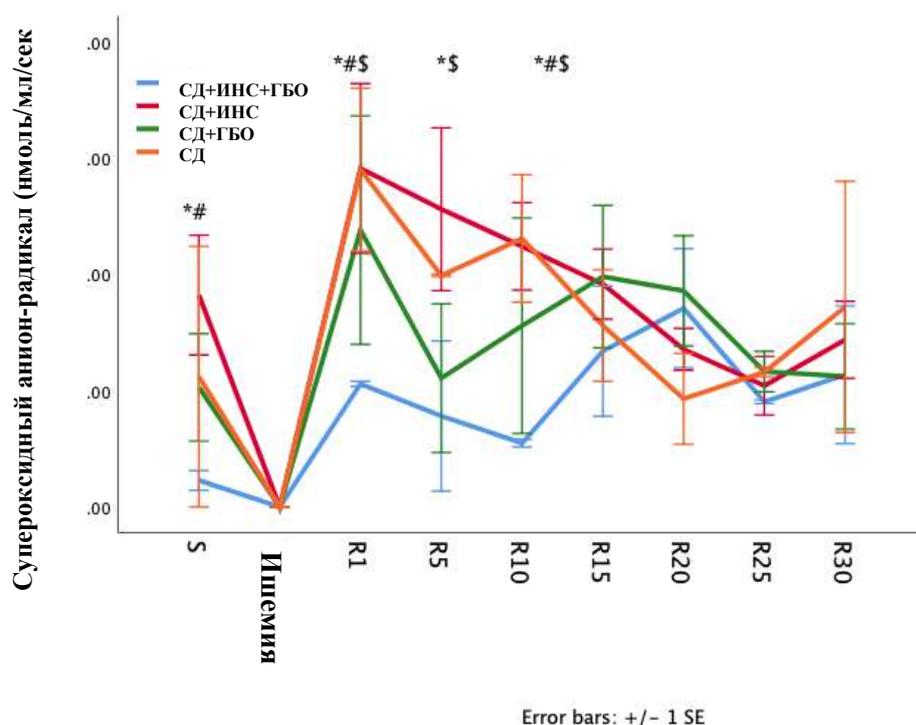


Рисунок 4 – Уровень супероксидного анион-радикала у крыс с СД (контроль) и у крыс с СД, получавших инсулин, ГБО и комбинацию инсулина и ГБО. S - стабилизация; I - ишемия; R - каждые 5 мин реперфузии. Данные представлены как среднее значение  $\pm$  стандартное отклонение. Для изучения различий в уровнях супероксидного анион-радикала использовали независимый Т-тест. \* $p < 0,05$  группа СД по сравнению с СД+ИНС; #  $p < 0,05$  группа СД по сравнению с группой СД+ГБО; \$  $p < 0,05$  группа СД по сравнению с группой СД+ИНС+ГБО.

### 3.2.2. Определение уровня перекиси водорода

У крыс с СД уровень перекиси водорода ( $H_2O_2$ ) был самым высоким в течение всех 30 минут реперфузии. На 1-й минуте реперфузии по сравнению с моментом стабилизации данный показатель возрастал в 1,9 раза ( $p < 0,05$ ). Лечение инсулином и ГБО приводило к незначительному снижению уровня перекиси

водорода по сравнению с группой СД, но без статистической значимости. У крыс с СД, получавших инсулин или ГБО, на 1-й минуте реперфузии по сравнению с моментом стабилизации данный показатель возрастал в 1,3 раза ( $p>0,05$ ) и в 1,2 раза ( $p>0,05$ ) соответственно. Одновременно у крыс с СД, получавших комбинацию инсулина и ГБО, происходило более значительное снижение уровня перекиси водорода в коронарном венозном оттоке крыс в течение всех 30 минут реперфузии (Рисунок 5).

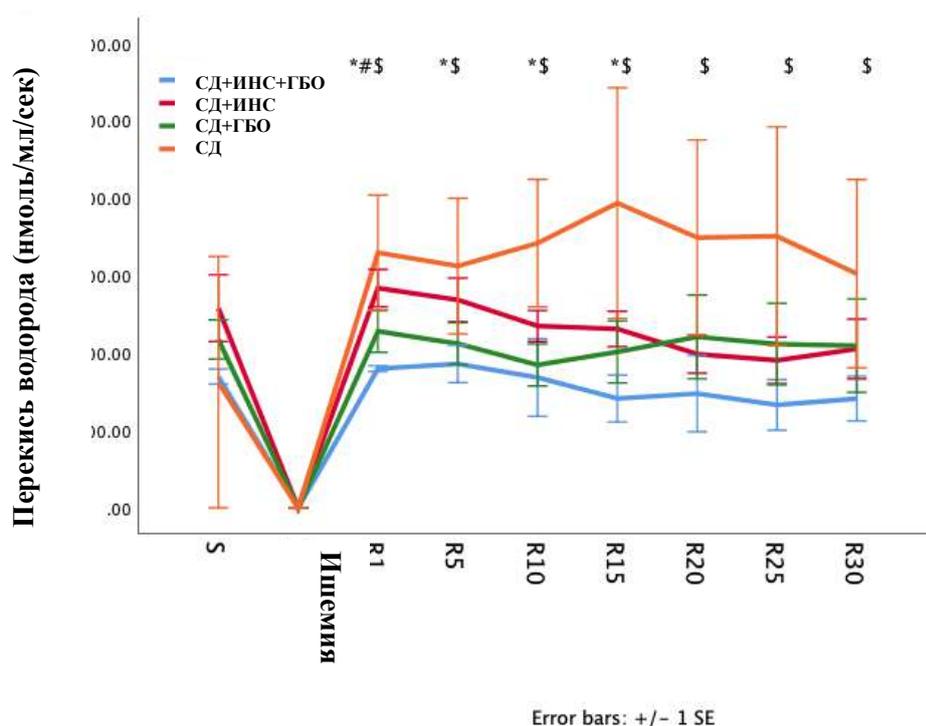


Рисунок 5 – Уровень перекиси водорода у крыс с СД (контроль) и у крыс с СД, получавшие инсулин, ГБО и комбинацию инсулина и ГБО. S - стабилизация; I - ишемия; R - каждые 5 мин реперфузии. Данные представлены как среднее значение  $\pm$  стандартное отклонение. Для изучения различий в уровнях перекиси водорода использовали независимый Т-тест. \* $p < 0,05$  группа СД по сравнению с СД+ИНС; #  $p < 0,05$  группа СД по сравнению с группой СД+ГБО; \$  $p < 0,05$  группа СД по сравнению с группой СД+ИНС+ГБО.

Таким образом, на 1-й минуте реперфузии уровень перекиси водорода у крыс с СД был больше в 1,2 раза, чем у крыс с СД, получавших инсулин, в 1,4 раза ( $p>0,05$ ), чем у крыс с СД, получавших ГБО, ( $p<0,05$ ) и в 1,9 раза, чем у крыс с СД, получавших комбинацию ГБО с инсулином ( $p<0,05$ ). Данная закономерность

зарегистрирована и на 30-й минуте реперфузии. У крыс с СД уровень перекиси водорода был в 1,7 раза выше, чем у крыс с СД, получавших инсулин и ГБО (оба  $p < 0,05$ ) и в 2,7 раза выше, чем у крыс с СД получавших комбинацию ГБО с инсулином ( $p < 0,05$ )

Таким образом, на 15 минуте проведения экспериментальной реперфузии миокарда сердца экспериментальных животных уровень перекиси водорода был самым высоким именно в группе СД во всех точках измерений. Применение комбинации инсулина и оксигенации уменьшало продукцию  $H_2O_2$ . Наиболее выраженное понижение обнаружено на тридцатой минуте реперфузионных восстановительных процессах в левом желудочке миокарда экспериментальных животных (крыс-самцах) (Рисунок 5).

### 3.2.3. Определение индекса перекисного окисления липидов

У экспериментальных животных при моделировании диабета 1 типа индекс перекисного окисления липидов (ИПОЛ) составлял максимальную величину именно за тридцатой минуте исследования реперфузионного процесса в сердце. При исследовании изучаемого показателя на первой минуте реперфузии по сравнению с моментом стабилизации данный показатель возрастал в 3,4 раза ( $p < 0,05$ ). Лечение инсулином, ГБО и их комбинацией, приводили к значительному снижению ИПОЛ во время реперфузии. На первой минуте эксперимента (реперфузии миокарда) у животных с моделированием диабета 1 типа, получавших подкожно инсулин, показатель ИПОЛ возрастал примерно в 1,22 раза ( $p > 0,05$ ). Также зафиксировано при проведении эксперимента, что у животных с диабетом 1 типа, получавших оксигенацию и комбинированное сочетание (инсулин+ГБО), на первой минуте реперфузионного процесса по сравнению со стабилизацией ИПОЛ возрастало в 1,1 раза и 1,1 раза соответственно,  $p > 0,05$ .

Делая выводы, при проведении эксперимента с животными с экспериментальным диабетом 1 типа обнаружено, что в группе СД и животных с 1 типом СД, получающих подкожно инсулин, исследуемый показатель сПОЛ

возрастал примерно в 1,5 раза, в противовес крыс с СД, с курсом оксигенации  $p < 0,05$ , и в 2,2 раза, чем у экспериментальных животных с диабетом первого типа, получавших сочетание ГБО с гормона ( $p < 0,05$ ). Указанные процессы были воспроизводимы и на тридцатой минуте эксперимента (Рисунок 6).

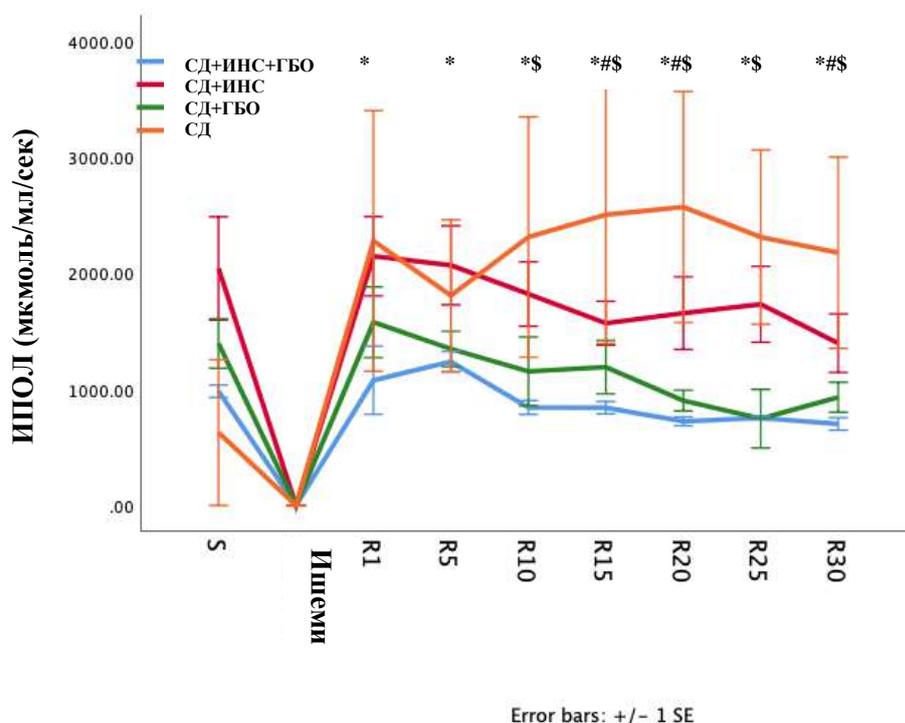


Рисунок 6 – Уровень ИПОЛ у крыс с СД (контроль) и у крыс с СД, получавших инсулин, ГБО и комбинацию инсулина и ГБО. S - стабилизация; I - ишемия; R - каждые 5 мин реперфузии. Данные представлены как среднее значение  $\pm$  стандартное отклонение. Для изучения различий в уровнях ИПОЛ использовали независимый T-тест. \* $p < 0,05$  группа СД по сравнению с СД+ИНС; #  $p < 0,05$  группа СД по сравнению с группой СД+ГБО; \$  $p < 0,05$  группа СД по сравнению с группой СД+ИНС+ГБО.

При анализе экспериментальных данных мы обнаружили, что исследуемый показатель активности процессов перекисного окисления липидов был самым высоким в группе диабета 1 типа, с максимальным ростом на двадцатой минуте реперфузионного процесса. В ходе проведения исследования выявлено, что, максимально низкие значения были определены в группах диабет первого типа и ГБО, диабет 1 типа у экспериментальных животных с инсулином и оксигенацией в течение последних 20-и минут реперфузии. Комбинированное лечение

инсулином и ГБО и только ГБО значительно подавляло выработку липидных свободных радикалов в коронарном венозном оттоке у крыс с СД, почти во всех точках измерения, как во время стабилизации, так и во время реперфузии. Особенно снижение было выражено на 30-й минуте реперфузии после 20-минутной ишемии (Рисунок 6).

### 3.2.4. Определение уровня оксида азота

При моделировании 1 типа диабета у животных, уровень показателя, определяющего величину (NO<sub>2</sub>) был максимальным в течение всех 30 минут реперфузионного процесса. На первой минуте реперфузионного воздействия по сравнению с моментом стабилизации изучаемый показатель увеличивался примерно 2,4 раза,  $p < 0,05$ . Применение ГБО значительно уменьшало (NO<sub>2</sub>) при реперфузионных воздействиях с миокардом левого желудочка. У крыс с СД, получавших инсулин на первой мин реперфузионного процесса по сравнению с моментом стабилизации указанный изучаемый показатель увеличивался примерно в 1,3 раза,  $p > 0,05$ . У экспериментальных животных с 1 типом диабета, получавших оксигенацию и гормон (инсулин) + ГБО на первой мин. Реперфузионного воздействия, по сравнению с моментом стабилизации, показатель (NO<sub>2</sub>) возрастал в 1,1 и 1,1 раза соответственно,  $p > 0,05$ .

В группе СД уровень оксида азота был больше в 1,2 раза, чем в группе СД + инсулин ( $p > 0,05$ ) в 2,2 раза больше, чем в группе СД+ГБО ( $p < 0,05$ ), и в 2,2 раза больше, чем в группе СД+ИНС+ГБО ( $p < 0,05$ ). Данная закономерность зарегистрирована и на 30-й минуте реперфузии. У крыс с СД уровень оксида азота был в 1,1 раза выше, чем у крыс с СД, получавших инсулин ( $p > 0,05$ ), в 2,1 раза выше, чем у крыс с СД, получавших ГБО ( $p < 0,05$ ), и в 2,2 раза выше, чем у крыс с СД, получавших комбинацию ГБО с инсулином ( $p < 0,05$ ) (Рисунок 7).

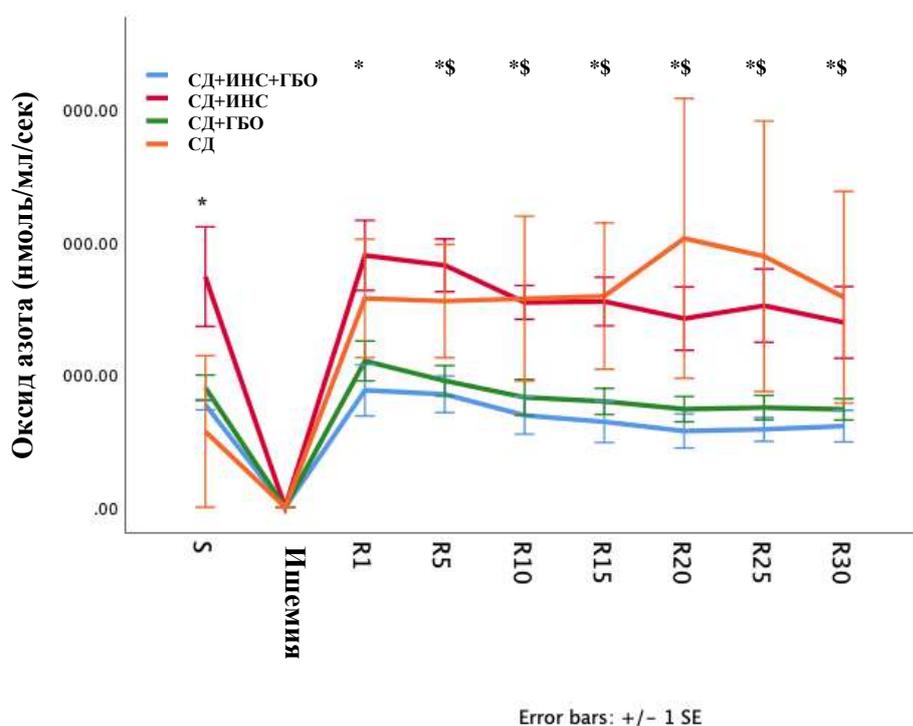


Рисунок 7 – Уровень оксида азота у крыс с СД (контроль) и у крыс с СД, получавшие инсулин, ГБО и комбинацию инсулина и ГБО. S - стабилизация; I - ишемия; R - каждые 5 мин реперфузии. Данные представлены как среднее значение  $\pm$  стандартное отклонение. Для изучения различий в уровнях оксида азота использовали независимый Т-тест. \* $p < 0,05$  группа СД по сравнению с СД+ИНС; #  $p < 0,05$  группа СД по сравнению с группой СД+ГБО; \$  $p < 0,05$  группа СД по сравнению с группой СД+ИНС+ГБО.

