

Гигиена окружающей среды и населённых мест

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2019

Кушнерова Н.Ф.¹, Рахманин Ю.А.², Момот Т.В.³, Фоменко С.Е.¹, Спрыгин В.Г.¹, Лесникова Л.Н.¹, Другова Е.С.¹, Мерзляков В.Ю.¹, Федянина Л.Н.³

ВЛИЯНИЕ ГИПЕРБАРИЧЕСКОГО СТРЕССА НА ЛИПИДНЫЙ СОСТАВ ПЛАЗМЫ КРОВИ И ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЭРИТРОЦИТОВ У ВОДОЛАЗОВ: ПРОФИЛАКТИКА НАРУШЕНИЙ РАСТИТЕЛЬНЫМИ ПОЛИФЕНОЛАМИ

¹ФГБУН «Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичева» ДВО РАН, 690041, Владивосток;

²Федеральное государственное бюджетное учреждение «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 119991, Москва;

³ФГАОУ ВПО «Дальневосточный федеральный университет», Школа биомедицины, 690950, Владивосток

Введение. Проведено исследование липидного состава плазмы крови и мембран эритроцитов, физиологических характеристик эритроцитов у водолазов, испытывающих в процессе профессиональной деятельности воздействие экстремальных факторов гипербарической среды.

Материал и методы. Обследована группа из 10 мужчин-водолазов от 25 до 30 лет, работа которых связана с систематическим выполнением подводных погружений на средних и больших глубинах (20–60 м) с использованием для дыхания сжатого воздуха.

Результаты. Показано, что влияние гипербарического стресса сопровождалось изменением соотношения жирных кислот в общих липидах плазмы крови и мембран эритроцитов. В плазме крови и мембранах эритроцитов отмечалось увеличение количества всех видов насыщенных жирных кислот (миристиновой, пальмитиновой, стеариновой), моноеновых жирных кислот (пальмитолеиновой) и снижение количества полиненасыщенных жирных кислот семейства n-6 (арахидоновой) и n-3 (эйкозапентаеновой), что обуславливает изменение физико-химических свойств эритроцитов, проницаемости и лабильности. Увеличение количества холестерина в мембране эритроцитов коррелирует с его ростом в плазме крови. Отмечалось увеличение объема эритроцитов на 5% и диаметра на 13%, что связано как с включением холестерина в мембрану, так и с повышением её проницаемости. Регистрировался сдвиг порога начала гемолиза при $0,50 \pm 0,02\%$ NaCl и его завершения при $0,40 \pm 0,01\%$ NaCl. Приём в течение двух месяцев БАД «Калифен®» позволил снять метаболические нарушения, вызванные гипербарическими факторами.

Ключевые слова: водолазы; плазма крови; эритроциты; диаметр; объём; осмотическая резистентность; холестерин; жирные кислоты; полифенольные соединения; калифен.

Для цитирования: Кушнерова Н.Ф., Рахманин Ю.А., Момот Т.В., Фоменко С.Е., Спрыгин В.Г., Лесникова Л.Н., Другова Е.С., Мерзляков В.Ю., Федянина Л.Н. Влияние гипербарического стресса на липидный состав плазмы крови и физиолого-биохимические характеристики эритроцитов у водолазов: профилактика нарушений растительными полифенолами. *Гигиена и санитария*. 2019; 98 (3): 250–255. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0016-9900-2019-98-3-250-255>

Для корреспонденции: Кушнерова Наталья Фёдоровна, доктор биол. наук, проф., зав. лаб. биохимии Тихоокеанского океанологического института им. В.И. Ильичёва ДВО РАН, 690041, Владивосток. E-mail: natasha50@mail.ru

Финансирование: Работа поддержана Министерством образования и науки РФ, проект № 14-50-00034.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 23.05.2018

Принята к печати 06.02.2019

Kushnerova N.F.¹, Rakhmanin Yu.A.², Momot T.V.³, Fomenko S.E.¹, Sprygin V.G.¹, Lesnikova L.N.¹, Drugova E.S.¹, Merzlyakov V.Yu.¹, Fedyanina L.N.³

IMPACT OF HYPERBARIC STRESS ON LIPID COMPOSITION OF BLOOD PLASMA AND PHYSIOLOGICAL-BIOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF ERYTHROCYTES IN DIVERS: PREVENTION OF VIOLATIONS BY VEGETABLE POLYPHENOLS

¹V.I. Ilichev Pacific Oceanological Institute, Vladivostok, 690041, Russian Federation;

²Center of Strategic Planning, Russian Ministry of Health, 119991, Moscow, Russian Federation;

³Far Eastern Federal University, School of biomedicine, Vladivostok, 690950, Russian Federation

There was studied lipid composition of blood plasma and erythrocyte membranes, physiological characteristics of erythrocytes in divers, exposed to extreme factors of the hyperbaric environment in the process of the occupational activity. There was observed a group of 10 male divers from 25 to 30 years of age, whose work is associated with the systematic implementation of submarine dives at medium and large depths (20–60 m) using compressed air for breathing. The influence of hyperbaric stress was shown to be accompanied by the change in a ratio of fatty acids in the total lipids of blood plasma and erythrocyte membranes. In total lipids of blood plasma and erythrocyte membranes the number of all kinds of saturated fatty acids (myristic acid, palmitic acid, stearic acid), the monounsaturated fatty acids (palmitoleic acid) was increased and an amount of polyunsaturated fatty acids of n-6 family (arachidonic acid) and n-3 (eicosapentaenoic acid) was reduced, which caused a change in physicochemical properties of erythrocytes,

permeability, and lability. The increase in the amount of cholesterol in the erythrocyte membranes correlates with its elevation in blood plasma. There was an increase in the volume of erythrocytes by 5% and diameter by 13%, due to the inclusion of cholesterol in the membrane. It was recorded a shift in the threshold of hemolysis start at $0.50 \pm 0.02\%$ NaCl and its completion at $0.40 \pm 0.01\%$ NaCl. Preventive administration of the Kalifen food supplement for two months before the dive would help to remove metabolic disorders caused by the hyperbaric factors.

