

Odpowiedź funkcji autonomicznych i poznawczych na ekspozycję na hiperoksję normobaryczną u zdrowych osób. Badanie wstępne.

Sławomir Kujawski, Joanna Słomko, Karl J. Morten, Modra Murovska, Katarzyna Buszko, Julia Newton i Paweł Zalewski

1. Katedra Higieny, Epidemiologii, Ergonomii i Kształcenia Podyplomowego, Zakład Ergonomii i Fizjologii Wysiłku Fizycznego, Collegium Medicum w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, 85-094 Bydgoszcz, Polska; jslomko@cm.umk.pl (.S.); p.zalewski@cm.umk.pl (P.Z.)
2. Nuffield Department of Women's and Reproductive Health [Katedra Nuffielda Zdrowia Kobiet i Reprodukcyjnego], University of Oxford, Oxford OX3 9DU, Wielka Brytania; karl.morten@wrh.ox.ac.uk
3. Instytut Mikrobiologii i Wirusologii, Riga Stradins University, LV-1067 Ryga, Łotwa; modra.morovska@rsu.lv
4. Katedra Podstaw Teoretycznych Nauk Biomedycznych i Informatyki Medycznej, Collegium Medicum w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, 85-067 Bydgoszcz, Polska; buszko@cm.umk.pl
5. Institute of Cellular Medicine, The Medical School, [Instytut Medycyny Komórkowej, Szkoła Medyczna], Newcastle University, Framlington Place, Newcastle-upon-Tyne NE2 4HH, Wielka Brytania; Julia.newton@newcastle.ac.uk

* Korespondencja: skujawski@cm.umk.pl

Otrzymano: 4 lutego 2020 r.; przyjęto: 8 kwietnia 2020 r., opublikowano: 10 kwietnia 2020 r.

Abstrakt:

Tło i cel: Jest to pierwsze badanie mające na celu zbadanie wpływu tlenoterapii wysokoprzepływową z zastosowaniem komory normobarycznej na funkcje poznawcze, biochemiczne (parametry stresu oksydacyjnego i poziom neurotrofin), funkcjonowanie układu krążenia i autonomicznego układu nerwowego.

Materiał i metody: Zbadano 17 zdrowych ochotników, ośmiu mężczyzn i dziewięć kobiet, w średnim wieku 37,5 roku. Badanie eksperymentalne obejmowało dziesięć dwugodzinnych ekspozycji w komorze normobarycznej o całkowitym ciśnieniu 1500 hPa, w powietrzu dostosowanym do zawartości 37% tlenu, 1,079% dwutlenku węgla i 0,44% wodoru. Funkcje poznawcze oceniano za pomocą części A, B Testu łączenia punktów (Trail Making Test) oraz różnic w wynikach tych testów (TMT A, TMT B i TMT B-A); Kalifornijskiego Testu Uczucia się Językowego (California Verbal Learning Test, CVLT); Testu zastępowania cyfry symbolem (Digit symbol substitution test, DSST) i testu Digit Span (DS.). Zmęczenie w Skali nasilenia zmęczenia (Fatigue Severity Scale, FSS), funkcjonowanie układu krążenia, autonomicznego i baroreceptorów (Task Morce Monitor) oraz parametry biochemiczne mierzono przed i po interwencji. **Wyniki:** Po 10 sesjach w komorze normobarycznej zaobserwowano znaczne spadki masy ciała, spowodowane głównie spadkiem % tkanki tłuszczowej (24,86 vs 23,93%, $p = 0,04$). Wyniki TMT części A i B uległy poprawie (odpowiednio $p = 0,0007$ i $p = 0,001$). Natomiast nie stwierdzono statystycznie istotnego wpływu na TMT B-A. Ponadto poprawił się spadek liczby symboli pozostałych po jednonminutowym teście swobodnego odtwarzania bez odroczenia ($p = 0,002$) i zaobserwowano zmniejszenie zmęczenia ($p = 0,001$). Testy biochemiczne wykazały obniżenie poziomu dialdehydu malonowego ($p < 0,001$) przy podwyższonym poziomie dysmutazy ponadtlenkowej Cu Zn ($p < 0,001$). Testy biochemiczne wykazały obniżenie poziomu dialdehydu malonowego ($p < 0,001$), przy podwyższonym

poziomie dysmutazy ponadtlenkowej Cu Zn ($p < 0,001$), neurotrofyny 4 ($p = 0,001$) oraz neurotroficznego czynnika pochodzenia mózgowego ($p = 0,001$). Odnotowano również istotny wzrost syntazy tlenku azotu 2 ($Z = 2,29$, $p = 0,02$) oraz białka wydzielanego przez komórki maczugowate ($p = 0,015$). Czynność baroreceptorów uległa znacznej poprawie po ekspozycjach normobarycznych ($p = 0,003$). Odnotowano istotny wpływ ekspozycji normobarycznych i BDNF na CVLT - swobodnego odtwarzania po długim odroczeniu (Long Delay Free Recall). *Wnioski:* To badanie pokazuje, że 10 ekspozycji w komorze normobarycznej ma pozytywny wpływ na informacje wzrokowe i szybkość przerzutności uwagi oraz zwiększa krótkotrwałą pamięć słuchowo-werbalną, poziomy neurotroficzne i funkcjonowanie baroreceptorów. Odnotowano również odpowiedź dróg oddechowych na stres oksydacyjny. Istnieje potrzeba rygorystycznego zbadania bezpieczeństwa terapii normobarycznej. Podczas dalszych badań należy uwzględnić badanie lekarskie, zarówno przed, jak i po terapii.