Таким образом, уровень оксида азота был самым высоким в группе СД во всех точках измерения, с наибольшим скачком на 20-й минуте реперфузии. Один только инсулин существенно не снижал выработку оксида азота. Данные экспериментов указывают, что самые низкие значения были зафиксированы в группе СД+ГБО и СД+ИНС+ГБО в течение последних 20-и минут реперфузии. Комбинированное лечение инсулином и ГБО и только ГБО значительно подавляло выработку оксида азота в коронарном венозном оттоке у крыс с СД, почти во всех точках измерения, как во время стабилизации, так и во время реперфузии. Особенно снижение было выражено на 30-й минуте реперфузии после 20-минутной ишемии (Рисунок 7).

В таблице 1 представлены статистические результаты, свидетельствующие о статистически значимом различии практически по всем маркерам.

Таблица 1 – Результаты статистического анализа, полученные путем сравнения значений маркеров окислительного стресса с использованием анализа ANOVA

Показатель	Группа	P	Группа	P	Группа	P
<b>O<sub>2</sub>-</b>	СД	<b>0.017</b>	СД	0.141	СД+ГБО	0.653
	СД+ИНС	<b>0.001</b>	СД+ГБО	0.076	СД+ИНС+ГБО	0.639
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	СД	<b>0.032</b>	СД	0.124	СД+ГБО	<b>0.026</b>
	СД+ИНС	<b>0.009</b>	СД+ГБО	0.083	СД+ИНС+ГБО	0.063
<b>ИПОЛ</b>	СД	<b>0.002</b>	СД	0.186	СД+ГБО	<b>0.005</b>
	СД+ИНС	<b>0.000</b>	СД+ГБО	0.132	СД+ИНС+ГБО	<b>0.026</b>
<b>NO-</b>	СД	<b>0.000</b>	СД	0.254	СД+ГБО	<b>0.003</b>
	СД+ИНС	<b>0.000</b>	СД+ГБО	0.225	СД+ИНС+ГБО	<b>0.025</b>
<b>O<sub>2</sub>-</b>	СД	<b>0.044</b>	СД+ИНС	0.629	СД+ИНС	0.247
	СД+ИНС+ГБО	<b>0.046</b>	СД+ИНС+ГБО	0.596	СД+ГБО	0.242
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	СД	<b>0.006</b>	СД+ИНС	0.057	СД+ИНС	0.422
	СД+ИНС+ГБО	<b>0.007</b>	СД+ИНС+ГБО	0.134	СД+ГБО	0.416
<b>ИПОЛ</b>	СД	<b>0.004</b>	СД+ИНС	0.442	СД+ИНС	<b>0.004</b>
	СД+ИНС+ГБО	<b>0.005</b>	СД+ИНС+ГБО	0.506	СД+ГБО	<b>0.002</b>
<b>NO-</b>	СД	<b>0.006</b>	СД+ИНС	0.818	СД+ИНС	<b>0.000</b>
	СД+ИНС+ГБО	<b>0.008</b>	СД+ИНС+ГБО	0.833	СД+ГБО	<b>0.000</b>

Примечание: жирным шрифтом выделено достоверное различие маркеров при сравнении отдельных групп.

### **3.3. ИССЛЕДОВАНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ КРОНАРНОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ И КАРДИОДИНАМИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ СЕРДЦА У ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ**

У крыс с СД, получавших инсулин, ГБО или их комбинацию после 20-минутной ишемии подвергались последующей 30-минутной реперфузией исследовали кардиодинамические параметры и показатели коронарного кровообращения.

#### **3.3.1. Определение максимальной скорости нарастания давления в левом желудочке у крыс-самцов в эксперименте**

Величина максимальной скорости нарастания давления в левом желудочке ( $dp/dt \max$ ) была самой низкой в группе СД во всех точках измерения, как при стабилизации, так и при реперфузии после ишемии. У крыс с СД величина максимальной скорости нарастания давления в левом желудочке ( $dp/dt \max$ ) на 1-й минуте реперфузии по сравнению с моментом стабилизации возрастала в 1,2 раза ( $p > 0,05$ ). Лечение инсулином отдельно или в сочетании с ГБО, а также ГБО отдельно вызывало увеличение значений величины максимальной скорости нарастания давления в левом желудочке ( $dp/dt \max$ ) почти во всех точках измерения по сравнению с группой СД. У крыс с СД, получавших инсулин, ГБО и комбинацию инсулина и ГБО на 1-й минуте реперфузии по сравнению с моментом стабилизации данный показатель возрастал в 1,7 раза ( $p < 0,05$ ), в 1,4 раза ( $p < 0,05$ ) и в 1,8 раза ( $p < 0,05$ ) соответственно. Таким образом, на 1-й минуте реперфузии величина максимальной скорости нарастания давления в левом желудочке ( $dp/dt \max$ ) у крыс с СД получавших инсулин, ГБО и комбинацию инсулина и ГБО на 1-й минуты реперфузии была больше в 1,8 раза ( $p < 0,05$ ), в 1,4 раза ( $p < 0,05$ ) и 1,9 раза ( $p < 0,05$ ), чем у крыс с СД. Наибольший скачок величины максимальной скорости нарастания давления в левом желудочке ( $dp/dt \max$ ) зарегистрирован на 15-й минуте реперфузии в группе СД+ИНС+ГБО по

сравнению со всеми остальными группами. Данная закономерность зарегистрирована и на 30-й минуте реперфузии. У лабораторных животных – крыс с 1 типом экспериментального диабета, получавших гормональную терапию, ГБО и комбинацию инсулина+ ГБО на тридцатой мин. реперфузионного воздействия величина  $dp/dt \max$  увеличилась в 3,0 раза,  $p < 0,05$ , в 2,8 раза ( $p < 0,05$ ) и в 1,5 раза ( $p < 0,05$ ), чем у крыс с СД (Рисунок 8).

Таким образом, инсулин, ГБО и комбинация инсулина с ГБО приводили к нарастанию показателя  $dp/dt \max$  при всех определениях, как при стабилизации, так и при реперфузионных процессах (Рисунок 8).

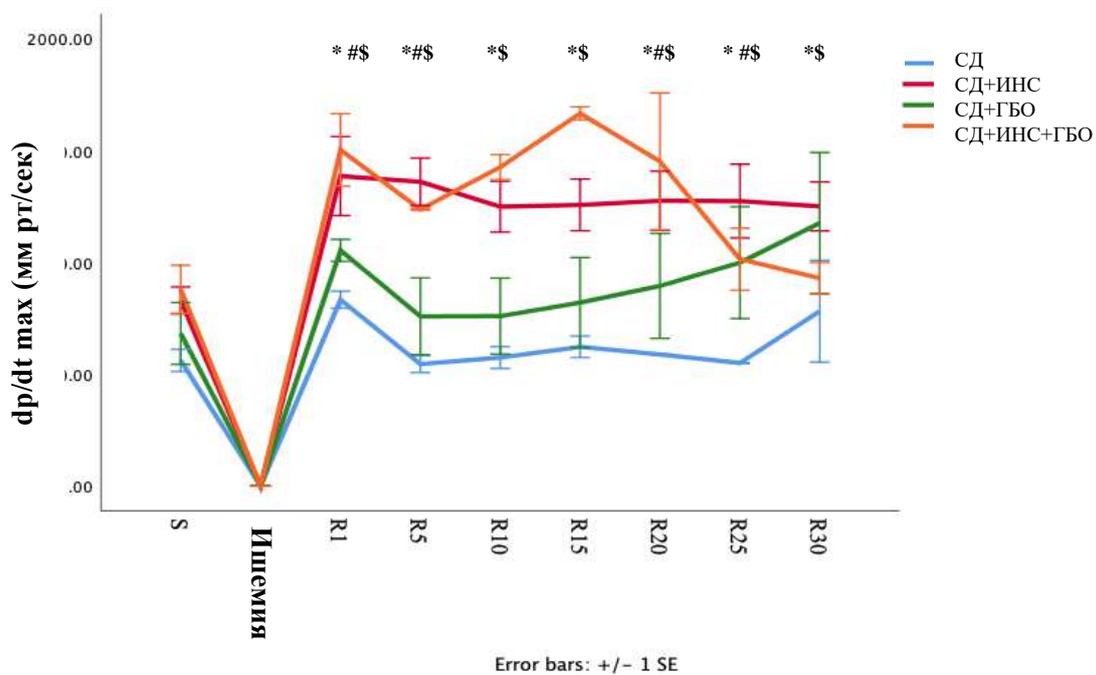


Рисунок 8 – Величина максимальной скорости нарастания давления в левом желудочке ( $dp/dt \max$ ) у крыс с СД (контроль) и у крыс с СД, получавших инсулин, ГБО и комбинацию инсулина и ГБО. S - стабилизация; I - ишемия; R - каждые 5 мин реперфузии. Данные представлены как среднее значение  $\pm$  стандартное отклонение. Для изучения различий в величине максимальной скорости нарастания давления в левом желудочке ( $dp/dt \max$ ) использовали независимый Т-тест. \* $p < 0,05$  группа СД по сравнению с СД+ИНС; #  $p < 0,05$  группа СД по сравнению с группой СД+ГБО; \$  $p < 0,05$  группа СД по сравнению с группой СД+ИНС+ГБО.

### 3.3.2. Определение минимальной скорости нарастания давления в левом желудочке у экспериментальных животных

Величина минимальной скорости нарастания давления в левом желудочке ( $dp/dt \text{ min}$ ) была самой высокой в группе СД+ИНС+ГБО и статистически значимо выше по сравнению со всеми остальными группами как в момент стабилизации, так и вовремя реперфузии. У крыс с СД величина минимальной скорости нарастания давления в левом желудочке ( $dp/dt \text{ min}$ ) на 1-й минуте реперфузии по сравнению с моментом стабилизации практически не изменялась ( $p > 0,05$ ). Лечение инсулином отдельно или в сочетании с ГБО, а также ГБО отдельно вызывало увеличение значений величины минимальной скорости нарастания давления в левом желудочке ( $dp/dt \text{ min}$ ) почти во всех точках измерения по сравнению с группой СД. У крыс с СД, получавших инсулин, ГБО и комбинацию инсулина и ГБО на первой минуте реперфузионного процесса по сравнению с точкой стабилизации указанный исследуемый показатель увеличивался в 1,6 раза ( $p < 0,05$ ), в 1,7 раза ( $p < 0,05$ ) и примерно в 1,4 раза ( $p < 0,05$ ) соответственно.

Данные экспериментов свидетельствуют о том, что, на первой минуте реперфузионного процесса величина  $dp/dt \text{ min}$  у крыс с экспериментальным диабетом, получавших инсулин, оксигенацию и комбинацию гормона инсулина и ГБО на первой минуте реперфузионного процесса была выше в 1,9 раза ( $p < 0,05$ ), в 1,7 раза ( $p < 0,05$ ) и примерно 4,5 раза ( $p < 0,05$ ) соответственно, чем у животных с экспериментальным диабетом.

Максимальное увеличение величины  $dp/dt \text{ min}$  обнаружено с пятнадцатой по двадцать пятую минуты процесса реперфузии в группе СД+ИНС+ГБО по сравнению со всеми другими изучаемыми группами животных. Указанные позиции сохранили свои значения и на тридцатой минуте процесса реперфузионного воздействия. У крыс с СД, получавших инсулин, ГБО и комбинацию инсулина и ГБО на 30-й минуте реперфузии величина минимальной скорости нарастания давления в левом желудочке ( $dp/dt \text{ min}$ ) была больше в 1,2

раза ( $p < 0,05$ ), в 1,3 раза ( $p < 0,05$ ) и в 2,5 раза ( $p < 0,05$ ), чем у крыс с СД (Рисунок 9).

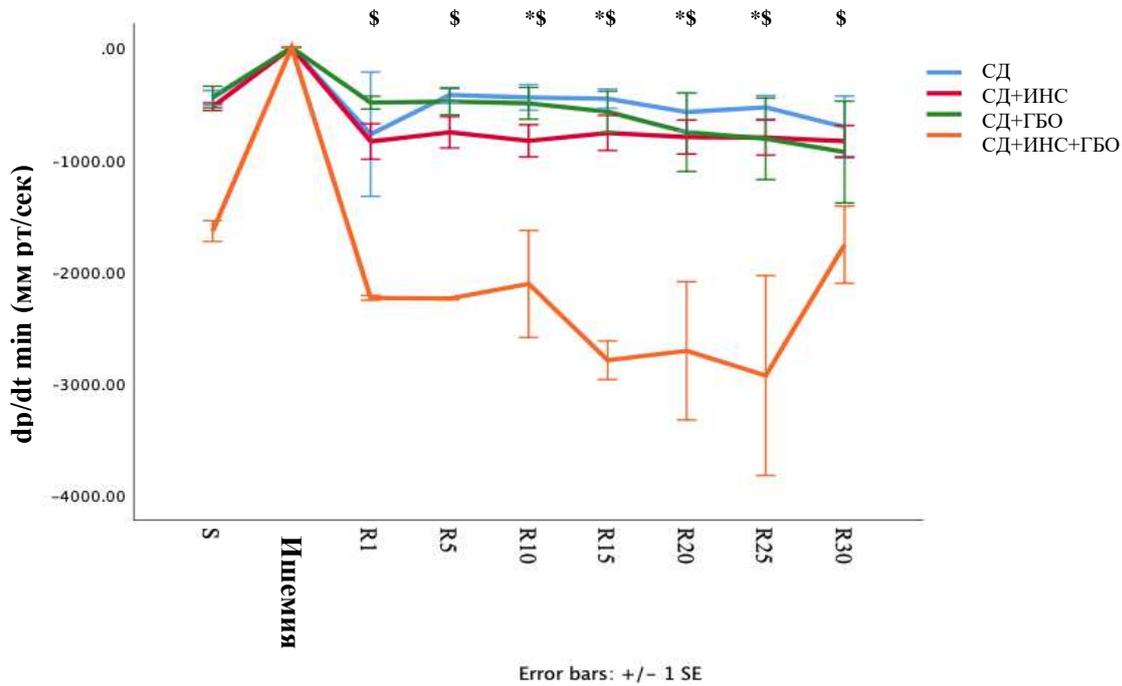


Рисунок 9 – Величина минимальной скорости нарастания давления в левом желудочке ( $dp/dt \text{ min}$ ) у крыс с СД (контроль) и у крыс с СД, получавших инсулин, ГБО и комбинацию инсулина и ГБО. S - стабилизация; I - ишемия; R - каждые 5 мин реперфузии. Данные представлены как среднее значение  $\pm$  стандартное отклонение. Для изучения различий в величине минимальной скорости нарастания давления в левом желудочке ( $dp/dt \text{ min}$ ) использовали независимый T-тест. \* $p < 0,05$  группа СД по сравнению с СД+ИНС; #  $p < 0,05$  группа СД по сравнению с группой СД+ГБО; \$  $p < 0,05$  группа СД по сравнению с группой СД+ИНС+ГБО.

Таким образом, инсулин, ГБО и комбинация инсулина с ГБО приводили к возрастанию показателя  $dp/dt \text{ min}$  при всех измерениях, как при процессе стабилизации, так и при реперфузионных экспериментальных процессах (Рисунок 9).

### 3.3.3. Определение систолического давления в левом желудочке у экспериментальных животных при моделировании сахарного диабета и различных вариантах коррекции гликемии

Величина систолического давления в левом желудочке (СДЛЖ) была самой высокой в группе, получавшей инсулин отдельно и в сочетании с ГБО и статистически значимо выше по сравнению со значениями в группе экспериментальных животных при моделировании диабета 1 типа в момент стабилизации, и при реперфузионных процессах (Рисунок 10).