Key words: *divers; blood plasma; erythrocytes; diameter; volume; osmotic resistance; cholesterol; fatty acids; polyphenolic substances; kalifen.*

For citation: Kushnerova N.F., Rakhmanin Yu.A., Momot T.V., Fomenko S.E., Sprygin V.G., Lesnikova L.N., Drugova E.S., Merzliakov V.Yu., Fedyanina L.N. Impact of hyperbaric stress on lipid composition of blood plasma and physiological-biochemical characteristics of erythrocytes in divers: prevention of violations by vegetable polyphenols. *Gigiena i Sanitaria (Hygiene and Sanitation, Russian journal)* 2019; 98(3): 250-255. (In Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0016-9900-2019-98-3-250-255>

For correspondence: *Natalia F. Kushnerova*, MD, Ph.D., DSci., professor, Head of the Biochemical laboratory of the V.I. Il'ichev Pacific Oceanological Institute, Vladivostok, 690041, Russian Federation. E-mail: natasha50@mail.ru

Information about the author: *Kushnerova N.F.*, <http://orcid.org/0000-0002-6476-0039>; *Rakhmanin Yu.A.*, <http://orcid.org/0000-0003-2067-8014>; *Momot T.V.*, <http://orcid.org/0000-0003-3873-0343>; *Fomenko S.E.*, <http://orcid.org/0000-0002-0261-0190>; *Sprygin V.G.*, <http://orcid.org/0001-7400-909X>; *K-1651-2018*; *Lesnikova L.N.*, <http://orcid.org/0000-0003-4187-230X>; *Drugova E.S.*, <http://orcid.org/0000-0002-7472-5958>; *Merzliakov V.Yu.*, <http://orcid.org/0000-0002-9536-3247>; *Fedyanina L.N.*, <https://orcid.org/0000-0002-9849-8358>.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgments. This work was supported by the Ministry of Education and Science of the Russian Federation, project No. 14-50-00034.

Received: 23 May 2018

Accepted: 06 February 2019

Введение

На водолазов в процессе выполнения профессиональных обязанностей воздействует широкий спектр факторов: повышенное давление водной и газовой среды (гипербарическое воздействие), гипероксия и декомпрессионный стресс, вызывающий газовую эмболию [1, 2]. Комплекс гипербарических факторов является экстремальным для человека и вызывает нарушение состояния сердечно-сосудистой системы, развитие метаболических изменений в организме, вызванных токсическим действием кислорода [3, 4]. Избыток кислорода в тканях способствует образованию реактивных свободно-радикальных метаболитов, которые, действуя в качестве окислителей, активируют перекисное окисление мембранных липидов и оксидативное поражение органов [5, 6]. При длительном воздействии комплекса гипербарических факторов, даже при соблюдении всех мер предосторожности, наступает предел прочности регуляторных систем организма [7]. В итоге истощается резерв адаптации и формируется оксидативный стресс, который обуславливает стрессорные заболевания или болезни адаптации (синдром хронической усталости, сердечно-сосудистые заболевания, гипертоническую болезнь, атеросклероз и др.). Известно, что у здоровых обследуемых после экспериментальных спусков на различные глубины и длительности в крови отмечается увеличение количества триацилглицеринов, липопротеинов низкой плотности, а также повышение активности ферментов, являющихся показателями цитолиза гепатоцитов [8, 9]. Даже единичные погружения на небольшие глубины (40 м) приводят к существенным изменениям показателей антиоксидантной защиты организма, которые восстанавливаются спустя значительный период времени [10]. Глубокие изменения отмечаются в функционировании эритроцитарной системы: снижается концентрация гемоглобина в крови, падает количество эритроцитов, происходит их ускоренное разрушение и подавляется эритропоэз [8, 11]. Для ограничения поступления кислорода в ткани развивается эритропения и падение концентрации гемоглобина в крови, что является одним из элементов сложного приспособительного механизма. Наблюдаемые отклонения в эритроцитах носят не только функциональный, быстро проходящий, но и структурный характер, для

нормализации которых требуется значительный период времени. Неконтролируемое возрастание активности перекисного и свободно-радикального окисления является одним из главных молекулярных механизмов патогенеза кислородной интоксикации, что в конечном итоге приводит к структурно-метаболической дезинтеграции клеток [12]. Эритроциты являются наиболее удачной биологической моделью для изучения динамики многих нарушений, протекающих в организме при развитии патологии [13]. Физиологические свойства, такие как деформируемость, осмотическая резистентность и способность к агрегации, обеспечивающие продвижение эритроцитов по кровяному руслу, т. е. транспортировку кислорода к органам и тканям, определяются лабильностью эритроцитарных мембран, которые регулируются комплексом взаимосвязанных изменений в структуре липидного бислоя биомембран. Важное значение в нём имеет коэффициент холестерина/фосфолипиды, фосфолипидный состав и соотношение жирных кислот в общих липидах [14], что может служить надёжным критерием протекающих в организме на клеточном уровне процессов адаптации к условиям гипербарии. Для сохранения и укрепления здоровья водолазов помимо обязательного медицинского обеспечения необходимо принятие комплекса профилактических мер, направленных на повышение стресс-устойчивости и ускоренное восстановление работоспособности в реабилитационном периоде. Одним из перспективных подходов к профилактике метаболических нарушений в организме водолазов является усиление антиоксидантной защиты организма за счёт использования биологически активных добавок (БАД), содержащих полифенольные комплексы [15]. Полифенольные соединения, в частности, флавоноиды, обладают высокой антирадикальной и антиоксидантной активностью. К таким соединениям относится суммарный полифенольный комплекс, выделенный из калины (*Viburnum sargentii Koehne*). Экстракт из калины запатентован как БАД к пище (патент № 2199249) под торговой маркой «Калифен®» (свидетельство на товарный знак RU № 228327) и средство, обладающее антирадикальной активностью (патент № 2220614). В состав входит широкий диапазон полифенольных соединений: катехины и их полимерные формы, олигомерные танины, лейкоантоцианы, лигнин, флавонолы и др.