1. Wstęp

Tlen jest niezbędny do życia i bierze udział w wytwarzaniu energii poprzez oddychanie mitochondrialne. Zwiększenie ciśnienia parcjalnego O_2 we wdychanym powietrzu stanowi potencjalnie skuteczną opcję terapeutyczną w chorobach (tj. stanach neurologicznych) i zwiększaniu wydajności w sporcie. Terapia tlenowa jest stosowana od prawie stu lat w leczeniu szeregu schorzeń, w tym w medycynie ratunkowej u pacjentów oddziałów intensywnej terapii (OIOM). Badania koncentrowały się przede wszystkim na hiperoksji hiperbarycznej, chociaż jej powszechne stosowanie było utrudnione ze względu na ograniczony dostęp do komór hiperbarycznych. W badaniach eksperymentalnych hiperoksja normobaryczna stosowana w leczeniu pacjentów z ostrym udarem niedokrwiennym może zapobiegać śmierci tkanek z powodu niedokrwienia, zmniejszać uszkodzenie niedokrwienne mózgu i poprawiać wyniki czynnościowe [1]. Badania wykazują, że hiperoksja normobaryczna poprawia mózgowy przepływ krwi i dotlenienie [2]. Skutki uboczne leczenia są nieliczne, obejmują niewielkie zaburzenia związane z wydzielaniem surfaktantu płucnego u niektórych pacjentów [3].

Ostatnio wykazano, że suplementacja tlenem poprawia wyniki u elitarnych sportowców [4]. Zaproponowano trzy mechanizmy uwzględniające korzyści zastosowania hiperoksji w sporcie: (1) bezpośrednie zastosowanie hiperoksji podczas ćwiczeń zwiększających dotlenienie tkanek; (2) hiperoksja stosowana po ćwiczeniach w celu poprawy funkcji mózgu i umożliwienia szybszej regeneracji; oraz (3) hiperoksja może podwyższać i utrzymywać efekty treningu.

Optymalne stężenie tlenu zapewniające największe korzyści w konkretnym środowisku doświadczalnym nie jest obecnie znane. Badano stężenia wdychanego tlenu w zakresie od 30% do 100%, bez bezpośredniego porównania wpływu różnych stężeń tlenu na odpowiedź fizjologiczną [4]. Generalnie tlenoterapia hiperbaryczna (HBOT) wymaga zastosowania ciśnienia absolutnego o wartości trzech atmosfer (3 ATA). Wdychanie tlenu przy 3 ATA zwiększa ciśnienie parcjalne tlenu we krwi do >200 kPa, zwiększając stężenie tlenu we krwi tętniczej z 6,6 do 6,8 ml ($O_2/100$ ml) [5]. Jednak skutki uboczne hiperbarycznej terapii tlenowej (HBOT) w rzadkich przypadkach obejmują zatrucie tlenowe, obrzęk i zatrucie płuc, a częściej krótkowzroczność hiperoksyczną [6]. Ponadto w komorze wielu pacjentów doświadczają klaustrofobii, a sugeruje się stosowanie zmniejszonej komory w celu ograniczenia skutków ubocznych [6].

Według naszej wiedzy jest to pierwsze badanie oceniające stosowanie hiperoksji u zdrowych osób z użyciem 37% tlenu w warunkach normobarycznych (1500 hPa) w środowisku, w którym jest mniejsze prawdopodobieństwo wystąpienia klaustrofobii. Celem pracy było zbadanie skuteczności programu składającego się z 10 sesji tlenoterapii wysokoprzepływowej w komorze normobarycznej na funkcje poznawcze, biochemiczne

(parametry stresu oksydacyjnego i poziom neurotrofin), funkcjonowanie układu krążenia i autonomicznego.

2. Materiał i metody

2.1 Miejsce

Badanie trwało od września 2018 r. do grudnia 2018 r. i zostało zatwierdzone przez Komisję Etyczną Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu (KB 700/2018); uzyskano pisemną świadomą zgodę od wszystkich uczestników.