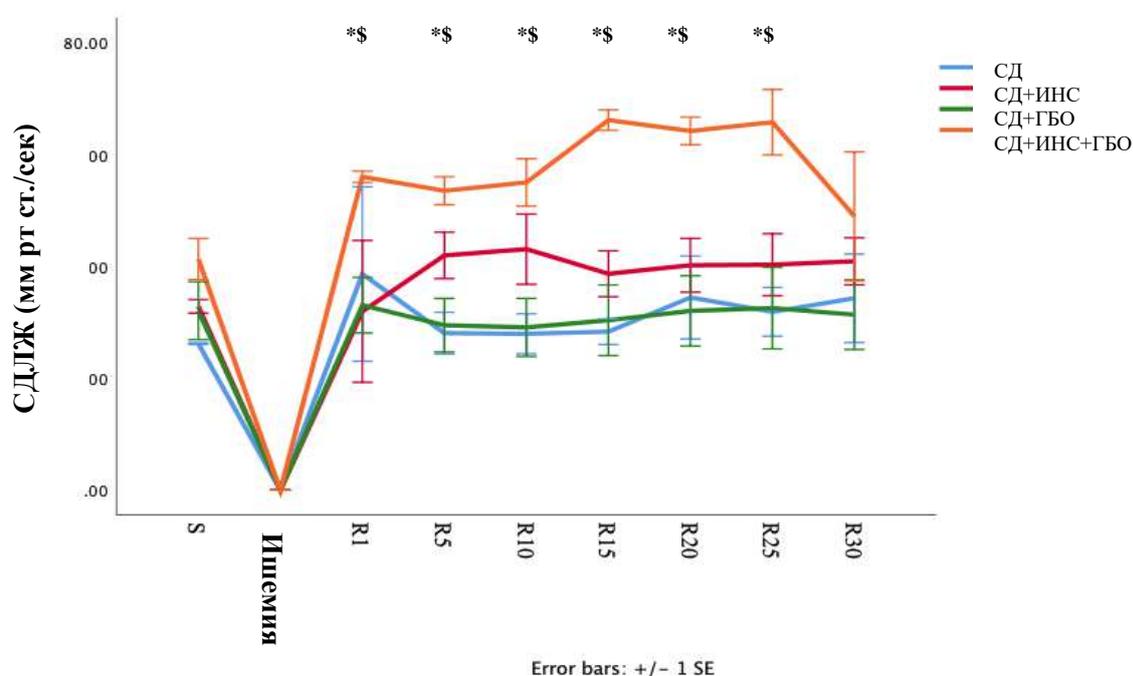


Рисунок 10 – Величина систолического давления в левом желудочке у крыс с СД (контроль) и у крыс с СД, получавших инсулин, ГБО и комбинацию инсулина и ГБО. S - стабилизация; I - ишемия; R - каждые 5 мин реперфузии. Данные представлены как среднее значение  $\pm$  стандартное отклонение. Для изучения различий в величине систолического давления в левом желудочке использовали независимый Т-тест. \* $p < 0,05$  группа СД по сравнению с СД+ИНС; #  $p < 0,05$  группа СД по сравнению с группой СД+ГБО; \$  $p < 0,05$  группа СД по сравнению с группой СД+ИНС+ГБО.

У лабораторных животных с диабетом 1 типа (экспериментальное моделирование), с СД, получавших инсулин и оксигенацию отдельно показатель СДЛЖ на первой минуте реперфузионного воздействия по сравнению с моментом

стабилизации практически не изменялась (все  $p > 0,05$ ). У крыс с СД, получавших комбинацию инсулина и ГБО, на первой минуте реперфузионного процесса по сравнению со временем стабилизации указанная величина возрастала примерно в 1,6 раза,  $p < 0,05$ . Делая выводы, можно отметить, что в ходе исследования, на первой минуте реперфузионного процесса показатель СДЛЖ у экспериментальных животных с диабетом 1 типа, получавших комбинацию подкожного инсулина и ГБО, на первой минуте реперфузионного процесса зафиксирован больше примерно в 1,5 раза ( $p < 0,05$ ), в 1,7 раза ( $p < 0,05$ ) и 1,7 раза ( $p < 0,05$ ) соответственно, чем у крыс с СД и с СД, получавших инсулин и ГБО отдельно. Лечение инсулином отдельно или в сочетании с ГБО вызывало увеличение значений величины СДЛЖ почти во всех точках измерения по сравнению с группой СД и СД, получавших ГБО. Наибольший скачок величины СДЛЖ зарегистрирован с 15-й по 25-ю минуты реперфузии в группе СД+ИНС+ГБО и с 5-й по 10-ю минуты в группе СД+ИНС по сравнению со всеми остальными группами. Данная закономерность зарегистрирована и на 30-й минуте реперфузии. У крыс с СД, получавших инсулин и комбинацию инсулина и ГБО, на 30-й минуте реперфузии величина СДЛЖ была больше в 1,3 раза ( $p < 0,05$ ) и в 1,7 раза ( $p < 0,05$ ) соответственно, чем у крыс с СД и в 1,4 раза ( $p < 0,05$ ) и в 1,8 раза ( $p < 0,05$ ) соответственно, чем у крыс с СД, получавших только ГБО (Рисунок 10).

Таким образом, введение только ГБО не оказывало существенного влияния на значения величины СДЛЖ. Введение инсулина и комбинации инсулина с ГБО приводили к увеличению величины СДЛЖ во всех точках измерения, как во время стабилизации, так и во время реперфузии (Рисунок 10).

#### **3.3.4. Определение диастолического давления в левом желудочке у экспериментальных животных при моделировании сахарного диабета и различных вариантах коррекции гликемии**

Комбинированная терапия инсулином и ГБО приводила к наиболее значительному увеличению значений диастолического давления в левом

желудочке (ДДЛЖ) по сравнению со всеми остальными группами. Во всех группах величина ДДЛЖ на 1-й минуте реперфузии по сравнению с моментом стабилизации практически не изменялась (все  $p > 0,05$ ). Таким образом, на первой минуте реперфузии величина ДДЛЖ у крыс с СД, получавших комбинацию инсулина и оксигенации, была увеличена в 1,5 раза, чем у лабораторных животных с диабетом первого типа и диабетом, получавших гипогликемическую терапию и ГБО отдельно, все  $p < 0,05$ . Применение инсулина подкожно в монотерапии или с ГБО приводило к повышению показателя ДДЛЖ почти во всех измерения по сравнению с группами экспериментального диабета и диабета первого типа с ГБО (Рисунок 11).

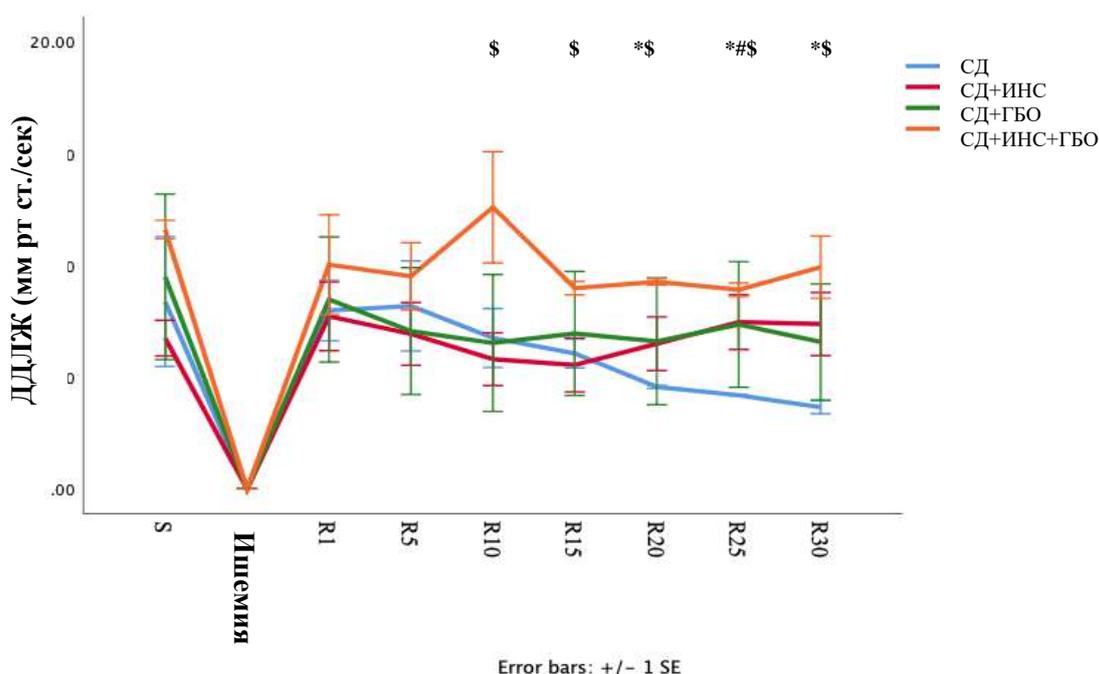


Рисунок 11 – Величина диастолического давления в левом желудочке у крыс с СД (контроль) и у крыс с СД, получавших инсулин, ГБО и комбинацию инсулина и ГБО. S - стабилизация; I - ишемия; R - каждые 5 мин реперфузии. Данные представлены как среднее значение  $\pm$  стандартное отклонение. Для изучения различий в величине диастолического давления в левом желудочке (ДДЛЖ) использовали независимый T-тест. \* $p < 0,05$  группа СД по сравнению с СД+ИНС; #  $p < 0,05$  группа СД по сравнению с группой СД+ГБО; \$  $p < 0,05$  группа СД по сравнению с группой СД+ИНС+ГБО.

Максимальное увеличение показателя ДДЛЖ обнаружено с десятой по тридцатую минуты реперфузионного процесса в группе СД+ИНС+ГБО и с 25-й

по 30-ю минуты в группе экспериментального диабета 1 типа и ИНС по сравнению со всеми остальными группами [4]. При этом ГБО самостоятельно приводила к достоверному увеличению значений ДДЛЖ в последние 10 минут реперфузии по сравнению с группой СД. Данная закономерность зарегистрирована и на 30-й минуте реперфузии. У крыс с СД, получавших инсулин, ГБО и комбинацию инсулина и ГБО, на 30-й минуте реперфузии величина ДДЛЖ была больше в 1,9 раза ( $p < 0,05$ ), в 1,8 раза ( $p < 0,05$ ) и в 2,5 раза ( $p < 0,05$ ) соответственно, чем у крыс с СД (Рисунок 11).

Таким образом, введение инсулина, ГБО и комбинации инсулина с ГБО приводили к увеличению величины ДДЛЖ во всех точках измерения, как во время стабилизации, так и во время реперфузии (Рисунок 11).

### **3.3.5. Определение частоты сердечных сокращений у экспериментальных животных с сахарным диабетом и различными видами коррекции гликемии**

Частота сердечных сокращений (ЧСС) была самой высокой в группе, получавшей инсулин отдельно и в сочетании с ГБО и статистически значимо выше по сравнению со значениями в группе СД в момент стабилизации, а также во время реперфузии. Во всех группах ЧСС на 1-й минуте реперфузии по сравнению с моментом стабилизации практически не изменялась (все  $p > 0,05$ ). Лечение инсулином отдельно или в сочетании с ГБО вызывало увеличение ЧСС почти во всех точках измерения по сравнению с группой СД и СД, получавших ГБО. Наибольший скачок ЧСС зарегистрирован с 25-й по 30-ю минуту реперфузии в группе СД+ИНС+ГБО и на 30-й минуте в группе СД+ИНС по сравнению со всеми остальными группами. Данная закономерность зарегистрирована и на 30-й минуте реперфузии. У крыс с СД, получавших инсулин и комбинацию инсулина и ГБО, на 30-й минуте реперфузии ЧСС была больше в 1,5 раза ( $p < 0,05$ ), чем у крыс с СД и у крыс с СД, получавших только ГБО (Рисунок 12).

Таким образом, введение только ГБО не оказывало существенного влияния на ЧСС. Введение инсулина и комбинации инсулина с ГБО приводили к увеличению ЧСС во всех точках измерения, как во время стабилизации, так и во время реперфузии (Рисунок 12).

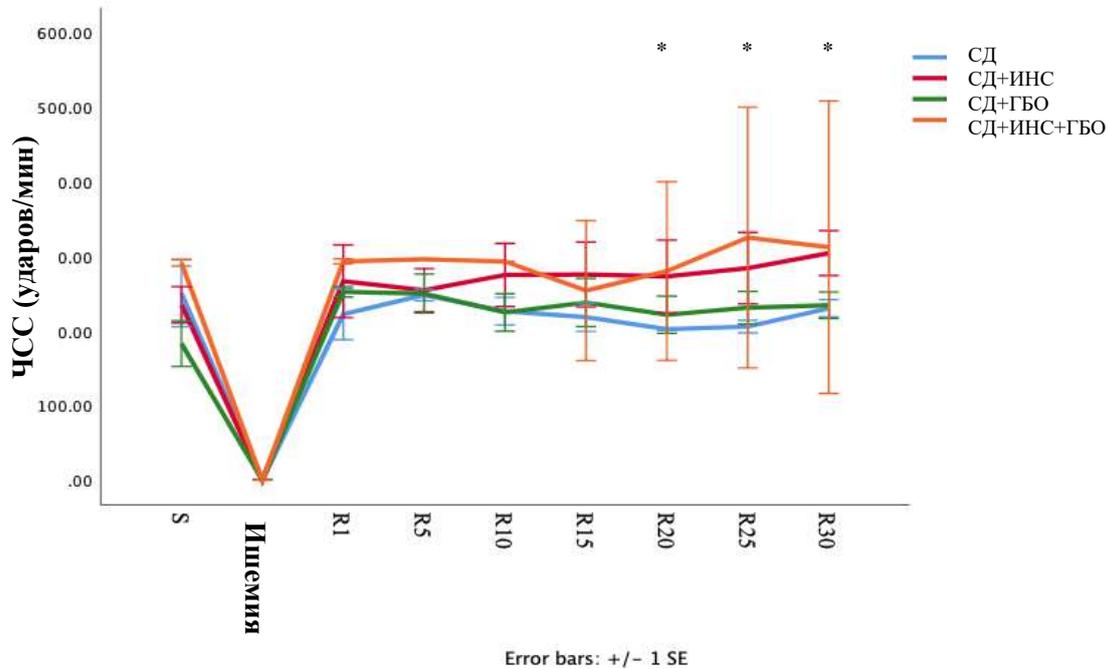


Рисунок 12 – Частота сердечных сокращений у крыс с СД (контроль) и у крыс с СД, получавших инсулин, ГБО и комбинацию инсулина и ГБО. S - стабилизация; I - ишемия; R - каждые 5 мин реперфузии. Данные представлены как среднее значение  $\pm$  стандартное отклонение. Для изучения различий в величине частоты сердечных сокращений использовали независимый T-тест. \* $p < 0,05$  группа СД по сравнению с СД+ИНС; #  $p < 0,05$  группа СД по сравнению с группой СД+ГБО; \$  $p < 0,05$  группа СД по сравнению с группой СД+ИНС+ГБО.

### 3.3.6. Определение объема циркулирующей крови по кровеносным сосудам миокарда у экспериментальных животных при моделировании сахарного диабета и различных вариантах коррекции гликемии

Группа СД имела самую низкую циркуляцию крови по кровеносным сосудам миокарда в течение всех 30 минут реперфузии, а также при стабилизации. Лечение ГБО приводило к небольшому увеличению значения циркуляции крови по кровеносным сосудам миокарда по сравнению с группой СД, но без статистической значимости, в то время как инсулин или его комбинация (группа

СД+ИНС+ГБО) достоверно повышали циркуляцию крови по кровеносным сосудам миокарда в течение всех 30 минут реперфузии (Рисунок 13). Данная закономерность зарегистрирована и на 30-й минуте реперфузии. У крыс с СД, получавших инсулин и комбинацию инсулина и ГБО, на 30-й минуте реперфузии циркуляция крови по кровеносным сосудам миокарда была больше в 1,4 раза ( $p < 0,05$ ) и в 2,5 раза ( $p < 0,05$ ), чем у крыс с СД. У крыс с СД, получавших только ГБО, данный показатель был в 1,2 раза больше, чем у крыс с СД, однако  $p > 0,05$  (Рисунок 13).

Таким образом, введение только ГБО не оказывало существенного влияния на циркуляцию крови по кровеносным сосудам миокарда. Введение инсулина и комбинации инсулина с ГБО приводили к увеличению циркуляции крови по кровеносным сосудам миокарда во всех точках измерения, как во время стабилизации, так и во время реперфузии (Рисунок 13).

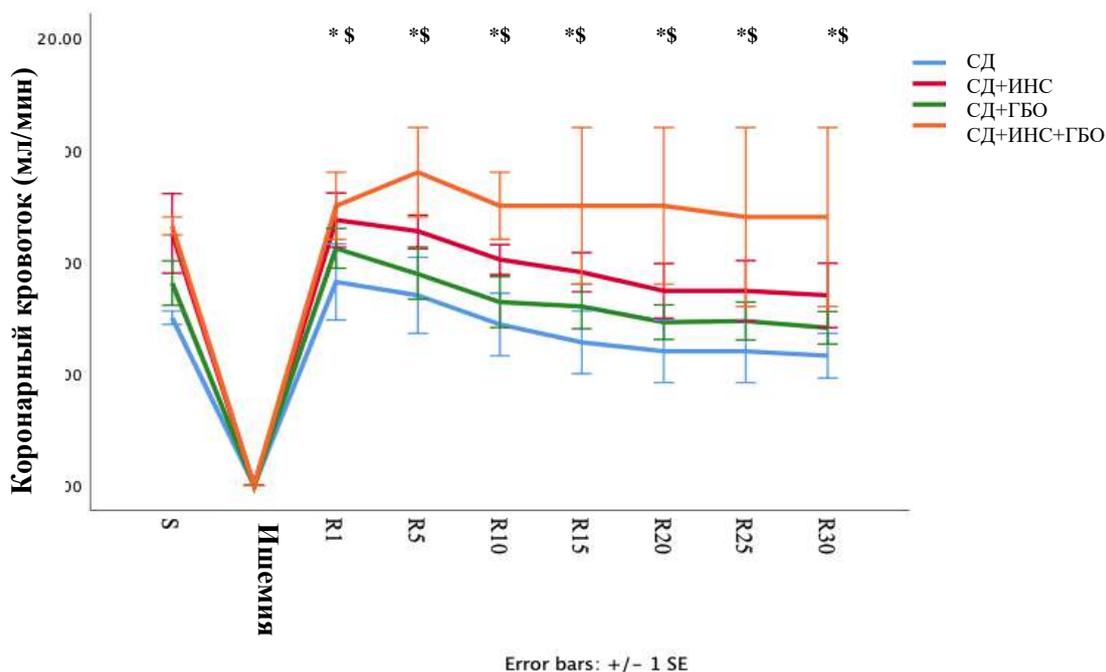


Рисунок 13 – Величина значений циркуляции крови по кровеносным сосудам миокарда у крыс с СД (контроль) и у крыс с СД, получавших инсулин, ГБО и комбинацию инсулина и ГБО. S - стабилизация; I - ишемия; R - каждые 5 мин реперфузии. Данные представлены как среднее значение  $\pm$  стандартное отклонение. Для изучения различий в величине значения циркуляции крови по кровеносным сосудам миокарда использовали независимый Т-тест. \* $p < 0,05$  группа СД по сравнению с СД+ИНС; #  $p < 0,05$  группа СД по сравнению с группой СД+ГБО; \$  $p < 0,05$  группа СД по сравнению с группой СД+ИНС+ГБО.