Влияние гипербарического стресса на содержание основных видов жирных кислот (в % от суммы всех жирных кислот, $M \pm m$) общих липидов плазмы крови водолазов и их коррекция калифеномТаблица 1 Эритроциты выделяли общепринятым методом центрифугирования. Для получения мембранной массы эритроциты вносили в дистиллированную воду, где происходил их полный гемолиз. Экстракты общих липидов из плазмы крови и мембран эритроцитов готовили по методу J. Folch и соавт. [18]. Для определения жирнокислотного спектра экстракты липидов подвергали метанолизу с хлористым ацетилом [19]. Эфиры жирных кислот анализировали на газовом хроматографе «ЛХМ-2000-05» (Россия) с пламенно-ионизационным детектором. Жирные кислоты идентифицировали двумя способами: путём сравнения удерживаемых объёмов в исследуемой смеси и с помощью отечественных стандартных препаратов метиловых эфиров жирных кислот ($C_{16}-C_{24}$). Фракционное разделение нейтральных липидов, среди которых выделяли холестерин и определяли его количественное содержание, осуществляли методом одномерной микротонкослойной хроматографии на силикагеле [20]. Содержание отдельных фракций выражали в процентах от общих липидов. Определение общих фосфолипидов проводили по методу V.E. Vaskovsky и соавт. [21]. Суммарное содержание липопротеинов очень низкой и низкой плотности, а также липопротеинов высокой плотности определяли по методу [22]. Количественные данные обрабатывали с использованием статистического пакета InStat 3,0 (GraphPad. Software Inc. USA, 2005) со встроенной процедурой проверки соответствия выборки закону нормального распределения. Для определения статистической значимости различий в зависимости от параметров распределения использовали параметрический *t*-критерий Стьюдента или непараметрический *U*-критерий Манна-Уитни. Научно-исследовательская работа проводилась с соблюдением нормативной и регламентирующей документации Минздрава России «О порядке проведения биомедицинских исследований у человека» (2002). Исследование одобрено Комиссией по вопросам этики Тихоокеанского океанологического института им. В.И. Ильичёва ДВО РАН.

Жирная кислота	Группа		
	1-я	2-я	3-я
	контроль	водолазы после погружения	
до приёма БАД «Калифен®»		после приёма БАД «Калифен®»	
Миристиновая (14:0)	0,88 ± 0,02	1,02 ± 0,03 ²	0,90 ± 0,02 [■]
Пальмитиновая (16:0)	21,13 ± 0,47	23,73 ± 0,32 ³	21,72 ± 0,21 [♦]
Стеариновая (18:0)	2,73 ± 0,06	3,27 ± 0,14 ²	2,77 ± 0,08 [■]
Пальмитолеиновая (16:1)	15,08 ± 0,36	16,91 ± 0,49 ²	15,22 ± 0,45 [•]
Олеиновая (18:1)	21,93 ± 0,84	21,20 ± 1,20	21,74 ± 0,73
Линолевая (18:2 <i>n</i> -6)	20,60 ± 1,18	18,12 ± 1,05	20,40 ± 1,10
Арахидоновая (20:4 <i>n</i> -6)	1,18 ± 0,03	0,84 ± 0,02 ³	1,13 ± 0,03 [♦]
Линоленовая (18:3 <i>n</i> -3)	9,90 ± 0,58	9,00 ± 0,17	9,77 ± 0,26
Эйкозапентаеновая (20:5 <i>n</i> -3)	2,77 ± 0,04	2,28 ± 0,04 ³	2,63 ± 0,03 [♦]
Докозагексаеновая (22:6 <i>n</i> -3)	3,80 ± 0,08	3,63 ± 0,06	3,72 ± 0,04
Сумма насыщенных	25	28	25
Сумма ненасыщенных	75	72	75
Индекс насыщенности	0,33	0,39	0,33
20:4 <i>n</i> -6 / 18:2 <i>n</i> -6	0,06	0,05	0,06
20:4 <i>n</i> -6 / 20:5 <i>n</i> -3	0,43	0,37	0,43

Примечание. Здесь и в табл. 2: различия статистически значимы: ¹,[•] – $p < 0,05$; ²,[■] – $p < 0,01$; ³,[♦] – $p < 0,001$ (цифры – по сравнению с контролем, символы – по сравнению со 2-й группой).

Цель работы – исследование влияния гипербарического стресса на липидный состав плазмы крови, на физиолого-биохимические характеристики эритроцитов у водолазов и профилактика нарушений с использованием БАД «Калифен®».

Материал и методы

Обследована группа из 10 мужчин-водолазов от 25 до 30 лет, работа которых связана с систематическим выполнением подводных погружений на средних и больших глубинах (20–60 м) с использованием для дыхания сжатого воздуха. Исследования проводились в Приморском крае в Японском море. Участникам эксперимента в течение двух месяцев было предложено ежедневно утром после еды принимать по 2,5 мл калифена с сохранением режима погружений, что составляло 100 мг общих полифенолов в сутки. Это терапевтическая доза для полифенольных препаратов [16]. Группу сравнения составили здоровые доноры-мужчины ($n = 10$) сопоставимого возраста. В ходе исследования были сформированы 3 группы: 1 группа – контроль (доноры), 2-я группа – водолазы после погружения на глубину до 60 м, 3-я группа – водолазы после профилактического приёма калифена и совершившие очередной этап погружения. Кровь для исследований собирали из локтевой вены в вакуэты с 1%-м раствором гепарина: у доноров – утром натощак, у испытуемых водолазов – после подъёма с глубины на поверхность. Средний объём и средний диаметр эритроцитов крови определяли на гематологическом анализаторе Abacus (Diatron, Австрия). Осмотическую резистентность эритроцитов к изменению концентрации NaCl (от 0,9 до 0,25%) рассчитывали по методу Б.Л. Эндрю [17].

Эритроциты выделяли общепринятым методом центрифугирования. Для получения мембранной массы эритроциты вносили в дистиллированную воду, где происходил их полный гемолиз. Экстракты общих липидов из плазмы крови и мембран эритроцитов готовили по методу J. Folch и соавт. [18]. Для определения жирнокислотного спектра экстракты липидов подвергали метанолизу с хлористым ацетилом [19]. Эфиры жирных кислот анализировали на газовом хроматографе «ЛХМ-2000-05» (Россия) с пламенно-ионизационным детектором. Жирные кислоты идентифицировали двумя способами: путём сравнения удерживаемых объёмов в исследуемой смеси и с помощью отечественных стандартных препаратов метиловых эфиров жирных кислот ($C_{16}-C_{24}$). Фракционное разделение нейтральных липидов, среди которых выделяли холестерин и определяли его количественное содержание, осуществляли методом одномерной микротонкослойной хроматографии на силикагеле [20]. Содержание отдельных фракций выражали в процентах от общих липидов. Определение общих фосфолипидов проводили по методу V.E. Vaskovsky и соавт. [21]. Суммарное содержание липопротеинов очень низкой и низкой плотности, а также липопротеинов высокой плотности определяли по методу [22]. Количественные данные обрабатывали с использованием статистического пакета InStat 3,0 (GraphPad. Software Inc. USA, 2005) со встроенной процедурой проверки соответствия выборки закону нормального распределения. Для определения статистической значимости различий в зависимости от параметров распределения использовали параметрический *t*-критерий Стьюдента или непараметрический *U*-критерий Манна-Уитни. Научно-исследовательская работа проводилась с соблюдением нормативной и регламентирующей документации Минздрава России «О порядке проведения биомедицинских исследований у человека» (2002). Исследование одобрено Комиссией по вопросам этики Тихоокеанского океанологического института им. В.И. Ильичёва ДВО РАН.

Результаты

После погружения в плазме крови водолазов (2-я группа) отмечаются достоверные различия в содержании как насыщенных, так и ненасыщенных жирных кислот по сравнению с водолазами из контрольной группы (табл. 1).

Так, количество насыщенных жирных кислот возросло до 28% (в контроле 25%), что обусловлено ростом количества миристиновой кислоты на 16% ($p < 0,01$), пальмитиновой на 22% ($p < 0,05$), стеариновой на 20% ($p < 0,01$). В ряду моноеновых жирных кислот увеличилось количество пальмитолеиновой кислоты на 12% ($p < 0,01$). В то же время снизилось количество полиненасыщенных жирных кислот как семейства *n*-6 (арахидоновой кислоты на 29%, $p < 0,001$), так и семейства *n*-3 (эйкозапентаеновой кислоты на 18%; $p < 0,001$). Это обусловило рост индекса насыщенности до 0,39 (в контроле 0,33). Исследование коэффициента соотношения 20:4 *n*-6 / 18:2 *n*-6, характеризующего $\Delta 6$ и $\Delta 5$ десатуразы и элонгазы, а также 20:4 *n*-6 / 20:5 *n*-3, характеризующего $\Delta 5$ десатуразу [23], показало снижение соответствующих

Таблица 2

Влияние гипербарического стресса на содержание основных видов жирных кислот (в % от суммы всех жирных кислот, $M \pm m$) общих липидов эритроцитарных мембран водолазов

Жирная кислота	Группа		
	1-я	2-я	3-я
	контроль	водолазы после погружения	
до приёма БАД «Калифен®»		после приёма БАД «Калифен®»	
Миристиновая (14:0)	0,59 ± 0,03	0,95 ± 0,02 ³	0,64 ± 0,02 [♦]
Пальмитиновая (16:0)	21,88 ± 0,76	24,67 ± 0,80 ¹	22,11 ± 0,75 [♦]
Стеариновая (18:0)	18,33 ± 0,42	19,76 ± 0,47 ¹	18,51 ± 0,30 [♦]
Пальмитолеиновая (16:1)	2,36 ± 0,09	3,00 ± 0,12 ³	2,40 ± 0,08 [♦]
Олеиновая (18:1)	16,22 ± 0,48	17,24 ± 0,40	16,37 ± 0,42
Линолевая (18:2 <i>n</i> -6)	13,16 ± 0,51	13,20 ± 0,61	13,12 ± 0,47
Арахидоновая (20:4 <i>n</i> -6)	16,19 ± 0,40	11,69 ± 0,55 ²	15,87 ± 0,42 [♦]
Линоленовая (18:3 <i>n</i> -3)	1,44 ± 0,06	1,40 ± 0,02	1,38 ± 0,04
Эйкозапентаеновая (20:5 <i>n</i> -3)	1,87 ± 0,03	1,43 ± 0,02 ³	1,79 ± 0,02 [♦]
Докозагексаеновая (22:6 <i>n</i> -3)	7,96 ± 0,37	7,86 ± 0,34	7,81 ± 0,41
Сумма насыщенных	41	45	41
Сумма ненасыщенных	59	55	59
Индекс насыщенности	0,69	0,83	0,69
20:4 <i>n</i> -6 / 18:2 <i>n</i> -6	1,23	1,04	1,21
20:4 <i>n</i> -6 / 20:5 <i>n</i> -3	8,66	8,17	8,86

значений, что связано с угнетением этих ферментов при гипербарическом стрессе.