### **3.4. ИССЛЕДОВАНИЕ ДИНАМИКИ ИЗМЕНЕНИЯ БИОМАРКЕРОВ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У КРЫС С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ**

Одним из показателей окислительного стресса и течения процессов перекисного окисления липидов является супероксидный анион-радикал. При анализе его активности, обнаружено, что экспериментальные животные с 1 типом диабета, получающих инсулин, уровень данного биомаркера увеличивался на 5,7% по сравнению с группой без терапии инсулином.

В третьей группе, где применялся инсулин подкожно и ГБО, величина указанного показателя уменьшалась на 6,3%.

В четвертой группе, при лечении экспериментального диабета только гипербарической оксигенацией, показатель указанного маркера статистически достоверно понижался примерно на 14,7% по сравнению с первой исследуемой группой (Таблица 2).

При анализе экспериментальных данных, в частности, изменения величин маркера процесса липопероксидации - перекиси водорода показало, что применение гипогликемической терапии в группе животных с экспериментальным диабетом увеличило уровень указанного показателя на 26,7% по сравнению с группой животных без применения гипогликемической терапии [5].

В третьей группе экспериментальных животных, где использовалась гипогликемическая терапия и ГБО, показатель перекиси водорода возрастал примерно на 1,1%. В четвертой экспериментальной группе, при коррекции диабета 1 типа у лабораторных животных исключительно гипербарической оксигенацией, указанный показатель статистически достоверно снизился примерно на 5,3% по сравнению с первой группой [5] (Таблица 2).

Динамика биомаркера окислительного стресса – малонового диальдегида (по методу TBARS) – показала, что применение гипогликемической терапии у экспериментальных животных с 1 типом диабета увеличило показатель

указанного маркера примерно на 35,7% по сравнению с первой группой (без гипогликемической терапии инсулином) [5].

В третьей экспериментальной группе, где применялась гипогликемическая терапия гормоном инсулином и гипербарическая оксигенотерапия, показатель малонового диальдегида снижался примерно на 9,4%.

В 4-й группе при коррекции СД только гипербарической оксигенацией уровень данного биомаркера увеличился на 1,1% по сравнению с 1-й группой [5] (Таблица 2).

Таблица 2 – Содержание супероксидного анион-радикала ( $O_2^-$ ), перекиси водорода ( $H_2O_2$ ), малонового диальдегида (МДА) и оксида азота ( $NO_2$ ) у крыс с сахарным диабетом без лечения и после лечения инсулином, инсулином в комбинации с ГБО и только ГБО [5]

Группы исследований	Уровень $O_2^-$ нмоль/мл/сек	Динамика уровня $O_2^-$ (%)	Уровень $H_2O_2$ нмоль/мл/сек	Динамика уровня $H_2O_2$ (%)	Уровень МДА микро/моль/мл/сек	Динамика уровня МДА (%)	Уровень $NO_2$ нмоль/мл/сек	Динамика уровня $NO_2$ (%)
<b>I. СД без лечения</b>	3,82±0,38		5,38±0,43		1,82±0,17		4,91±0,50	
<b>II. Лечение СД+ИНС</b>	4,04±0,38	+5,7	6,82±0,54	+26,7	2,47±0,25*	+35,7	2,23±0,22*	-54,6
<b>III. Лечение СД+ИНС + ГБО</b>	3,58±0,38	-6,3	5,44±0,51	+1,1	1,65±0,15#	-9,4	4,51±0,45#	-8,2
<b>IV. Лечение СД+ГБО</b>	3,26±0,33*#	-14,7	5,10±0,50*#	-5,3	1,84±0,17#	+1,1	4,70±0,47#	-4,3

Примечание: СД – сахарный диабет, ИНС – инсулинотерапия, ГБО – гипербарическая оксигенация; \* –  $p < 0,05$  в сравнении с контрольной 1-й группой, # –  $p < 0,05$  в сравнении со 2-й группой лечения инсулином [5].

В ходе серии экспериментов установлено, что уровень оксида азота ( $\text{NO}_2^-$ ) в экспериментальной группе, где лабораторные животные с диабетом 1 типа получали гипогликемическую терапию, статистически значимо снижался примерно на 54,6% по сравнению группой без гипогликемической терапии.

В группе экспериментальных животных, где использовалась гипогликемическая терапия в сочетании с гипербарической оксигенацией стабильный показатель оксида азота (нитрит/нитрат) уменьшался на 8,2% [5].

В четвертой группе для лечения 1 типа экспериментального сахарного диабета применялась исключительно ГБО, при этом обнаружено, что уровень стабильных показателей оксида азота (нитрит/нитрат) понижался примерно на 4,4 % по сравнению с первой группой лабораторных животных [5] (Табл. 2).

При исследовании антиоксидантной активности крови у экспериментальных животных обнаружено, что активность ферментативного звена антиоксидантной системы крови, в частности СОД, показала, что применение гипогликемической терапии в группе животных с экспериментальным диабетом 1 типа, активность указанного фермента повышалась на 12,2% по сравнению с группой животных без гипогликемического лечения [5].

В третьей группе, где применялась гипогликемическая терапия в сочетании с гипербарической оксигенотерапией, показатель СОД увеличился на 50,2%.

В четвертой группе лабораторных животных, у которых для нормализации показателей гликемии применялась только терапия гипербарической оксигенацией показатель активности антиоксидантного фермента статистически достоверно увеличивался примерно на 61,4% по сравнению с первой группой животных (Таблица 3).

При исследовании нами обнаружено, что активность другого представителя антиоксидантной системы крови – каталазы, при коррекции гормоном инсулином уровня гликемии у экспериментальных животных с 1 типом диабета, активность указанного фермента возрастала на 22,2% по сравнению с первой группой без гипогликемического лечения инсулином.

В третьей группе лабораторных животных, где применялась гипогликемическая терапия препаратом короткодействующего инсулина и гипероксигенации, показатель активности каталазы статистически достоверно увеличился примерно на 108,3%.

В четвертой группе экспериментальных животных при коррекции диабета 1 типа у крыс-самцов исключительно гипербарической оксигенацией в режиме монотерапии показатель активности каталазы статистически достоверно и значимо повысился на 115,2% по сравнению с первой группой лабораторных животных [5] (Таблица 3).

Таблица 3 – Активность супероксиддисмутазы (СОД), каталазы (САТ) и восстановленного глутатиона (GSH) у крыс с сахарным диабетом без лечения и после лечения инсулином, инсулином в комбинации с ГБО и только ГБО [5]

Группы исследований	Активность СОД Ед/мл/Нб гемолізата	Динамика активности СОД (%)	Активность САТ Ед/мл/Нб гемолізата	Динамика активности САТ (%)	Активность GSH Ед/мл/Нб гемолізата	Динамика активности GSH (%)
<b>I. СД без лечения</b>	19,44±1,20		2,88±0,25		16497,5±1550,0	
<b>II. Лечение СД+ИНС</b>	21,82±2,17	+12,2	3,52±0,38	+22,2	18090,1±1700,2	+9,6
<b>III. Лечение СД+ИНС+ ГБО</b>	29,20±2,53 *#	+50,2	6,00±0,30 *	+108,3	30387,7±2965,3 *#	+84,2
<b>IV. Лечение СД+ГБО</b>	31,34±2,0* #	+61,2	6,20±0,32 *#	+115,2	14120,9±1270,5 #	-14,4

Примечание: СД – сахарный диабет, ИНС – инсулинотерапия, ГБО – гипербарическая оксигенация; \* –  $p < 0,05$  в сравнении с контрольной 1-й группой, # –  $p < 0,05$  в сравнении со 2-й группой лечения инсулином [5].

Следующим этапом нашего исследования стало изучение активности одного из главных представителей антиоксидантной системы крови – восстановленного глутатиона (GSH). При анализе лабораторных данных нами обнаружено, что применение инсулина при 1 типе экспериментального диабета во 2-й группе животных увеличило уровень активности указанного фермента на 9,6% по сравнению с первой группой без гипогликемической терапии [5].

В третьей группе лабораторных животных, где применялось сочетание инсулинотерапии и ГБО, показатель активности глутатиона статистически значимо возрос на 84,2% [5].

В четвертой группе лабораторных животных при коррекции уровня гликемии у экспериментальных животных с 1 типом диабета только гипербарической оксигенацией показатель активности восстановленного глутатиона уменьшился на 14,4% по сравнению с первой группой лабораторных крыс-самцов [5] (Таблица 3).

Таким образом, было обнаружено, что при получении только ГБО терапии у крыс с СД происходит снижение показателей крови, являющихся биомаркерами окислительного стресса, и усиление активности антиоксидантных ферментов, что отражает наступающий антиоксидантный эффект.

## ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

СД характеризуется развитием острых (комы) и хронических (микро/макрососудистых) осложнений [125, 166]. Несмотря на то, что в многочисленных исследованиях изучались и сопоставлялись роли различных компонентов, которые способствуют возникновению сосудистых осложнений при СД, точная оценка их влияния остается сложной задачей [63]. Тем не менее, как показали несколько исследований, как микрососудистые, так и макрососудистые последствия в основном или частично зависят от уровня и постоянства гипергликемии и ее суточных колебаний [24]. Повреждение сосудов, вызванное гипергликемией, включает в себя, по меньшей мере, четыре основных пути: повышенную активность полиола, которая вызывает накопление сорбитола и фруктозы; повышенное образование конечных продуктов гликирования; активацию протеинкиназы С и ядерного фактора κВ; и повышенный уровень гексозамина. Существует множество причин указывающих, что гипергликемия вызывает все эти метаболические нарушения по одному-единственному пути: из-за того, что митохондриальная цепь переноса электронов вырабатывает слишком много супероксидного анион-радикала. Эта теория, предложенная Браунли [41], по-видимому, показывает, что окислительный стресс, вызванный гипергликемией, играет важную роль в патогенезе СД. Хроническое (низкоинтенсивное) воспаление также оказывает существенное влияние на развитие СД. Наличие воспаления запускает выработку активных форм кислорода тканями или иммунными клетками в различных периферических тканях, включая жировую ткань (особенно на передней брюшной стенке), атеросклеротические бляшки с эндотелием сосудов, печень (за счет накопления триглицеридов), кишечник и др. Активные формы кислорода связываются с определенными субъединицами рецептора инсулина, воздействуя на пострецепторные сигнальные пути, не позволяя организму должным образом реагировать на уровень инсулина [159].

Валидной экспериментальной моделью СД1 у экспериментальных животных (крыс) является применение СТЗ. Чтобы составить полное представление о роли

ГБО и гликемического контроля в физиологии и патофизиологии миокарда, с помощью аппарата Лангендорфа, у крыс с СД1 типа, осуществлялся мониторинг функции миокарда *ex vivo* посредством функции левого желудочка, который является морфологически и функционально более доминирующей полостью сердца. Кроме того, аппарату Лангендорфа было нанесено инфракрасное повреждение, и во время реперфузионного периода проводилось наблюдение за работой сердца. Таким образом, ГБО был исследован как потенциальный прекондиционирующий агент. Усиление репликации фибробластов, увеличение выработки коллагена и неоваскуляризация ишемизированных тканей являются наиболее значимыми преимуществами ГБО при ишемически-реперфузионных повреждениях. Доказано, что ГБО повышает уровень кислорода в артериальной крови. Увеличение градиента тканево-клеточной диффузии увеличивает поступление кислорода в клетки, а умеренная гипероксия усиливает ангиогенез, увеличивая образование необходимого коллагенового матрикса для ангиогенеза [44, 176]. Для оценки указанных изменений в коронарном венозном оттоке изолированного сердца крысы были измерены параметры окислительного стресса. В этой модели было зарегистрировано значительное повышение уровня ТВАР, являющегося маркером перекисного окисления липидов, что свидетельствует о существовании окислительного стресса [5, 15, 46, 56]. Из проведенной серии экспериментов нами показано, что комбинированное лечение инсулином и ГБО приводит к значительному снижению продукции ТВАР в коронарном венозном оттоке. Как побочный продукт перекисного окисления липидов, МДА иногда рассматривается как признак окислительного стресса. Выводы некоторых авторов [5, 73] о том, что введение ГБО перед ишемией улучшало почечное кровообращение за счет снижения радикального перекисного окисления липидов мембран кислородом, согласуются с нашими результатами. Однако есть данные, которые противоречат нашим выводам. Например, в работе [165], хотя уровень МДА и не достиг статистически значимого уровня, он был выше в группах, получавших ГБО, чем в других группах. В этом исследовании повышение уровня МДА рассматривалось как маркер окислительного повреждения, которое, как

предполагалось, было вызвано повышением уровня кислорода в клетках в результате приема ГБО. Баланс между окислительной и антиоксидантной системами может быть достигнут путем повышения уровня антиоксидантов в одних и тех же группах, что может уменьшить прооксидантное повреждение. Также было продемонстрировано, что через 30 мин после ГБО с 30% давлением кислорода при 1,3 АТМ у собак повышалась активность глутатионпероксидазы в эритроцитах. Считается, что ядерный фактор 2, связанный с эритроидом 2 (Nrf2), чувствительный к окислительно-восстановительным процессам фактор транскрипции, играет ключевую роль в клеточной защите от окислительного стресса путем усиления регуляции транскрипции белков антиоксидантного стресса, таких как глутатионпероксидаза и защитные ферменты фазы II [1, 6, 66]. В тканях печени крыс с СД, вызванным СТЗ, были обнаружены связанные с окислительным стрессом изменения в экспрессии мРНК и белков таких антиоксидантных ферментов, как САТ и СОД меди и цинка [66]. Полученные результаты подтверждают предположение о том, что патологические процессы, приводящие к реализации СД, базируются на усилении течения окислительного стресса [87, 91, 148, 157]. В текущем исследовании мы показали, что 2-недельное лечение инсулином отдельно или в комбинации с ГБО вызывает снижение выработки маркеров оксидативного стресса в коронарном венозном оттоке крыс, который был собран после 20-минутной глобальной ишемии (при которой кровоток был прерван), и в течении 30-минутной реперфузии [5, 15, 70, 71]. Полученные результаты соответствуют результатам исследования, в ходе которого изучалось влияние ГБО на людей с СД, где было продемонстрировано, что ГБО не оказывает прооксидантного действия [69]. Антиоксидантная ферментная система, по-видимому, также активно задействована в этом процессе, усиливая защиту от окислительного повреждения [52].

Несколько групп исследователей [170,171,174] продемонстрировали, как в эндотелиальных клетках человека ГБО приводит к повышению экспрессии генов антиоксидантов, что способствует активации защитных механизмов от окислительного повреждения ишемизированных тканей за счет снижения

выработки АФК. Кроме того, было продемонстрировано, что 7 ежедневных сеансов ГБО могут снижать экспрессию индуцируемого гипоксией фактора 1 альфа в тканях ишемизированных ран крыс, следовательно, снижая апоптоз. Кроме того, эти данные показали, что после курса ГБО в месте раневого повреждения было обнаружено меньше нейтрофилов, что указывает на уменьшение воспаления.

В серии экспериментов указано, что экспрессия молекулярных шаперонов повышается в эндотелиальных клетках микрососудов в ответ на ГБО. Хотя точная роль этих шаперонов в эндотелиальных клетках пока неизвестна, наши функциональные исследования показывают, что они могут помочь защитить клетки от повреждающего действия окислительного стресса. Выявлено, что Nrf-2 является ключевым механизмом реакции на окислительный стресс, который контролируется ГБО с точки зрения защиты эндотелиальных клеток. Более 200 генов, участвующих в защите и антиоксидантной активности, регулируются этим путем. Многочисленные гены-мишени Nrf-2 могут быть активированы при воздействии ГБО, и вполне вероятно, что эти гены помогают защитить клетки эндотелия от окислительного стресса. Nrf-2 может контролировать металлотионеины, которые лучше всего реагируют на ГБО. Ген гемоксигеназы является одним из интересных генов, регулируемых Nrf-2, который активируется ГБО [21, 29, 42, 79]. Что касается компенсации СД, повторные курсы ГБО в течение года снижают потребление инсулина, восстанавливают остаточную секрецию инсулина и подавляют выработку контринсулярных гормонов, таких как глюкагон, адреналин, глюкокортикоиды. Пациентам с СД 1 типа и пациентам с СД 2 типа, получающих инсулин, более эффективно назначать 3 курса ГБО с интервалом в 4 месяца, чем 2 курса с интервалом в 6 месяцев; однако при трех-курсовом приеме максимальный положительный эффект ГБО на гормонально-метаболический статус достигается только во время 2-го курса, а 3 курс лишь усиливает уже достигнутый эффект [18, 19]. Комбинированное лечение ГБО и инсулином продемонстрировало не только благоприятное влияние на коронарный окислительный статус, но и положительное влияние на кардиодинамику

изолированного сердца крысы. СДЛЖ и  $dp/dt$  max являются двумя кардиодинамическими параметрами, которые описывают систолическую функцию, в то время как параметры  $dp/dt$  min и ДДЛЖ связаны с диастолической функцией сердца. Все четыре упомянутых кардиодинамических параметра, а также коронарный кровоток были улучшены в группе крыс, получавших комбинированное лечение (СД+ИНС+ГБО), что согласуется с результатами аналогичных исследований [18, 19].