В плазме крови отмечалось увеличение количества незатерифицированного холестерина на 30% ($p < 0,001$), что составляло $16,88 \pm 0,55\%$ от общих липидов по сравнению с $12,96 \pm 0,49\%$ в контроле. Также отмечалось снижение общих фосфолипидов на 11% ($25,47 \pm 0,64\%$ от общих липидов против $28,64 \pm 0,85\%$ в контроле; $p < 0,01$). В результате коэффициент холестерин/фосфолипиды в плазме крови вырос до 0,66 (в контроле 0,45). Следует отметить увеличение количества липопротеинов низкой плотности (ЛПОНП+ЛПНП) до $4,60 \pm 0,11$ г/л (в контроле $3,86 \pm 0,19$ г/л; $p < 0,01$) и уменьшение количества липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) до $2,87 \pm 0,07$ г/л (в контроле $3,17 \pm 0,12$ г/л; $p < 0,05$), то есть развивается дислипидемия.

Изучение величин жирных кислот в общих липидах эритроцитарных мембран водолазов после спуска на глубину выявило их значительные изменения по сравнению с таковыми величинами в контрольной группе (табл. 2). Гипербарический стресс сопровождался увеличением количества насыщенных жирных кислот: миристиновой кислоты на 61% ($p < 0,001$), пальмитиновой кислоты на 27% ($p < 0,05$) и стеариновой кислоты на 8% ($p < 0,05$). При этом сумма насыщенных жирных кислот увеличилась до 45% (в контроле 41%). Среди полиненасыщенных жирных кислот семейства *n*-6 следует отметить снижение количества арахидоновой кислоты на 28% ($p < 0,01$). Среди полиненасыщенных жирных кислот семейства *n*-3 достоверно снижалось количество эйкозапентаеновой кислоты на 24% ($p < 0,001$). Такая разбалансировка в соотношении жирных кислот в мембране эритроцитов обусловила увеличение индекса насыщенности до 0,83 (в контроле 0,69). Исследование коэффициента соотношения 20:4 *n*-6/18:2 *n*-6, а также 20:4 *n*-6/20:5 *n*-3, показало снижение соответствующих значений.

Количество общих фосфолипидов в мембранах эритроцитов снизилось на 15% ($p < 0,001$), что составляло $57,08 \pm 1,06\%$ по сравнению с $67,15 \pm 0,95\%$ в контроле, тогда как количество холестерина увеличилось на 35% ($37,26 \pm 2,10\%$ по сравнению с $27,54 \pm 1,19\%$ в контроле; $p < 0,001$). В связи с этим соотношение холестерин/фосфолипиды выросло до $0,65 \pm 0,03$ (в контроле $0,41 \pm 0,02$).

После спуска на глубину у водолазов по сравнению с контрольной группой отмечалось снижение осмотической резистентности эритроцитов к гемолизирующему агенту, о чём свидетельствует сдвиг порога начала гемолиза до $0,50 \pm 0,01\%$ NaCl, окончание гемолиза регистрировалось при концентрации NaCl – $0,40 \pm 0,01\%$ (в норме начало гемолиза происходит при $0,45 \pm 0,01\%$ NaCl, завершение гемолиза – при $0,35 \pm 0,01\%$ NaCl). Средний диаметр эритроцитов повысился на 5% ($8,04 \pm 0,01$ мкм против $7,69 \pm 0,02$ мкм в контроле; $p < 0,001$), а средний объём эритроцитов – на 13% ($102,40 \pm 1,83$ мкм³ против $90,95 \pm 1,75$ мкм³ в контроле; $p < 0,001$).

Для восстановления нарушенных гипербарическим стрессом метаболических реакций водолазов была проведена фармакологическая профилактика с помощью БАД «Калифен®». Приём калифена испытуемыми в те-

чение двух месяцев (3-я группа) в дозе 2,5 мл ежедневно сопровождался восстановлением соотношения жирных кислот в плазме крови и мембранах эритроцитов при их сравнении с контрольными величинами (см. табл. 1 и 2). Также в плазме крови отмечалось восстановление до контрольных значений уровня холестерина, что составляло $12,64 \pm 0,37\%$, общих фосфолипидов – $28,00 \pm 0,71\%$, коэффициента ХС/ФЛ – 0,45, значений ЛПОНП+ЛПНП – $3,91 \pm 0,13$ г/л и ЛПВП – $3,15 \pm 0,08$ г/л. Осмотическая резистентность эритроцитов также соответствовала таковой в контроле (начало гемолиза при $0,45 \pm 0,01\%$ NaCl и завершение гемолиза при $0,35 \pm 0,01\%$ NaCl). При этом средний диаметр эритроцитов составлял $7,70 \pm 0,02$ мкм, средний объём эритроцитов – $90,31 \pm 1,55$ мкм³. Количество холестерина в мембране эритроцитов находилось на уровне $28,16 \pm 1,07\%$, общих фосфолипидов – $66,88 \pm 1,11\%$, а ХС/ФЛ – 0,42.

С целью выяснения биохимических механизмов протекторного эффекта калифена на метаболические процессы в организме водолазов было проведено сравнение исследуемых величин у испытуемых 3-й группы с соответствующими показателями у водолазов 2-й группы (погружение до приёма препарата). Так, у испытуемых 3-й группы в плазме крови отмечалось снижение количества миристиновой кислоты на 12% ($p < 0,01$), пальмитиновой кислоты – на 8% ($p < 0,001$), стеариновой кислоты – на 15% ($p < 0,01$), что обусловило снижение суммы насыщенных жирных кислот до 25%. В ряду мононенасыщенных жирных кислот следует отметить снижение количества пальмитолеиновой кислоты на 10% ($p < 0,05$). В ряду полиненасыщенных жирных кислот вида *n*-6 отмечалось увеличение арахидоновой кислоты на 35% ($p < 0,001$), а в ряду полиненасыщенных жирных кислот вида *n*-3 – эйкозапентаеновой кислоты на 15% ($p < 0,001$). В результате сумма ненасыщенных жирных кислот возросла до 75%, а

соотношения 20:4 n-6/18:2 n-6 и 20:4 n-6/20:5 n-3 достигли контрольных значений, что свидетельствует о восстановлении активности ферментов элонгаз и десатураз. Также обращает на себя внимание тот факт, что приём калифена сопровождался снижением уровня холестерина в плазме крови на 25% ($p < 0,001$) и увеличением количества общих фосфолипидов на 10% ($p < 0,05$), при этом значения ЛПОНП+ЛПНП были меньше на 15% ($p < 0,001$), а ЛПВП больше на 10% ($p < 0,05$), чем таковые значения у водолазов после погружения без препарата. То есть приём калифена снимал состояние дислипидемии.

При сравнении величин жирных кислот в мембранах эритроцитов между этими группами отмечалась аналогичная направленность изменений, как и в плазме крови. Снизилось количество миристиновой кислоты на 33% ($p < 0,001$), пальмитиновой кислоты на 10% ($p < 0,05$) и стеариновой кислоты на 6% ($p < 0,05$), в результате чего сумма насыщенных жирных кислот уменьшилась до 41% и индекса насыщенности до 0,69. Среди полиненасыщенных жирных кислот следует отметить увеличение количества арахидоновой кислоты на 36% ($p < 0,001$) и эйкозапентаеновой кислоты на 25% ($p < 0,001$), что способствовало увеличению суммы ненасыщенных жирных кислот до 59% и снижению индекса насыщенности до 0,69. Также следует отметить восстановление до контрольных значений соотношений 20:4 n-6/18:2 n-6 и 20:4 n-6/20:5 n-3. Приём калифена сопровождался уменьшением среднего диаметра эритроцитов на 4% ($p < 0,001$), при этом средний объем эритроцитов снизился на 11% ($p < 0,001$), а количество холестерина в мембране – на 24% ($p < 0,001$), в то же время значение общих фосфолипидов было выше на 17% ($p < 0,001$).

Обсуждение

Как показали исследования по влиянию различных по природе стрессовых факторов, реакция организма человека на стресс осуществляется по универсальному пути, который был изучен при воздействии физического стресса на организм животных [24]. Под действием гипербарии увеличение насыщенных жирных кислот обусловлено как активацией липолиза в жировой ткани и поступлением жирных кислот в кровь, так и окислением жирных кислот в печени до ацетил-КоА (при стрессе энергетический обмен переключается с углеводного пути на липидный), избыток которого полностью не утилизируется в цикле Кребса, а используется на синтез насыщенных жирных кислот и холестерина. В то же время при стрессе угнетается активность элонгаз и десатураз, что снижает возможность синтеза полиненасыщенных жирных кислот [23]. Этот факт подтверждается расчётами показателей, которые характеризуют активность ферментов элонгаз и десатураз. Разбалансировка жирнокислотных спектров в плазме крови и мембранах эритроцитов, по-видимому, может быть одним из патогенетических звеньев в становлении стрессовых заболеваний [25]. Расчёт коэффициента корреляции между величинами жирных кислот, холестерина, общих фосфолипидов в общих липидах плазмы крови и таковыми в общих липидах мембран эритроцитов показал достоверную прямую умеренную и сильную связь ($r = 0,68-0,87$), что подтверждает факт зависимости структуры мембран эритроцитов от состава липидов плазмы крови. В результате встраивания холестерина в мембрану эритроцитов увеличиваются их размеры и изменяется форма: происходит превращение двояковогнутых дисков в сферциты и эхиоциты [26]. Избыток холестерина в мембране эритроцитов, а также увеличение содержания насыщенных

жирных кислот и снижение количества ненасыщенных жирных кислот свидетельствует о повышении её жёсткости и уменьшении лабильности, что способствует снижению способности эритроцитов к деформации и обуславливает их ранний гемолиз [14]. Увеличение содержания холестерина в мембране эритроцитов приводит к увеличению микровязкости мембраны, ухудшению деформируемости и способности к прохождению в микроциркулярном русле [27].

Одним из важнейших механизмов действия природных фенольных комплексов является их способность улавливать свободные окислительные и пероксидальные радикалы [28]. Являясь «ловушками» свободных радикалов, фенольные соединения защищают жирные кислоты фосфолипидов мембран от атаки свободных радикалов. Молекулы фенольных соединений взаимодействуют с поверхностью мембран и этим увеличивают прочность поверхностного слоя клеток [29], что препятствует развиту перекисного окисления жирных кислот, сохраняя осмотическую устойчивость эритроцитов к гемолизирующему агенту и их размерные характеристики. Феномен снижения холестерина объясняется тем, что молекулы фенолов активируют фермент 7α -холестерингидроксилазу, участвующую в окислении холестерина в желчные кислоты [30]. Кроме того, растительные фенолы активируют фермент лецитин-холестерин-ацилтрансферазу (ЛХАТ) [31] и тем самым нормализуют соотношение липидных компонентов в липопротеинах, что снимает состояние дислипидемии.