Исследование таких показателей периферической крови, как  $O_2$ -,  $H_2O_2$ , ИПОЛ и  $NO_2^-$ , отражающих уровень и динамику изменений при развитии окислительного стресса, выявило склонность к их снижению в группах лечения инсулином, ГБО и комбинацией инсулина с ГБО по сравнению с группой с СД [5]. Наиболее существенное снижение показателей биомаркеров окислительного стресса зафиксировано в группах, получавших инсулин и комбинацию инсулина с ГБО. Было обнаружено, что у крыс с СД 1 типа изолированное применение ГБО приводит к снижению показателей крови, отражающих уровень окислительного стресса, из чего можно заключить, что этот метод лечения имеет антиоксидантное воздействие.

При исследовании динамики показателей ферментов крови, участвующих в осуществлении антиоксидантной защиты: СОД, САТ и GSH – наоборот, была обнаружена склонность к их увеличению в группах лечения инсулином, ГБО и комбинацией инсулина с ГБО по сравнению с группой с СД. Полученные данные совпадают с результатами научных исследований других авторов [4, 19, 119], в которых было продемонстрировано как ГБО усиливает экспрессию генов антиоксидантов в эндотелиальных клетках человека, оберегая ткань, находящуюся в гипоксическом состоянии, от вредоносного воздействия окислительного стресса. В данной исследовательской работе статистически достоверное, значимое увеличение рассматриваемых показателей антиоксидантной системы было зарегистрировано в группах СД+ИНС+ГБО и СД+ГБО, соответственно. Также было обнаружено, что как изолированное, так и комбинированное с инсулином воздействие ГБО вызывает усиление активности

антиоксидантных ферментов крови у крыс с СД, что отражает ее антиоксидантное действие [5].

Таким образом, проведенные исследования демонстрируют положительное влияние гипербарической оксигенации в качестве дополнительного компонента к инсулинотерапии при наличии СД 1 типа на изменение показателей, отражающих уровень течения реакций, являющихся маркерами окислительного стресса, и реализацию антиоксидантного действия у экспериментальных животных.

## ГЛАВА 5. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Рост численности населения и научно-технический прогресс, способствующий модификации способов диагностики, приводят к увеличению показателей заболеваемости и распространенности СД, которые находятся на грани эпидемических порогов. Поэтому СД сохраняет главенство среди первоочередных проблем системы общественного здравоохранения [7, 120]. Возраст больных с СД от 18 лет и старше в общей численности населения на 2014 г. составлял 8,5%. В 2019 г. 1,5 млн смертей были непосредственно связаны с диабетом. СД также стал причиной 460 000 смертей от болезней почек. Повышенный уровень глюкозы в крови является ведущей причиной 20% смертности от ССЗ на 2019 г. [120]. Нет никаких сомнений в том, что адекватное лечение инсулином абсолютно необходимо для контроля гликемии. Гликемический контроль, безусловно, важен при таком состоянии, как СД, но также важно помнить, что инсулин де-факто также способствует окислительному стрессу [119].

Лечение гипербарическим кислородом включает воздействие на пациента барометрического давления выше нормального (1 АТМ) при дыхании 100% O<sub>2</sub>. ГБО увеличивает количество растворенного кислорода в крови, что приводит к облегчению и устранению клинической симптоматики таких состояний, как гипоксия, острое отравление угарным газом, воздушная эмболия и диабетические поражения нижних конечностей [64]. Несмотря на то, что ГБО терапия проводится при лечении многих нозологий, нельзя забывать о ее потенциально неблагоприятном действии. Ученые уже достаточно давно дискутируют о влиянии побочных эффектов ГБО, реализующихся в виде усиления течения реакций, обусловленных окислительным стрессом, и проявлений кислородной токсичности [11, 176]. С одной стороны, усиление продукции АФК обладает положительными эффектами: происходит увеличение синтеза факторов роста (фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), плацентарного фактора роста (PGF) и ангиопоэтинов 1 и 2) и привлечение стволовых клеток из костного мозга, ответственных за неоваскуляризацию [11, 78]. С другой стороны, интенсификация

реакций, наблюдаемых при окислительном стрессе, повышает уровень гликемии, что способствует развитию и прогрессированию осложнений СД. А активация перекисного окисления липидов в мембранах мышечных клеток вызывает формирование резистентности к инсулину. Известно, что СД провоцирует активацию процессов, характеризующих окислительный стресс [11, 41], поэтому длительное воздействие ГБО потенциально может усилить возникновение и развитие неблагоприятных изменений в органах и тканях, что приводит к прогрессированию и стремительному течению болезни и появлению ее ранних и поздних осложнений [11]. Несмотря на это, на сегодняшний день отсутствуют комплексные исследования, которые могли бы оценить позитивные и токсические эффекты ГБО.

Термин «ишемическая реперфузионная травма» относится к ухудшению клеточного повреждения и дисфункции после восстановления кровообращения в ранее ишемизированных тканях. АФК были идентифицированы как первичные медиаторы этого явления. Во время ишемической реперфузионной травмы между кровью и эндотелиальными клетками наблюдается повышенная миграция микроциркуляторных нейтрофилов, что вызывает некроз тканей и инициирует петлю обратной связи, достигая кульминации в большей продукции АФК и повреждении [79]. Однако сохранение ишемизированных тканей требует скорейшего восстановления кровотока. Одновременная ишемия и реперфузия в тканях представляют собой парадоксальный процесс, при котором реперфузия вызывает большие повреждения тканей, что зависит от АФК. Было высказано мнение, что ткани в гипероксической среде, обеспеченной ГБО после ишемически-реперфузионного повреждения, будут усиливаться продукция АФК и усугубляться степень некроза тканей. Неожиданно было показано, как ГБО приводит к повышению экспрессии генов антиоксидантов в эндотелиальных клетках человека, что способствует активации защитных механизмов от окислительного повреждения ишемизированных тканей за счет снижения выработки АФК, наблюдаемого при ишемическо-реперфузионном процессе [5, 170, 171, 174]. В результате ГБО, по-видимому, приносит пользу

ишемизированной ткани, уменьшая образование АФК и одновременно увеличивая их деградацию.

Таким образом, целью данного исследования было определить влияние ГБО на гомеостаз глюкозы, параметры окислительного стресса и сердечную функцию у экспериментально индуцированных СД1 типа и крыс, получавших и не получавших терапию НПХ инсулином.

СД характеризуется развитием определенных микрососудистых проблем [35]. Несмотря на то, что многочисленные исследования изучали и сравнивали роли различных компонентов, способствующих диабетическим сосудистым проблемам, точная оценка и их вклад остается не до конца изученными [132]. Однако, несколько исследований показали, как микрососудистые последствия в значительной степени или частично зависят от гипергликемии [125]. Индуцированное гипергликемией повреждение сосудов включает, по крайней мере, четыре основных пути: повышение активности полиолов (сорбитол), вызывающее накопление сорбитола и фруктозы; повышенное образование конечных продуктов гликирования; активация протеинкиназы С и ядерного фактора  $\kappa\text{B}$ ; и увеличение потока гексозаминового пути. Есть много причин полагать, что гипергликемия вызывает все эти вредные метаболические процессы по одному пути: митохондриальная цепь переноса электронов вырабатывает слишком много супероксида. Эта теория, предложенная Brownlee [41], по-видимому, указывает на то, что окислительный стресс, вызванный гипергликемией, играет важную роль в этиологии диабетических проблем. С одной стороны, гипергликемия вызывает окислительный стресс, а с другой стороны, введение инсулина также вызывает окислительный стресс.

В клинической практике было замечено, что ГБО может ускорить заживление ран. Поскольку раны нуждаются в кислороде для правильной регенерации тканей, воздействие 100% кислорода ускоряет этот процесс. Применения в этой области довольно обширны и включают инфицированные микроорганизмами раны (например, клостридиальный мионекроз и гангрена Фурнье), травматические

раны, термические ожоги, кожные трансплантаты, радиационные раны, диабетические язвы и язвы сосудистой недостаточности [119, 141].

В области диабета существует критическое осложнение, называемое «диабетическая язва стопы», открытая язва на подошве стопы, поражающая 15% пациентов. ГБО особенно важна при этой травме, так как она участвует во многих параметрах воспаления и восстановления тканей. Например, есть некоторые доказательства того, что ГБО может улучшить скорость заживления ран за счет повышения уровня NO и количества эндотелиальных клеток-предшественников при незаживающем васкулите, кальцифицирующей уремической артериолопатии, ливедоидной васкулопатии, язвах при гангренозной пиодермии [32, 40, 58, 78, 102, 153]. Некоторые исследования показывают заметный ангиогенез при уменьшении воспаления: ангиогенные маркеры, такие как эпителиальный фактор роста (EGF) и VEGF, становятся активными и положительно связаны с увеличением фактора транскрипции Nrf2 [78, 88, 102, 148, 176]. Кроме того, анаэробные инфекции имеют более низкую заболеваемость и частоту ампутаций [153]. Различные литературные данные поддерживают дополнительное использование системной, но не местной ГБО для заживления ран при диабетических язвах стопы [44, 142, 171]. Несмотря на это результаты многих исследований не могут быть интерпретированы однозначно, из-за чего важно заранее спрогнозировать в какой группе больных при применении ГБО будет получена максимальная польза от ее проведения [142]. Например, у пациентов с диабетическими язвами стопы и окклюзионным заболеванием периферических артерий заживление ран может не улучшаться [142]. Другое недавнее исследование показало, что использование ГБО может быть связано с улучшением 6-летней выживаемости у пациентов с диабетической стопой [142]. Необходимы дальнейшие исследования и более крупные выборки, чтобы определить наиболее подходящих кандидатов для ГБО.

Кроме того, ГБО может быть отличным вспомогательным средством при лечении хирургических травм и имеет решающее значение, поскольку может обеспечить лучшие результаты при более раннем назначении. Когда раны не

заживают при обычном лечении, дополнительную помощь можно найти в ГБО. Модели на животных показали важность этой процедуры в заживлении ран за счет ускорения эпителизации и неоваскуляризации [170, 171, 174, 176, 181]. Сообщаемые эффекты в отношении этих событий обнаруживаются в усилении регуляции факторов хозяина, таких как фактор некроза опухоли- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), матриксная металлопептидаза 9 (ММР-9) и тканевой ингибитор металлопротеиназы-1 (TIMP-1) [176, 181]. В кроличьей модели облученной ткани NBOT O<sub>2</sub> сравнивали с гипербарической, что еще раз продемонстрировало, что O<sub>2</sub> требуется при более высоких давлениях, чтобы вызвать ангиогенный эффект [100]. Многочисленные исследования *in vivo* показали, что напряжение, вызванное гипербарическим кислородом, модулирует скорость пролиферации стволовых клеток в криптах тонкой кишки и усиливает ангиогенез в хорио-аллантоновой мембране [153]. В клиническом исследовании пациентов с хроническими незаживающими ранами (более 20 месяцев без заживления) ГБО была стандартизирована на 20 сеансов (5 сеансов в неделю). В результате были повышены уровни сосудистого эндотелиального фактора роста и интерлейкина-6 и снижены уровни эндотелина-1. Эти факты включают активацию факторов заживления ран хозяина, ангиогенез и улучшение тонуса сосудов [153]. Ангиогенез усиливается за счет повышения уровня NO при ГБО и связан с уменьшением площади поражения [40, 176].

В настоящее время проводится несколько исследований по оценке улучшения ангиогенеза и заживления тканей после ГБО. Однако исследований в этой области еще немного, и вскоре будут опубликованы обновленный метаанализ и систематический обзор имеющихся данных [162, 177]. Аналогичные выводы можно экстраполировать на радиационно-индуцированное поражение. Так, остеорадионекроз является распространенным и тревожным состоянием у онкологических больных после лучевой терапии. Часто это состояние приводит к поражению челюстей и заключается в развитии асептического аваскулярного некроза, который может привести к инфицированию, потере зубов и даже патологическому перелому челюсти. Кроме того, это также нередко приводит к

изъязвлению и некрозу слизистой оболочки. ГБО играет ключевую роль в лечении этого состояния, улучшая реакцию тканей на хирургическое ранение и даже в качестве профилактического подхода у пациентов с предшествующим облучением головы и шеи, подвергающихся удалению зубов или полному удалению зубов [103].

В текущем исследовании мы показываем, что 2-недельное лечение инсулином НПХ отдельно или в комбинации (что даже более выражено) вызывает повышенную продукцию прооксидантных маркеров в коронарных венозных выделениях крыс, которые были собраны после 20 минут глобальной ишемии, при которой кровоток прерывается с последующей 30-минутной реперфузией. Исходя из вышеизложенного, данные исследования Monnier et al. (2011) не дают конкретного объяснения того, можно ли считать высокие дозы инсулина фактором или отражением окислительного стресса, но кажется более вероятным, что степень гиперинсулинизации (высокие дозы инсулина) отвечает за прооксидантный эффект. Эта точка зрения основана на том факте, что существует корреляция между дозой инсулина и скоростью экскреции изопростана с мочой [119], который является стабильным биомаркером оксидативного стресса [66].

Хотя некоторые исследователи [170, 171, 174] показали, как в эндотелиальных клетках человека ГБО приводит к повышению экспрессии генов антиоксидантов, способствуя активации защитных механизмов от окислительного повреждения ишемизированных тканей за счет снижения выработки АФК при одновременном увеличении повреждения от их деградации, ГБО также увеличивает продукцию АФК в начале терапии.

Таким образом, полученные нами результаты согласуются с вышеуказанными выводами, учитывая, что у крыс, находившихся на терапии инсулином НПХ и перенесших ГБО, были достоверно более высокие значения всех определяемых прооксидантов по сравнению со всеми другими группами. В отношении компенсации при СД наблюдается снижение потребления инсулина, восстановление остаточной секреции инсулина и подавление секреции противоинсулярных гормонов, таких как глюкагон, соматотропный гормон и

гидрокортизон, которые достигаются повторными ГБО в течение года. Больным с инсулинзависимым СД эффективнее проводить 3 курса ГБО с интервалом в 4 месяца, чем 2 курса с интервалом в 6 месяцев. Однако при трех-курсовой модальности максимальное благотворное влияние ГБО на гормонально-метаболический статус достигается только при втором курсе, а третий курс лишь усиливает уже достигнутый эффект [18, 19].

Комбинированное лечение ГБО и инсулином НПХ плохо влияет на статус коронарного окисления, но положительно на кардиодинамику изолированного сердца крысы. SLVP и  $dp/dt$  max являются двумя кардиодинамическими параметрами, которые описывают систолическую функцию, в то время как параметры  $dp/dt$  min и DLVP относятся к диастолической функции сердца. Все четыре упомянутых кардиодинамических параметра, а также CF были повышены в группе крыс с комбинированным лечением (СД+ИНС+ГБО), что согласуется с результатами исследований [115, 168]. Некоторыми авторами было показано, что ГБО вызывает медленное снижение ЧСС [115], но в нашем исследовании этого не наблюдалось.

## ВЫВОДЫ

1. Курс инсулинотерапии длительностью 2 недели существенно снижает уровень гипергликемии у крыс с диабетом 1-го типа. Сочетание инсулинотерапии с сеансами гипербарической оксигенации (ГБО) вызывает аналогичный, но менее выраженный эффект. Наименьшее снижение уровня глюкозы наблюдается при «изолированном» терапевтическом применении ГБО.

2. После 2-недельных сеансов ГБО, инсулинотерапии, а также их сочетанного применения ослабляется оксидативный стресс, характерный для диабета 1-го типа. В основе молекулярных механизмов этого эффекта лежит снижение активности прооксидантов с одновременной активацией компонентов антиоксидантной системы.

3. Двухнедельный лечебный курс ГБО снижает активность прооксидантов, измеренных в коронарном венозном оттоке изолированного сердца крыс в условиях его постишемической реперфузии. Аналогичное по выраженности снижение маркеров оксидативного стресса наблюдается после курса инсулинотерапии.

4. Сочетание сеансов ГБО с инсулинотерапией вызывает наибольшее снижение показателей оксидативного стресса (регистрируемых на препарате изолированного сердца) по сравнению с каждым из них в отдельности.

5. Наилучшие показатели насосной функции сердца крыс в условиях его постишемической реперфузии наблюдались после сочетания курсов инсулинотерапии и ГБО. Наихудшие показатели оказались у животных, не получавших лечения. Отдельное применение как ГБО, так и инсулинотерапии вызывало промежуточные эффекты.