Заключение

Полученные результаты свидетельствуют о воздействии гипербарического стресса на организм человека, что обуславливает необходимость фармакокоррекции метаболических нарушений. Применение экстрактов растительного происхождения полифенольной природы при воздействии экстремальных факторов гипербарической среды является перспективным направлением. Профилактический приём БАД «Калифен®» позволит эффективно бороться с последствиями комплексного воздействия стрессовых факторов на организм водолазов, что, безусловно, увеличит их профессиональное и биологическое долголетие.

Литература

(пп. 1, 2, 6, 7, 9, 10, 18, 20, 21, 26, 29, 30 см References)

- Мызников И.Л., Полищук Ю.С. Состояние здоровья, заболеваемость и травматизм у водолазов, проходящих службу в Кольском заполярье. *Гигиена и санитария*. 2014 (4): 61-6.
- Хайруллина Р.Р. Оценка состояния сердечно-сосудистой системы у операторов подводных технических систем. *Физиология экстремальной деятельности*. 2016; 40 (30): 53-7.
- Буравкова Л.Б., Попова Ю.А. Влияние гипербарической среды различного газового состава на метаболические показатели крови человека. *Физиология человека*. 2007; 33 (5): 102-8.
- Найдина В.П., Пепеляев Ю.В., Буравкова Л.Б. Изменение состава высших жирных кислот сыворотки крови и мембран эритроцитов при длительном пребывании человека в условиях гипербарической газовой среды. *Физиология человека*. 2009; 35 (4): 57-63.
- Фоменко С.Е., Кушнерова Н.Ф., Момот Т.В. Изменение липидного состава мембран эритроцитов у водолазов, работающих на малых и средних глубинах. *Медицина труда и промышленная экология*. 2017; (3): 41-6.
- Беннетт П.Б., Эллиотт Д.Г. *Медицинские проблемы подводных погружений*. Пер. с англ. М.: Мир; 1988.
- Момот Т.В., Кушнерова Н.Ф., Рахманин Ю.А. Модификация жирнокислотного состава мембран эритроцитов при интоксикации ацетоном. *Гигиена и санитария*. 2016; (8): 782-5.