6. В основе молекулярных механизмов улучшения насосной функции сердца после сеансов ГБО, инсулинотерапии, а также их сочетанного воздействия лежит ослабление оксидативного стресса, характерного для СД 1-го типа.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АПФ – ангиотензинпревращающий фермент

АТМ – абсолютная атмосфера

АТФ- аденозинтрифосфата

АФК – активные формы кислорода

ГБО – гипербарическая оксигенация

ГПП-1 – глюкагоноподобный пептид-1 (GLP-1, Glucagon-like peptide-1)

ДДЛЖ – диастолическое давление в левом желудочке

ИНС – инсулинотерапия

ИПОЛ – индекс перекисного окисления липидов

МДА – малоновый диальдегид

НПХ - нейтральный протамин Хагедорна или изофановый инсулин

СД – сахарный диабет

СД1 - сахарный диабета 1-го типа

СД2 - сахарный диабет 2-го типа

СДЛЖ – систолическое давление в левом желудочке

СОД – супероксиддисмутаза

ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания

СТЗ – стрептозотоцин

СУИ QT – синдрома удлиненного интервала QT

РААС – ренин–ангиотензин-альдостероновая система

ЧСС – частота сердечных сокращений

ХСН – хроническая сердечная недостаточность

САТ – каталаза

$dp/dt \max$  – величина максимальной скорости нарастания давления в левом желудочке

$dp/dt \min$  – величина минимальной скорости нарастания давления в левом желудочке

GSH – восстановленный глутатион

HbA1c – гликированный гемоглобин или гликогемоглобин (A1c)

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> – пероксид водорода

HRPO – Horser Radish PerOxidase

NO – монооксид азота

NO<sub>2</sub>- – нитрит

Nrf-2 - редокс-чувствительный фактор транскрипции

O<sub>2</sub><sup>-</sup> – супероксидный анион-радикал

TBARS – Thiobarbituric Acid Reactive Substances – реактивные соединения тиобарбитуровой кислоты

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Булгакова, Я. В. Перекисное окисление липидов и антиоксидантная система головного мозга крыс при адаптации к гипероксической нагрузке / Я.В. Булгакова, П.Н. Савилов // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2022. – Т. 66. – № 3. – С. 80–90.
2. Болевич, С.С. Обоснование патогенетической терапии ингибиторами дипептидилпептидазы-4 повреждения сердца у крыс с индуцированным сахарным диабетом 2-го типа в условиях гипоперфузии и последующей реперфузии миокарда/С.С. Болевич// Автореферат на соискание ученой степени к.м.н. по специальности 14.03.03 - Патологическая физиология. - Москва. - 2020. – 24 С
3. Болевич, С.С. Обоснование патогенетической терапии ингибиторами дипептидилпептидазы-4 повреждения сердца у крыс с индуцированным сахарным диабетом 2-го типа в условиях гипоперфузии и последующей реперфузии миокарда/С.С. Болевич// Диссертация на соискание ученой степени к.м.н. по специальности 14.03.03 - Патологическая физиология. - Москва. - 2020. –144 С.
4. Влияние биосинтетического инсулина на перекисное окисление липидов мембран эритроцитов у больных сахарным диабетом I типа / Т.С. Балашова, Е.Н. Голега, И.А. Рудько [и др.] // Проблемы Эндокринологии. – 1994. – Т. 40. – №3. – С. 12–15.
5. Влияние гипербарической оксигенации при лечении инсулинозависимого сахарного диабета на параметры окислительного стресса / А.Ю. Михалева, С.Б. Болевич, С.И. Воробьев [и др.] // Современные проблемы науки и образования: электрон. науч.-практ. журн. 2024. № 3. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=33520>. Дата публикации: 03.07.2024. Режим доступа: открытый.
6. Влияние инсулина на уровень перекисного окисления липидов и содержание глутатиона при двухсосудистой ишемии переднего мозга крыс и

реперфузии / И.И. Зорина, О.В. Галкина, Л.В. Баюнова, И.О. Захарова // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. – 2019. – Т. 55. – № 4. – С. 299–301.

7. Всемирная организация здравоохранения: сайт : некоммерч. интернет-версия. – URL: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/diabetes> (дата обращения: 15.05.2024).

8. Гайтон, А.К. Медицинская физиология/А.К. Гайтон, Дж.Э. Холл//Пер. с англ.; Под ред. В.И. Кобрина. – М.: Логосфера, 2008. – 1296 с.: ил.:21,1 см. – ISBN 978-5-98657-013-6.

9. Гипербарическая оксигенация в комплексной терапии хронической ишемической болезни сердца / А.С. Сметнев, С.Н. Ефуни, В. В. Родионов, Л.Д. Ашурова, И.С. Аслибекян. // Кардиология. – 1979. – Т. - 19. – №11. – С. 41–46.

10. Гипербарическая оксигенация в комплексном лечении пароксизмальных тахикардий при ишемической болезни сердца / Ю.В. Исаков, А.П. Голиков, У.З. Устинова, Н.Г. Третьякова // Кардиология. – 1981. – Т. 21. – №4. – С. 42–45.

11. Гипербарическая оксигенация как один из методов лечения сахарного диабета и его осложнений / А.Ю. Михалева, С.Б. Болевич, Э.В. Величко [и др.] // Современные проблемы науки и образования: электрон. науч.-практ. журн. 2024. № 4. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=33627>. Дата публикации: 09.09.2024. Режим доступа: открытый.

12. Говорушкина, Н.С. Эффекты модуляции рецепторов N-метил-D-аспартата в изолированном сердце крысы во время ишемии и реперфузии/Н.С. Говорушкина// Диссертация на соискание ученой степени кнм по специальности 14.03.03 - Патологическая физиология. - Москва. - 2023. – 169 С.

13. Жданов, Г.Г. Гипербарическая оксигенация, антигипоксанта и антиоксидантная терапия при остром инфаркте миокарда / Г.Г. Жданов, И.М. Соколов // Общая реаниматология. – 2005. – №6. – С. 55–64.

14. Жданов, Г.Г. Тканевая гипоксия при остром инфаркте миокарда и возможные пути ее коррекции / Г.Г. Жданов, И.М. Соколов // Анестезиология и реаниматология. – 2001. – №3. – С. 51–53.

15. Изучение влияния гипербарической оксигенации на сердечно-сосудистую систему и оксидативный стресс у крыс с сахарным диабетом, получавших и не получавших инсулин/ А.Ю. Михалева, Т. Николич-Турнич, М. Савич [и др.]//Клиническая патофизиология. Материалы Первого Евразийского конгресса по патофизиологии. - 2024. - Том 30. - № 2(прил.) - С. 79.
16. Козка, А.А. Антиоксиданты и гипербарическая оксигенация в комплексном лечении больных с глубокими ожогами / А.А. Козка, О.С. Олифирова // Практическая медицина. – 2015. – №6 (91). – С. 112–114.
17. Крылов, В.В. Возможности применения гипербарической оксигенации на различных этапах кардиохирургической помощи / В.В. Крылов, Е.Я. Колчина // Клиническая практика. – 2022. – №2. – С. 88–97.
18. Оптимальная частота использования гипербарической оксигенации при инсулиннезависимом сахарном диабете/ И.И. Дедов, С.А. Абусуев, З.З. Муслимова, А.В. Древаль // Проблемы Эндокринологии. – 1994. – Т. 40. – №2. – С. 28–31.
19. Эффективность повторных курсов гипербарической оксигенации в лечении инсулинзависимого сахарного диабета / И.И. Дедов, С.А. Абусуев, З.З. Муслимова, А.В. Древаль // Проблемы Эндокринологии. – 1994. – Т. 40. – №2. – С. 25–28.
20. Эффективность санаторной реабилитации больных ишемической болезнью сердца после реваскуляризации миокарда на фоне постковидного синдрома / В.А. Косов, Н.П. Требина, Л.М. Друбачевская [и др.] // Физическая и реабилитационная медицина, медицинская реабилитация. – 2022. – №2. – С. 111–121.
21. A general overview on the hyperbaric oxygen therapy: applications, mechanisms and translational opportunities/ M.A. Ortega, O. Fraile-Martinez, C. García-Montero, [et al.]//Medicina (Kaunas). - 2021. - Vol. 57. - P. 864.
22. A systematic review to assess the impact of hyperbaric oxygen therapy on glycaemia in people with diabetes mellitus / S. Baitule, A.H. Patel, N. Murthy, [et al.] // Medicina (Kaunas). – 2021. – Vol. 57. – №10. – P. 1134.

23. Acceleration of age-induced proteolysis in the guinea pig lens nucleus by in vivo exposure to hyperbaric oxygen: A mass spectrometry analysis/ F.J. Giblin, D.M.G. Anderson, J. Han, [et al.]// *Experimental Eye Research*. - 2021. - Vol. 210. - P. 108697.
24. ACT NOW Study. Prevention of diabetes with pioglitazone in ACT NOW: physiologic correlates / R.A. Defronzo, D. Tripathy, D.C. Schwenke, [et al.] // *Diabetes*. – 2013. – Vol. 62. – №11. – P. 3920–3926.
25. Acute hyperbaric oxygenation, contrary to intermittent hyperbaric oxygenation, adversely affects vasorelaxation in healthy sprague-dawley rats due to increased oxidative stress/ Z. Mihaljević, A. Matic, A. Stupin, [et al.]// *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. - 2018. - Vol. 2018. – P.7406027.
26. Acute pulmonary edema secondary to hyperbaric oxygen therapy/ C. Obiagwu, V. Paul, S. Chadha, [et al.]//*Oxford Medical Case Reports*. - 2015. - 2015. - Vol. 2. - P. 183-184.
27. Adjunctive effect of hyperbaric oxygen treatment after thrombolysis on left ventricular function in patients with acute myocardial infarction / M. Dekleva, A. Neskovic, A. Vlahovic, [et al.] // *American heart journal*. – 2004. – Vol. 148. – №4. – P. E14.
28. Ahmed, A. Higher New York Heart Association classes and increased mortality and hospitalization in patients with heart failure and preserved left ventricular function / A. Ahmed, W.S. Aronow, J.L. Fleg // *American heart journal*. – 2006. – Vol. 151. – №2. – P. 444-450.
29. Allen, B.W. Hemoglobin, nitric oxide and molecular mechanisms of hypoxic vasodilation / B.W. Allen, J.S. Stamler, C.A. Piantadosi // *Trends in molecular medicine*. – 2009. – Vol. 15. – P. 452–460.
30. American Diabetes Association. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2018 // *Diabetes Care*. 2018. - Vol. 41. Suppl 1. P. S13-S27. DOI: 10.2337/dc18-S002. URL: [https://diabetesjournals.org/care/article/41/Supplement\\_1/S13/30088/2-Classification-and-Diagnosis-of-Diabetes](https://diabetesjournals.org/care/article/41/Supplement_1/S13/30088/2-Classification-and-Diagnosis-of-Diabetes) (дата обращения: 15.05.2024). Режим доступа: открытый.

31. American Diabetes Association: Standards of Medical Care in diabetes – 2017 // *Diabetes Care*. - 2017. - Vol. 40. - Is. 1. - P. 1–158. URL: <https://diabetesjournals.org/care/issue/40/1> (дата обращения: 15.05.2024). Режим доступа: открытый.
32. An overview of protective strategies against ischemia/reperfusion injury: The role of hyperbaric oxygen preconditioning/ C. Hentia, A. Rizzato, E. Camporesi, [et al.]// *Brain and Behavior*. - 2018. - Vol. 8(5). – P.959.
33. Analysis of nitrate, nitrite, and [15N] nitrate in biological fluids/ L.C. Green, D.A. Wagner, J. Glogowski, [et al.]// *Analytical biochemistry*. - 1982. - Vol. 126(1). – P.131-138.
34. Analysis of the cardiovascular effects of hyperbaric oxygen therapy in diabetic patients / K. Canarlan-Demir, K. Ozgok-Kangal, A. Saatci-Yasar, [et al.] // *Undersea and Hyperbaric Medicine*. – 2023. – Vol. 50. – Is. 4. – P. 425–431.
35. Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study/ I.M. Stratton, A.I. Adler, H.A. Neil, [et al.]// *BMJ*. - 2000. - Vol.321(7258). – P.405-412.
36. Attenuation of apoptosis and enhancement of proteoglycan synthesis in rabbit cartilage defects by hyperbaric oxygen treatment are related to the suppression of nitric oxide production/ L.J. Yuan, S.W. Ueng, S.S. Lin, [et al.]// *Journal of Orthoptera Research*. - 2004. - Vol.22(5). – P.1126–1134.
37. Bahtiyar, G. Heart Failure: A major cardiovascular complication of diabetes mellitus / G. Bahtiyar, D. Gutterman, H. Lebovitz // *Current Diabetes Reports*. – 2016. – Vol. 16. – Is. 11. – P. 116.
38. Bennett, M.H. Emerging indications for hyperbaric oxygen / M.H. Bennett, S.J. Mitchell // *Current Opinion in Anesthesiology*. – 2019. – Vol. 32. – Is. 6. – P. 792–798.
39. Biomarkers of oxidative damage in human disease / I. Dalle-Donne, R. Rossi, R. Colombo, [et al.] // *Clinical chemistry*. – 2006. – Vol. 52. – №4. – P. 601–623.
40. Boykin, J.V.Jr. Hyperbaric oxygen therapy mediates increased nitric oxide production associated with wound healing: a preliminary study / J.V. Jr. Boykin, C. Baylis // *Advances in skin and wound care*. – 2007. – Vol. 20. – №7. – P. 382–388.

41. Brownlee, M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications // Nature. – 2001. – Vol. 414. – №6865. – P. 813–820.
42. Camporesi, E.M. Mechanisms of action of hyperbaric oxygen therapy / E.M. Camporesi, G. Bosco // Undersea and Hyperbaric Medicine. – 2014. – Vol. 41. – Is. 3. – P. 247–252.
43. Cardiovascular risk in diabetes mellitus: complication of the disease or of antihyperglycemic medications / C.A. Alvarez, I. Lingvay, V. Vuylsteke, [et al.] // Clinical Pharmacology and Therapeutics. – 2015. – Vol. 98. – Is. 2. – P. 145-161.
44. Collagen synthesis, nitric oxide and asymmetric dimethylarginine in diabetic subjects undergoing hyperbaric oxygen therapy/ F. Gurdol, M. Cimsit, Y. Oner-Iyidogan, [et al.]// Physiological Research. - 2010. - Vol. 59(3) . – P.423-429.
45. Consensus statement by the American association of clinical endocrinologists and american college of endocrinology on the comprehensive type 2 diabetes management algorithm - 2018 executive summary/ A.J. Garber, M.J. Abrahamson, J.I. Barzilay, [et al.]// Endocrine Practice. - 2018. - Vol. 24(1). - P.91-120.
46. Correlation between hyperbaric oxygen exposure pressures and oxidative parameters in rat lung, brain, and erythrocytes/ S. Oter, A. Korkmaz, T. Topal, [et al.]// Clinical Biochemistry. - 2005. - Vol. 38(8). – P.706-11.
47. Diabetic microvascular complications associated with myocardial repolarization heterogeneity evaluated by Tp-e interval and Tp-e/QTc ratio / H. Erken Pamukcu, S. Hepşen, H.F. Şahan, [et al.] // Journal of diabetes complications. –2020. – Vol. 34. – №12. – P. 107726.
48. Dietary habits and biochemical parameters evolution in type 1 diabetic patients after health care orientations / F.Z. Bouazza, H. Merzouk, F.Z. Chiali, [et al.] // World Journal of Nutrition and Health. – 2017. – Vol. 5. – №1. P. 6–13. 3a Auclair
49. Differentiation of diabetes by pathophysiology, natural history, and prognosis/ J.S. Skyler, G.L. Bakris, E. Bonifacio, [et al.]// Diabetes. - 2017. - Vol. 66. - P. 241-255.
50. Dose-dependent effects of perfluorocarbon-based blood substitute on cardiac function in myocardial ischemia-reperfusion injury/ V. Jakovljevic, S. Vorobyev, A.

Mikhaleva, [et al.]// *Molecular and Cellular Biochemistry*. - 2022. - Vol. 477(12). – P.2773–2786.

51. Early effects of hyperbaric oxygen on inducible nitric oxide synthase activity/expression in lymphocytes of type 1 diabetes patients: A prospective pilot study/ I. Resanovic, Z. Gluovic, B. Zanic, [et al.]// *International Journal of Endocrinology*. - 2019. - Vol.2019. – P.2328505.

52. Edwards, M.L. Hyperbaric oxygen therapy. Part 1: history and principles // *Journal of veterinary emergency and critical care (San Antonio)*. – 2010. – Vol. 20. – №3. – P. 284–288.

53. Effect of hyperbaric oxygenation in total antioxidant system, nitric oxide and 3 nitrotyrosine levels in a rat model of acute myocardial infarct in the absence of reperfusion/ N.B.M. Guadalupe, M.D.C. Castillo-Hernandez, A. Kormanovski, [et al.]// *International Journal of Pharmacology*. - 2015. - Vol. 11. – P.834–839.

54. Effect of metformin monotherapy on serum lipid profile in statin-naïve individuals with newly diagnosed type 2 diabetes mellitus: a cohort study/ S.H. Lin, P.C. Cheng, S.T. Tu, [et al.]// *PeerJ*. - 2018. - Vol. 6. – P.4578.

55. Effects of exenatide on measures of  $\beta$ -cell function after 3 years in metformin-treated patients with type 2 diabetes / M.C. Bunck, A. Cornér, B. Eliasson, [et al.] // *Diabetes Care*. – 2011. – Vol. 34. – №9. – P. 2041–2047.

56. Effects of exposure to hyperbaric oxygen on oxidative stress in rats with type II collagen-induced arthritis/ F. Nagatomo, N. Gu, H. Fujino, [et al.]// *Clinical and Experimental Medicine*. - 2010. - Vol. 10. - P. 7–13.

57. Effects of hyperbaric exposure with high oxygen concentration on glucose and insulin levels and skeletal muscle-fiber properties in diabetic rats/ K. Yasuda, T. Adachi, N. Gu, [et al.]// *Muscle Nerve*. - 2007. - Vol.35(3). – P.337-43.

58. Effects of hyperbaric oxygen on nitric oxide generation in humans/ J. Uusijärvi, K. Eriksson, A.C. Larsson, [et al.]// *Nitric Oxide*. - 2015. - Vol. 44. – P.88-97.

59. Effects of hyperbaric oxygen therapy on inflammation, oxidative/antioxidant balance, and muscle damage after acute exercise in normobaric, normoxic and hypobaric, hypoxic environments: A pilot study/ J. Woo, J.H. Min, Y.H. Lee, H.T.

- Roh// International Journal of Environmental Research and Public Health. - 2020. - Vol. 17. -P. 7377.
60. Effects of hyperbaric oxygenation on vascular reactivity to angiotensin II and angiotensin-(1-7) in rats/ A. Kibel, A. Cavka, A. Cosic [et al.]// Undersea and Hyperbaric Medicine. - 2012. - Vol.39(6). – P.1053–1066.
61. Efficacy and safety of hyperbaric oxygen therapy in acute ischaemic stroke: a systematic review and meta-analysis/ X. Li, L. Lu, Y. Min, [et al.]// BMC Neurology. - 2024. - Vol. 24. - P. 55.
62. Ekanayake, L. Effects of hyperbaric oxygen treatment on blood sugar levels and insulin levels in diabetics / L. Ekanayake, D.J. Doolette // South Pacific Underwater Medicine Society Journal. – 2001. – Vol. 31. – P. 16–20.
63. Eldor, R. In vivo actions of peroxisome proliferator-activated receptors: glycemic control, insulin sensitivity, and insulin secretion / R. Eldor, R.A. DeFronzo, M. Abdul-Ghani // Diabetes Care. – 2013. – Vol. 36. – Suppl 2. – P. 162-174.
64. Enhancement of glucose toxicity by hyperbaric oxygen exposure in diabetic rats/ T. Matsunami, Y. Sato, T. Morishima, [et al.]// Tohoku journal of experimental medicine. - 2008. - Vol.216(2). – P.127-32.
65. Epidemiology of heart failure/ A. Groenewegen, F.H. Rutten, A. Mosterd, A.W. Hoes//European Journal of Heart Failure. - 2020. - Vol. 22. - P. - 1342-1356.
66. Esmaie, E.M. Antidiabetic and antioxidant effects of tannic acid and melatonin on streptozotocin induced diabetes in rats / E.M. Esmaie, A.M. Abo-Youssef, M.A. Tohamy // Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences. – 2019. – Vol. 32. – №4. – P. 1453–1459.
67. Essentials of hyperbaric oxygen therapy: 2019 Review/ J.P. Kirby, J. Snyder, D.J.E. Schuerer, [et al.]// Missouri Medicine. - 2019. - Vol. 116. - P. 176-179.
68. European cardiovascular disease statistics 2017/ E. Wilkins, L. Wilson, K. Wickramasinghe, [et al.]// European Heart Network: Brussels, Belgium, 2017. <http://www.ehnheart.org/images/CVD-statistics-report-August-2017.pdf>. (дата обращения: 15.05.2024). Режим доступа: открытый.

69. Evaluating oxidative stress in human cardiovascular disease: methodological aspects and considerations/ R. Lee, M. Margaritis, K.M. Channon, C. Antoniades// *Current Medicinal Chemistry*. - 2012. - Vol. 19(16). – P. 2504-20.
70. Examining the effects of hbot on the cardiovascular system and oxidative stress in insulin-treated and non-treated diabetic rats/ A.Y. Mikhaleva, T. Nikolic Turnic, M. Savic, [et al.]// 9TH International congress of pathophysiology 5th congress of physiological sciences of Serbia with international participation. – 2023 - P. 149.
71. Examining the effects of hyperbaric oxygen therapy on the cardiovascular system and oxidative stress in insulin-treated and non-treated diabetic rats/ P. Ristic, M. Savic, S. Bolevich, A. Mikhaleva, [et al.]// *Animals*. - 2023. - Vol.13. – P.2847.
72. Exogenous ketone salts inhibit superoxide production in the rat caudal solitary complex during exposure to normobaric and hyperbaric hyperoxia/ C.M. Hinojo, G.E. Ciarlone, D.P. D'Agostino, J.B. Dean// *Journal of Applied Physiology* (1985). - 2021. - Vol. 130. - P. - 1936-1954.
73. Exposure to mild hyperbaric oxygen increases blood flow and resting energy expenditure but not oxidative stress/ A. Ishihara, N. Fumiko, F. Hidemi, K. Hiroyo// *Journal of Scientific Research and Reports*. – 2014. - Vol.3 (14). – P.1886-1896.
74. Fagher, K. Hyperbaric oxygen therapy reduces the risk of QTc interval prolongation in patients with diabetes and hard-to-heal foot ulcers / K. Fagher, P. Katzman, M. Löndahl // *Journal of diabetes complications*. – 2015. – Vol. 29. – №8. – P. 1198–1202.
75. Fagher, K. The impact of metabolic control and QTc prolongation on all-cause mortality in patients with type 2 diabetes and foot ulcers / K. Fagher, M. Löndahl *Diabetologia*. – 2013. – Vol. 56. – №5. – P. 1140–1147.
76. Fife, C.E. An update on the appropriate role for hyperbaric oxygen: indications and evidence/ C.E. Fife, K.A. Eckert, M.J. Carter//*Plastic and Reconstructive Surgery*. – 2016. - Vol. 138. - 3 Suppl. - P. 107-116.
77. Folz, R.J. Extracellular superoxide dismutase in the airways of transgenic mice reduces inflammation and attenuates lung toxicity following hyperoxia/ R.J. Folz, A.M.

- Abushamaa, H.B. Suliman// *Journal of Clinical Investigation*. - 1999. - Vol. 103(7). - P. 1055-66.
78. Fosen, K.M. Hyperbaric oxygen, vasculogenic stem cells, and wound healing/ K.M. Fosen, S.R. Thom// *Antioxidants and Redox Signaling*. - 2014. - Vol. 21(11). - P. 1634-47.
79. Francis, A. Ischaemia-reperfusion injury and hyperbaric oxygen pathways: a review of cellular mechanisms/ A. Francis, R. Baynosa// *Diving and Hyperbaric Medicine Journal*. - 2017. - Vol. 47(2). - P. 110-117.
80. Gawdi, R. Hyperbaric contraindications/ R. Gawdi, J.S. Cooper // In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. -2024. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557661/> (дата обращения: 15.05.2024).
81. Gesell, L.B. De novo cataract development following a standard course of hyperbaric oxygen therapy/ L.B. Gesell, A. Trott // *Undersea and Hyperbaric Medicine*. - 2007. - Vol. 34(6). - P.389-392.
82. Gill, A.L. Hyperbaric oxygen: its uses, mechanisms of action and outcomes/ A.L. Gill, C.N. Bell// *QJM: An International Journal of Medicine*. - 2004. - Vol. 97(7). – P. 385-95.
83. Global Burden of Disease Collaborative Network. Global Burden of Disease Study 2019. Results. Institute for Health Metrics and Evaluation. - 2020 (<https://vizhub.healthdata.org/gbd-results>) (дата обращения: 15.05.2024). Режим доступа: открытый.
84. Gore, M.O. Drugs for type 2 diabetes mellitus: the imperative for cardiovascular outcome assessment/ M.O. Gore, D.K. McGuire// *Diabetes and Vascular Disease Research*. - 2012. - Vol. 9. - P. 85-88.
85. Griendling, K.K. Oxidative stress and cardiovascular injury: Part I: basic mechanisms and in vivo monitoring of ROS/ K.K. Griendling, G.A. FitzGerald// *Circulation*. - 2003. - Vol. 108(16). – P.1912-1916.

86. Gupta, M. History and development of hyperbaric medicine/ M. Gupta, I. Somasundaram// In: *Hyperbaric Oxygen Therapy: Principles and Applications*. Springer, Singapore. – 2024. – P. 290.
87. Guthrie, R.A. Pathophysiology of diabetes mellitus/ R.A. Guthrie, D.W. Guthrie// *Critical Care Nursing Quarterly*. - 2004. - Vol.27(2). – P.113-125.
88. Harch, P.G. Acute and chronic central nervous system oxidative stress/toxicity during hyperbaric oxygen treatment of subacute and chronic neurological conditions/ P.G. Harch, S. Rhodes // *Frontiers in Neurology*. - 2024. - Vol. 15. – P.1341562.
89. Hasheminasabgorji, E. Dyslipidemia, Diabetes and Atherosclerosis: Role of Inflammation and ROS-Redox-Sensitive Factors/ E. Hasheminasabgorji, J.C. Jha// *Biomedicines*. - 2021. - Vol. 9. - P. 1602.
90. Hausenloy, D.J. Myocardial ischemia-reperfusion injury: a neglected therapeutic target/ D.J. Hausenloy, D.M. Yellon// *The Journal of Clinical Investigation*. - 2013. - Vol. 123. - P. 92-100.
91. Heart rate-corrected QT interval is an independent predictor of all-cause and cardiovascular mortality in individuals with type 2 diabetes: the Diabetes Heart Study / A.J. Cox, A. Azeem, J. Yeboah, [et al.] // *Diabetes Care*. – 2014. – Vol. 37. – №5. – P. 1454–1461.
92. Hotamisligil, G.S. Inflammation and metabolic disorders/ G.S. Hotamisligil// *Nature*. - 2006. - Vol. 444(7121). – P.860-7.
93. Hyperbaric oxygen ameliorates insulin sensitivity by increasing GLUT4 expression in skeletal muscle and stimulating UCP1 in brown adipose tissue in T2DM mice/ Y. Liu, D. Zhang, J. Yuan, [et al.]// *Frontiers in endocrinology (Lausanne)*. - 2020. - Vol. 11. – P.32.
94. Hyperbaric oxygen and thrombolysis in myocardial infarction: the 'HOT MI' randomized multicenter study/ Y. Stavitsky, A.H. Shandling, M.H. Ellestad, [et al.]// *Cardiology*. - 1998. - Vol. 90(2). – P.131-6.
95. Hyperbaric oxygen as a model of lens aging in the bovine lens: The effects on lens biochemistry, physiology and optics/ J.C. Lim, A.C. Grey, E. Vaghefi, [et al.]// *Experimental Eye Research*. - 2021. - Vol. 212. – P.108790.

96. Hyperbaric oxygen induces late neuroplasticity in post stroke patients--randomized, prospective trial / S. Efrati, G. Fishlev, Y. Bechor, [et al.] // PLoS One. – 2013. – Vol. 8. – Is. 1. – P. e53716.
97. Hyperbaric oxygen preconditioning improves myocardial function, reduces length of intensive care stay, and limits complications post coronary artery bypass graft surgery/ J.Z. Yogaratnam, G. Laden, L. Guvendik, [et al.]// Cardiovascular Revascularization Medicine. - 2010. - Vol. 11(1). – P.8-19.
98. Hyperbaric oxygen preconditioning provides preliminary protection against doxorubicin cardiotoxicity/ O. Tezcan, O. Karahan, M. Alan, [et al.]// Acta Cardiologica Sinica. - 2017. - Vol. 33(2). – P.150-155.
99. Hyperbaric oxygen protects against myocardial ischemia-reperfusion injury through inhibiting mitochondria dysfunction and autophagy / W. Chen, L. Lv, Z. Nong, [et al.] // Molecular medicine reports. – 2020. – Vol. 22. – №5. – P. 4254–4264.
100. Hyperbaric oxygen reduces the progression and accelerates the regression of atherosclerosis in rabbits/ B.J. Kudchodkar, J. Wilson, A. Lacko, L. Dory// Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology. - 2000. - Vol. 20(6). – P.1637-1643.
101. Hyperbaric oxygen therapy decreases QT dispersion in diabetic patients/ E. Kardesoglu, M. Aparci, G. Uzun, [et al.]// Tohoku journal of experimental medicine. - 2008. - Vol. 215(1) . – P.113-117.
102. Hyperbaric oxygen therapy for healthy aging: From mechanisms to therapeutics/ Q. Fu, R. Duan, Y. Sun, Q. Li// Redox Biology. - 2022. - Vol. 53. - P. 102352.
103. Hyperbaric oxygen therapy for nonhealing wounds-a long-term retrospective cohort study/ R.C. Lalieu, R.D. Bol Raap, C. Smit, [et al.]// Advances in Skin and Wound Care. - 2023. - Vol. 36(6). – P.304-310.
104. Hyperbaric oxygen therapy improves myocardial diastolic function in diabetic patients / M. Aparci, E. Kardesoglu, S. Suleymanoglu, [et al.] // Tohoku journal of experimental medicine. –2008. –Vol. 214. – №3. –P. 281–289.

105. Hyperbaric oxygen therapy improves neurocognitive functions of post-stroke patients - a retrospective analysis/ A. Hadanny, M. Rittblat, M. Bitterman, [et al.]//Restorative Neurology and Neuroscience. - 2020. - Vol. 38. - P. 93-107.
106. Hyperbaric oxygen therapy in ophthalmology: A narrative review/ Z. Micun, W. Dobrzyńska, M. Sieńkiewicz, [et al.]// Journal of Clinical Medicine. - 2023. - Vol. 13. - P. 29.
107. Hyperbaric oxygen therapy increases free radical levels in the blood of humans/ C.K. Narkowicz, J.H. Vial, P.W. McCartney// Free Radical Research Communications. - 1993. - Vol. 19(2). – P.71-80.
108. Hyperbaric oxygen therapy: side effects defined and quantified/ M. Heyboer 3rd, D. Sharma, W. Santiago, N. McCulloch// Advances in Wound Care (New Rochelle). - 2017. - Vol. 6. - P. 210-224.
109. Hyperbaric oxygenation affects acetylcholine-induced relaxation in female diabetic rats/ D. Manojlovic, A. Stupin, Z. Mihaljevic, [et al.]// Undersea and Hyperbaric Medicine. - 2019. - Vol. 46(5). – P.635-646.
110. Hyperbaric oxygenation and 20-hydroxyeicosatetraenoic acid inhibition reduce stroke volume in female diabetic Sprague-Dawley rats/ M. Mišir, M. Renić, S. Novak, [et al.]// Experimental Physiology. - 2017. - Vol. 102. - P. 1596-1606.
111. Hyperbaric oxygenation applied immediately after coronary occlusion reduces myocardial necrosis and acute mortality in rats / L. dos Santos, A.J. Serra, E.L. Antônio, [et al.] // Clinical and experimental pharmacology and physiology. – 2009. – Vol. 36. – №5-6. – P. 594–598.
112. Hyperbaric oxygenation improves redox control and reduces mortality in the acute phase of myocardial infarction in a rat model/ M.S. Oliveira, L.Y. Tanaka, E.L. Antonio, [et al.]// Molecular Medicine Reports. - 2020. - Vol. 21(3). – P.1431–1438.
113. Hyperbaric oxygenation modulates vascular reactivity to angiotensin-(1-7) in diabetic rats: potential role of epoxyeicosatrienoic acids/ A. Kibel, S. Novak, A. Cosic, [et al.]// Diabetes and Vascular Disease Research. - 2015. - Vol. 12(1). – P.33-45.
114. Hyperbaric physics/ M.W. Jones, K. Brett, N. Han, [et al.]// In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. - 2024 [Электронный ресурс].

URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK448104/> (дата обращения: 15.05.2024).

115. Hyperoxia and the cardiovascular system: experiences with hyperbaric oxygen therapy/ J.D. Schipke, T. Muth, C. Pepper, [et al.]// *Medical Gas Research*. - 2022. - Vol. 12(4). – P.153-157.

116. Impact of hyperbaric oxygenation on oxidative stress in diabetic patients/ S. Tepić, A. Petković, I. Srejšović, [et al.]// *Undersea and Hyperbaric Medicine*. - 2018. - Vol. 45(1). – P.9-17.

117. Individual and diabetes presentation characteristics associated with partial remission status in children and adults evaluated up to 12 months following diagnosis of type 1 diabetes: An ADDRESS-2 (After Diagnosis Diabetes Research Support System-2) study analysis/ A. Humphreys, V. Bravis, A. Kaur, [et al.]// *Diabetes Research and Clinical Practice*. - 2019. - Vol. 155. - P. 107789.

118. Influences of hyperbaric oxygen on blood pressure, heart rate and blood glucose levels in patients with diabetes mellitus and hypertension / N.S. Al-Waili, G.J. Butler, J. Beale, [et al.] // *Archives of medical research*. – 2006. – Vol. – 37. – №8. – P. 991-997.