14. Момот Т.В., Кушнерова Н.Ф., Рахманин Ю.А. Профилактика нарушения биохимических показателей в крови крыс при экспериментальном стрессе. *Гигиена и санитария*. 2016; (7): 678-81.
15. Момот Т.В., Кушнерова Н.Ф. Оси соцветий лимонника китайского в профилактике стрессовых нарушений антиоксидантной защиты и липидного обмена у крыс. *Известия Самарского научного центра РАН*. 2015; 17(5): 164-8.
16. Венгеровский А.И., Маркова И.В., Саратиков А.С. Доклиническое изучение гепатозащитных средств. *Ведомости фарм. комитета*. 1999 (2): 9-12.
17. Эндрю Б.Л. *Экспериментальная физиология*. М.: Мир; 1972.
19. Берчфилд Г., Сторрс Э. *Газовая хроматография в биохимии*. Пер. с англ. М.: Мир; 1964.
22. Колб В.Г., Камышников В.С. *Справочник по клинической химии*. Минск: Беларусь, 1982.
23. Эндакова Э.А., Новгородцева Т.П., Светашев В.И. *Модификация состава жирных кислот крови при сердечно-сосудистых заболеваниях*. Владивосток: Дальнаука. 2002.
24. Фоменко С.Е., Кушнерова Н.Ф., Спрыгин В.Г., Момот Т.В. Нарушение обменных процессов в печени крыс под действием стресса. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2013; (2): 67-70.
25. Титов В.Н. Внутриклеточный дефицит полиеновых жирных кислот в патогенезе атеросклероза. *Кардиология*. 1998; (1): 43-9.
27. Жеребкер Е.М. Влияние прерывистой нормобарической гипокситерапии на эндозоологические особенности холестерина гомеостаза у больных ишемической болезнью сердца. *Клиническая геронтология*. 2008; (3): 74-7.
28. Афанасьева Ю.Г., Фахретдинова Е.Р., Спирихин Л.В., Насибуллин Р.С. О механизме взаимодействия некоторых флавоноидов с фосфатидилхолином клеточных мембран. *Химико-фармацевтический журнал*. 2007; 41 (7): 12-4.
31. Гаскина Т.К., Курилович С.А., Горчаков В.Н. Изменение скорости лецитинхолестеролацилтрансферазной реакции и липидных показателей сыворотки крови под влиянием катергена в условиях острого экспериментального перерождения печени. *Вопросы медицинской химии*. 1989; 35 (4): 24-8.
9. Mila-Kierzenkowska C Wozniak. A., Szpinda M. et al. Oxidative stress in blood of healthy people after diving. *Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*. 2015; 55 (4): 352-60.
10. Sureda A., Ferrer M.D., Batle J.M. et al. Scuba diving increases erythrocyte and plasma antioxidant defenses and spares NO without oxidative damage. *Med. Sci. Sports Exerc.* 2009; 41 (6): 1271.
11. Fomenko S.E., Kushnerova N.F., Momot T.V. Изменение липидного состава мембран эритроцитов у водолазов, работавших на малых и средних глубинах. *Медицина труда и промышленная экология*. 2017; (3): 41-6.
12. Bennett P.B., Elliott D.G. *Медицинские проблемы подводных погружений*. Пер. с англ. М.: Мир; 1988.
13. Momot T.V., Kushnerova N.F., Rahmanin Yu.A. Модификация жирнокислотного состава мембран эритроцитов при интоксикации ацетоном. *Гигиена и санитария*. 2016; (8): 782-5.
14. Momot T.V., Kushnerova N.F., Rahmanin Yu.A. Профилактика нарушения биохимических показателей в крови крыс при экспериментальном стрессе. *Гигиена и санитария*. 2016; (7): 678-81.
15. Момот Т.В., Кушнерова Н.Ф., Спрыгин В.Г., Момот Т.В. Нарушение обменных процессов в печени крыс под действием стресса. *Известия Самарского научного центра РАН*. 2015; 17(5): 164-8.
16. Венгеровский А.И., Маркова И.В., Саратиков А.С. Доклиническое изучение гепатозащитных средств. *Ведомости фарм. комитета*. 1999; (2): 9-12.
17. Эндрю Б.Л. *Экспериментальная физиология*. М.: Мир; 1972.
18. Folch J., Less M., Sloane-Stanley G.H. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 1957; 226 (1): 497-509.
19. Berchfeld G., Storrs E. *Газовая хроматография в биохимии*. Пер. с англ. М.: Мир; 1964.
20. Amenta J.S. A rapid chemical method for quantification of lipids separated by thin-layer chromatography. *J. Lipid Res.* 1964; 5 (2): 270-2.
21. Vaskovsky V.E., Kostetsky E.Y., Vasendin I.M. An universal reagent for phospholipid analysis. *J. Chromatogr.* 1975; 114 (1): 129-41.
22. Kolb V.G., Kamyshnikov V.S. *Справочник по клинической химии*. Минск: Беларусь, 1982.
23. Эндакова Э.А., Новгородцева Т.П., Светашев В.И. *Модификация состава жирных кислот крови при сердечно-сосудистых заболеваниях*. Владивосток: Дальнаука. 2002.
24. Фоменко С.Е., Кушнерова Н.Ф., Спрыгин В.Г., Момот Т.В. Нарушение обменных процессов в печени крыс под действием стресса. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2013; (2): 67-70.
25. Титов В.Н. Внутриклеточный дефицит полиеновых жирных кислот в патогенезе атеросклероза. *Кардиология*. 1998; (1): 43-9.
26. Fraser J.A., Huang C.L. A quantitative analysis of cell volume and resting potential determination and regulation in excitable cells. *J. Physiology*. 2004; 26 (2): 459-78.
27. Жеребкер Е.М. Влияние прерывистой нормобарической гипокситерапии на эндозоологические особенности холестерина гомеостаза у больных ишемической болезнью сердца. *Клиническая геронтология*. 2008; (3): 74-7.
28. Афанасьева Ю.Г., Фахретдинова Е.Р., Спирихин Л.В., Насибуллин Р.С. О механизме взаимодействия некоторых флавоноидов с фосфатидилхолином клеточных мембран. *Химико-фармацевтический журнал*. 2007; 41(7): 12-4.
29. Yang, T.T., Koo M.W. Chinese green tea lowers cholesterol level through an increase in fecal excretion. 2000; 66(5): 411-23.
30. Kropacova K., Misurova E., Hakova H. Protective and therapeutic effect of silymarin on the development of latent liver damage. *Radiat. Biol. Radiocentr.* 1998; 38(3): 411-5.
31. Гаскина Т.К., Курилович С.А., Горчаков В.Н. Изменение скорости лецитинхолестеролацилтрансферазной реакции и липидных показателей сыворотки крови под влиянием катергена в условиях острого экспериментального перерождения печени. *Вопросы медицинской химии*. 1989; 35(4): 24-8.

References

1. Thorsen E., Naave H., Hofso D., Ulvic R.J. Exposure to hyperoxia in diving and hyperbaric medicine-effect on blood cell counts and serum ferritin. *Undersea Hyper. Med.* 2001; 28 (2): 57-64.
2. Alcaraz-Garcia M.J., Albaladejo M.D., Acevedo C. et al. Effects of hyperoxia on biomarkers of oxidative stress in closed-circuit oxygen military divers. *Journal of Physiology and Biochemistry*. 2008; 64(2): 135-41.
3. Myznikov I.L., Polishuk Yu.S. Sostoyanie zdorov'ya, zabolevaemost' i travmatizm u vodolazov, prohodnyashih sluzhbu v Kol'skom zapolyar'e. *Gigiena i sanitariya*. 2014 (4): 61-6.
4. Hairullina R.R. Ocenka sostoyaniya serdechno-sosudistoi sistemy u operatorov podvodnykh tehnikeskikh sistem. *Fiziologiya ekstremal'noi deyatel'nosti*. 2016; 40 (30): 53-7.
5. Buravkova L.B., Popova Yu.A. Vliyanie giperbaricheskoi sredy razlichnogo gazovogo sostava na metabolicheskie pokazateli krovi cheloveka. *Fiziologiya cheloveka*. 2007; 33 (5): 102-8.
6. Ilfan M., Djajalaksana S., Al Rasyid H. Effects of diving toward lung function, levels of malondialdehyde (MDA) and leukotrien-B-4 (LTB4) in serum of Indonesian navy divers. *Research Journal of Pharmaceutical Biological and Chemical Sciences*. 2017; 8 (4): 535-42.
7. Kozakiewicz M., Kedziora-Kornatowska K., Kaczerska D. et al. Influence of exposure in hyperbaric chambers on selected parameters of oxidative stress in professional divers. *Undersea and Hyperbaric Medicine*. 2018; 45 (1): 49-54.
8. Naidina V.P., Pepelyaev Yu.V., Buravkova L.B. Изменение состава высших жирных кислот сыворотки крови и мембран эритроцитов при длительном пребывании человека в условиях гипербарической газовой среды. *Fiziologiya cheloveka*. 2009; 35 (4): 57-63.