119. Insulin therapy has a complex relationship with measure of oxidative stress in type 2 diabetes: a case for further study/ L. Monnier, C. Colette, F. Michel, [et al.]// *Diabetes-Metabolism Research and Reviews*. - 2011. - Vol. 27(4). – P. 348-53.

120. International Diabetes Federation. *IDF Diabetes Atlas, 10th edn.* Brussels, Belgium: 2021. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.diabetesatlas.org> (дата обращения: 15.05.2024).

121. Jain, K.K. The history of hyperbaric medicine. In: *Textbook of hyperbaric medicine*/ K.K. Jain// Cham: Springer. - 2017. – P. 3–9.

122. Jain, K.K. The History of hyperbaric medicine/ K.K. Jain// *Textbook of Hyperbaric Medicine, 4th ed.* Kirkland, WA: Hogrefe and Huber Publishers. - 2004. - P.3–8.

123. Kahraman, C. Hyperbaric oxygen therapy affects insulin sensitivity/resistance by increasing adiponectin, resistin, and plasminogen activator inhibitor-I in rats/ C.

Kahraman, H. Yaman//Turkish Journal of Medical sciences. - 2021. - Vol. 51(3). – P.1572-1578.

124. Kibel, A. Hyperbaric oxygen treatment increases serum angiotensin-converting enzyme activity levels in healthy but not in diabetic rats/ A. Kibel, V. Seric, I. Drenjavcevic// Journal of Hypertension. - 2016. - Vol. 34. – P.326-327.

125. Klein, R. Hyperglycemia and macrovascular disease in diabetes/ R. Klein // Diabetes Care. - 1995. - Vol. 18(2). – P.258-68.

126. Lehrke, M. Diabetes mellitus and heart failure/ M. Lehrke, N. Marx// The American Journal of Medicine. - 2017. - Vol. 130. - P. 40-50.

127. Life without blood / I. Boerema, N.G. Meyne, W.K. Brummelkamp, [et al.] // Journal of cardiovascular surgery. – 1960. – Vol. 1. – P. 133–146.

128. Maier, C.M. Role of superoxide dismutases in oxidative damage and neurodegenerative disorders/ C.M. Maier, P.H. Chan//Neuroscientist. - 2002. - Vol.8(4). – P.323-34.

129. Metformin and insulin suppress hepatic gluconeogenesis through phosphorylation of CREB binding protein/ L. He, A. Sabet, S. Djedjos, [et al.]// Cell. - 2009. - Vol. 137(4). – P.635-646.

130. Mitochondrial redox signaling and oxidative stress in kidney diseases/ Aranda-A.K. Rivera, A. Cruz-Gregorio, O.E. Aparicio-Trejo, [et al.] // Biomolecules. –2021. – Vol.11. – Is. 8. – P. 1144.

131. Mosterd, A. Clinical epidemiology of heart failure/ A. Mosterd, A.W. Hoes// Heart. - 2007. - Vol.93(9). – P.1137-46.

132. Multifactorial intervention and cardiovascular disease in patients with type 2 diabetes/ P. Gaede, P. Vedel, N. Larsen, [et al.]// New England Journal of Medicine. - 2003. - Vol. 348(5). - P. 383–93.

133. Muscle Oxygen Supply and Use in Type 1 Diabetes, From Ambient Air to the Mitochondrial Respiratory Chain: Is There a Limiting Step?/ E. Heyman, F. Daussin, V. Wiczorek, [et al.]//Diabetes Care. - 2020. - Vol. 43(1). – P.209-218.

134. Ohkawa, H. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction/ H. Ohkawa, N. Ohishi, K. Yagi// *Analytical biochemistry*. – 1979. – Vol.95. – P.351–358.
135. Overview of epidemiology and contribution of obesity and body fat distribution to cardiovascular disease: an update/ M.E. Piché, P. Poirier, I. Lemieux, J.P. Després// *Progress in Cardiovascular Diseases*. - 2018. - Vol. 61. - P. 103-113.
136. Oxidative stress levels in rats following exposure to oxygen at 3 atm for 0-120 min/ S. Oter, T. Topal, S. Sadir, [et al.]// *Aviation Space and Environmental Medicine*. - 2007. - Vol.78(12). – P.1108–1113.
137. Oxygen concentration-dependent oxidative stress levels in rats/ F. Nagatomo, H. Fujino, H. Kondo, A. Ishihara// *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. - 2012. - Vol. 2012. - P. 381763.
138. Palmquist, B.M. Nuclear cataract and myopia during hyperbaric oxygen therapy/ B.M. Palmquist, B. Philipson, P.O. Barr// *British Journal of Ophthalmology*. - 1984. - Vol.68(2). – P.113-117.
139. Pathak, R. Dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) inhibitors in the management of diabetes/ R. Pathak, M.B. Bridgeman// *P and T*. - 2010. - Vol.35(9). – P.509-513.
140. Petrie, J.R. Diabetes, hypertension, and cardiovascular disease: clinical insights and vascular mechanisms/ J.R. Petrie, T.J. Guzik, R.M. Touyz// *Canadian Journal of Cardiology*. - 2018. - Vol. 34. - P. 575-584.
141. Pick, E. A simple colorimetric method for the measurement of hydrogen peroxide produced by cells in culture/ E. Pick, Y. Keisari// *Journal of Immunological Methods*. - 1980. - Vol.38(1-2). – P.161-70.
142. Potential benefits of hyperbaric oxygen therapy on atherosclerosis and glycaemic control in patients with diabetic foot/ N. Karadurmus, M. Sahin, C. Tasci, [et al.]// *Endokrynologia Polska*. - 2010. - Vol.61(3). – P.275-279.
143. Prevalence of diastolic dysfunction in normotensive, asymptomatic patients with well-controlled type 2 diabetes mellitus/ M. Zabalgoitia, M.F. Ismaeil, L. Anderson, F.A. Maklady // *American Journal of Cardiology*. - 2001. - Vol. 87(3). – P.320-323.

144. Prolonged QTc interval and risks of total and cardiovascular mortality and sudden death in the general population: a review and qualitative overview of the prospective cohort studies/ A. Montanez, J.N. Ruskin, P.R. Hebert, [et al.]// *Archives of Internal Medicine*. - 2004. - Vol.164(9). – P.943-948.
145. Protective effects of hyperbaric oxygen therapy (HBO<sub>2</sub>) in cardiac care – A proposal to conduct a study into the effects of hyperbaric pre-conditioning in elective coronary artery bypass graft surgery (CABG) / M.W. Allen, E. Golembe, S. Gorenstein, [et al.] // *Undersea and Hyperbaric Medicine*. – 2015. – Vol. 42. – Is. 2. – P. 107–114.
146. Protocol of insulin therapy for streptozotocin-diabetic rats based on a study of food ingestion and glycemic variation/ L.S. Pinheiro, A.D. de Melo, A.E. Andreazzi [et al.]// *Scandinavian Journal of Laboratory Animal Science*. – 2011. – Vol.38(2). – P.117.
147. Pulmonary edema induced by hyperbaric oxygen therapy/ P. Leelasinjaroen, N. Saad, W. Manatsathit [et al.]// *Chest*. - 2014. - Vol. 146. - P. 456.
148. Reactive oxygen species, toxicity, oxidative stress, and antioxidants: chronic diseases and aging/ K. Jomova, R. Raptova, S.Y. Alomar, [et al.]//*Archives of Toxicology*. - 2023. - Vol. 97(10). – P.2499-2574.
149. Reduction of side effects of hyperbaric oxygen therapy with thymoquinone treatment in rats/ A.E. Gunes, O. Gozeneli, A.A. Akal, [et al.]// *Undersea and Hyperbaric Medicine*. - 2017. - Vol. 44. - P. 337–343.
150. Relation of systemic blood pressure, left ventricular mass, insulin sensitivity, and coronary artery disease to QT interval duration in nondiabetic and type 2 diabetic subjects / A. Festa, R.Jr. D'Agostino, P. Rautaharju, [et al.] // *American journal of cardiology*. – 2000. – Vol. 15. – Is. 86. - №10. – P. 1117–1122.
151. Risk factors for QTc-prolongation: systematic review of the evidence/ E. Vandael, B. Vandenberg, J. Vandenberghe, [et al.]// *International Journal of Clinical Pharmacy*. - 2017. - Vol. 39(1). – P.16-25.
152. Rivalland, G. Pulmonary barotrauma and cerebral arterial gas embolism during hyperbaric oxygen therapy/ G. Rivalland, S.J. Mitchell, J.M. van Schalkwyk//*Aviation Space and Environmental Medicine*. - 2010. - Vol. 81. - P. 888-890.

153. Roeckl-Wiedmann, I. Systematic review of hyperbaric oxygen in the management of chronic wounds/ I. Roeckl-Wiedmann, M. Bennett, P. Kranke// *Br J Surg.* - 2005. - Vol. 92(1). – P.24-32.
154. Rogatsky, G.G. Hyperbaric oxygenation for resuscitation and therapy of elderly patients with cerebral and cardio-respiratory dysfunction/ G.G. Rogatsky, I. Stambler// *Frontiers in bioscience (Scholar edition).* - 2017. - Vol. 9(2). – P.230-243.
155. Rojas, L.B. Metformin: an old but still the best treatment for type 2 diabetes/ L.B. Rojas, M.B. Gomes// *Diabetology & Metabolic Syndrome.* - 2013. - Vol. 5(1). – P.6.
156. Role of echocardiography in diabetic cardiomyopathy: from mechanisms to clinical practice/ H. Urlic, M. Kumric, J. Vrdoljak, [et al.]// *Journal of Cardiovascular Development and Disease.* - 2023. - Vol. 10(2). – P.46.
157. ROS-triggered endothelial cell death mechanisms: Focus on pyroptosis, parthanatos, and ferroptosis/ D. Zheng, J. Liu, H. Piao, [et al.]// *Frontiers in Immunology.* - 2022. - Vol. 13. - P. 1039241.
158. Saltiel, A.R. Inflammatory mechanisms linking obesity and metabolic disease/ A.R. Saltiel, J.M. Olefsky// *Journal of Clinical Investigation.* - 2017. - Vol. 127(1). – P.1-4.
159. Scheen, A.J. L'etude clinique du mois. L'étude ADOPT: quel antidiabétique oral initier chez le patient diabétique de type 2? [ADOPT study: which first-line glucose-lowering oral medication in type 2 diabetes?]/ A.J. Scheen// *Revue medicale de Liege.* - 2007. - Vol.62(1):48-52.
160. Schottlender, N. Hyperbaric oxygen treatment: effects on mitochondrial function and oxidative stress/ N. Schottlender, I. Gottfried, U. Ashery// *Biomolecules.* - 2021. - Vol. 11. - P. 1827.
161. Seizures during hyperbaric oxygen therapy: retrospective analysis of 62,614 treatment sessions/ A. Hadanny, O. Meir, Y. Bechor, [et al.]// *Undersea and Hyperbaric Medicine.* - 2016. - Vol. 43. -P. 21-28.
162. Sethuraman, K.N. Is there a place for hyperbaric oxygen therapy?/ K.N. Sethuraman, R. Smolin, S. Henry // *Advances in Surgery.* - 2022. - Vol. 56. - P. 169-204.

163. Singh, A.K. Dipeptidyl peptidase-4 inhibitors: Novel mechanism of actions/ A.K. Singh // *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism*. - 2014. - Vol. 18(6). – P.753-9.
164. Slater, T. Assessment of breathlessness: A critical dimension of identifying cardiovascular disease/ T. Slater, M. Abshire, P. Davidson// *Australian Nursing and Midwifery Journal*. - 2018. - Vol. 25. - P. 36–39.
165. Stonehouse, A.H. Incretin-based therapies/ A.H. Stonehouse, T. Darsow, D.G. Maggs // *Journal of Diabetes*. - 2012. - Vol. 4(1). – P.55-67.
166. Sulfonylureas and their use in clinical practice/ D. Sola, L. Rossi, G.P. Schianca, [et al.]// *Archives of Medical Science*. - 2015. - Vol. 11(4). – P.840-8.
167. Svane, J. Diabetes and the risk of sudden cardiac death/ J. Svane, U. Pedersen-Bjergaard, J. Tfelt-Hansen// *Current Cardiology Reports*. - 2020. - Vol. 22(10). – P.112.
168. Takemura, A. Exposure to a mild hyperbaric oxygen environment elevates blood pressure/ A. Takemura // *Journal of Physical Therapy Science*. - 2022. - Vol. 34(5). – P.360-364.
169. Temporal trends in the incidence of and mortality associated with heart failure with preserved and reduced ejection fraction/ C.W. Tsao, A. Lyass, D. Enserro, [et al.]// *JACC: Heart Failure*. - 2018. - Vol. 6. - P. 678–685.
170. The effect of acute hyperbaric oxygen therapy on axial pattern skin flap survival when administered during and after total ischemia/ W.A. Zamboni, A.C. Roth, R.C. Russell, [et al.]// *Journal of Reconstructive Microsurgery*. - 1989. - Vol. 5(4). – P.343-347.
171. The effect of hyperbaric oxygen on reperfusion of ischemic axial skin flaps: a laser Doppler analysis/ W.A. Zamboni, A.C. Roth, R.C. Russell, E.C. Smoot// *Annals of Plastic Surgery*. - 1992. - Vol. 28(4). – P.339-341.
172. The effect of hyperbaric oxygen therapy on myocardial perfusion after the implantation of drug-eluting stents/ Y. Li, Y. Hao, T. Wang, [et al.]// *Annals of Clinical Laboratory Science*. - 2018. - Vol. 48(2). – P.158-163.

173. The effect of hyperbaric oxygenation therapy on myocardial function/ M. Leitman, S. Efrati, S. Fuchs, [et al.]// *International Journal of Cardiovascular Imaging*. - 2020. - Vol.36(5). – P.833-840.
174. The effects of hyperbaric oxygen on free flaps in rats/ C.M. Kaelin, M.J. Im, R.A. Myers, [et al.]// *Archives of Surgery*. - 1990. - Vol.125(5). – P.607-609.
175. The effects of hyperbaric oxygen on the crystallins of cultured rabbit lenses: a possible catalytic role for copper/ V.A. Padgaonkar, V.R. Leverenz, K.E. Fowler, [et al.]// *Experimental Eye Research*. - 2000. - Vol.71(4). – P.371-383.
176. The effects of hyperbaric oxygenation on oxidative stress, inflammation and angiogenesis / S.D. De Wolde, R.H. Hulskes, R.P. Weenink, [et al.] // *Biomolecules*. – 2021. – Vol. 11. – №8. – P. 1210.
177. The role of hyperbaric oxygen treatment for COVID-19: A Review/ M. Paganini, G. Bosco, F.A.G. Perozzo, [et al.]// *Advances in Experimental Medicine and Biology*. - 2021. - Vol. 1289. - P. 27-35.
178. Therapeutic, hemodynamic, and metabolic effects of hyperbaric oxygenation in peripheral vascular disease/ A. Visonà, L. Lusiani, F. Rusca, [et al.]// *Angiology*. - 1989. - Vol. 40(11). – P.994-1000.
179. Thiazolidinediones improve beta-cell function in type 2 diabetic patients/ A. Gastaldelli, E. Ferrannini, Y. Miyazaki, [et al.]//*American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*. - 2007. - Vol. 292(3). - P.871-883.
180. Thom S.R. Hyperbaric oxygen: its mechanisms and efficacy/ S.R. Thom// *Plastic and Reconstructive Surgery*. - 2011. - Vol. 127. - Suppl. 1. - P. 131–141.
181. Thom, S.R. Microparticle-induced vascular injury in mice following decompression is inhibited by hyperbaric oxygen: effects on microparticles and interleukin-1 $\beta$ / S.R. Thom, V.M. Bhopale, M. Yang// *Journal of Applied Physiology* (1985). - 2019. - Vol. 126. - P. 1006-1014.
182. Type 1 diabetes defined by severe insulin deficiency occurs after 30 years of age and is commonly treated as type 2 diabetes/ N.J. Thomas, A.L. Lynam, A.V. Hill, [et al.]//*Diabetologia*. - 2019. - Vol. 62. - P.1167-1172.

183. Vrabec, J.T. Short-term tympanostomy in conjunction with hyperbaric oxygen therapy/ J.T. Vrabec, K.S. Clements, J.T. Mader// *Laryngoscope*. - 1998. - Vol. 108(8 Pt 1). – P.1124-1128.
184. Weaver, L.K. Pulmonary edema associated with hyperbaric oxygen therapy/ L.K. Weaver, S. Churchill// *Chest*. - 2001. - Vol. 120(4). – P.1407-1409.
185. Wilkinson, D. Hyperbaric oxygen therapy improves peripheral insulin sensitivity in humans/ D. Wilkinson, I.M. Chapman, L.K. Heilbronn// *Diabetic Medicine*. - 2012. - Vol. 29(8). – P.986-989.
186. Živković, M. Historical development of hyperbaric medicine and physiological basis of its application/ M. Živković, Ž. Kanjuh, P. Bakočević// In: Živković M, editor. *Hyperbaric and underwater medicine*. Beograd: HBO centar. - 1998. – P.103–113.