2.2 Grupa badawcza

Początkowo do badania włączono dwudziestu trzech uczestników. Trzech odmówiło udziału, a trzy kolejne osoby zostały wykluczone; dwie z nich doświadczyły nieprzyjemnego/bolesnego zatkania uszu podczas ekspozycji, natomiast u ostatniego z uczestników występowało przewlekłe schorzenie, które wcześniej nie było znane. Do analizy dostępne były wyniki siedemnastu zdrowych ochotników, 8 mężczyzn i 9 kobiet, w średnim wieku 37,5 roku.

Wszystkich potencjalnych uczestników badania zapytano o ich stan zdrowia, jakość snu i nawyki życiowe.

Wszyscy uczestnicy mieli wysoki poziom wykształcenia, pomyślnie przeszli ostatnie badanie lekarskie i nie cierpieli na żadne znane przewlekłe schorzenia. Niektóre pacjentki przyjmowały pigułki antykoncepcyjne. Wstępny test wysiłkowy krążeniowo-oddechowy (CPET) i spirometria nie wykazały żadnych nieprawidłowości.

Wszystkim uczestnikom w okresie poprzedzającym badanie (3 dni przed) i w trakcie terapii normobarycznej zalecono niezmienną dietę i poziom aktywności fizycznej. Zalecono również, aby utrzymywali podobny rozkład godzin snu i aktywności, unikając ekstremalnych wysiłków fizycznych i sytuacji obciążających emocjonalnie.

Główne kryteria wykluczenia dla uczestników badania obejmowały: pracę zmianową, uprawianie sportu na poziomie wyczynowym, spożywanie alkoholu w ciągu 12 godzin przed badaniem, przyjmowanie jakichkolwiek leków i suplementów diety w trakcie badania oraz potencjalne zaburzenia układu sercowo-naczyniowego lub oddechowego zaobserwowane podczas wstępnych badań.

2.3 Interwencja – dziesięć ekspozycji normobarycznych

Badanie eksperymentalne przeprowadzono w komorze normobarycznej (typ V120K1, Ekonstal, Polska; rys. 1) składającej się z dwóch przedziałów, przedsionka i komory właściwej, połączonych drzwiami. Ekonstal jest jedynym w Polsce producentem w pełni wyposażonej komory normobarycznej z certyfikatem CE. W komorze normobarycznej utrzymywano ciśnienie 1500 hPa, przy poziomach 37% tlenu, 1,079% dwutlenku węgla i 0,44% wodoru ustalonych w powietrzu. Uczestników poddano łącznie 10 dwugodzinnym ekspozycjom w komorze normobarycznej w ciągu 10 dni (od poniedziałku do piątku, zaplanowanych o tej samej porze każdego dnia, jedna sesja dziennie).

2.4 Analiza składu ciała

Do przeprowadzenia analizy składu ciała zastosowano wieloczęstotliwościowy analizator impedancji bioelektrycznej (Tanita MC-180MA Body Composition Analyzer, Tanita UK Ltd., Middlesex, Wielka Brytania). Skórę pacjentów oczyszczono środkiem dezynfekującym i

zabezpieczono sterylnym opatrunkiem w części każdej kończyny stykającej się z każdą z 4 elektrod. Uczestnicy zostali poinstruowani, aby trzymali elektrody na wysokości bioder, z ramionami wyprostowanymi po bokach i lekko odsuniętymi od tułowia. Wszystkie pomiary przeprowadzono o tej samej porze dnia, w stałych warunkach.

2.5 Pomiary funkcji poznawczych i zmęczenia

Kalifornijski Test Uczenia Się Językowego (California Verbal Learning Test, CVLT) mierzy epizodyczne uczenie się werbalne i pamięć [7]. Egzaminator odczytuje na głos listę A, składającą się z 16 rzeczowników w ustalonej kolejności, z jednosekundową przerwą między każdym słowem. Tę samą listę odczytywano pięć razy. Po każdym przeczytaniu listy uczestnik proszony jest o przypomnienie sobie tylu słów, ile jest w stanie zapamiętać. Po pięciu powtórzeniach listy A uczestnicy są poddani ekspozycji na listę zakłóceń (lista B) i proszeni są o jej odtworzenie. Następnie przeprowadzono pozostałe testy poznawcze, co zajęło 20 minut. Po 20 minutach uczestnicy zostali poproszeni o ponowne odtworzenie listy A. Wyniki swobodnego i wspomaganego odtwarzania z listy A zbadano natychmiast (swobodne odtwarzanie po krótkim odroczeniu) po czym ponownie zanalizowano je po 20 minutach (swobodne odtwarzanie po długim odroczeniu).

Test łączenia punktów (Trail Making Test, TMT) dostarcza informacji na temat wyszukiwania wizualnego, skanowania, szybkości przetwarzania, elastyczności umysłowej i funkcji wykonawczych. TMT składa się z dwóch części. Część A Testu łączenia punktów (TMT A) to test szybkości przetwarzania wizualnego, który wymaga od osoby kolejnego rysowania linii łączących 25 otoczonych kółkiem cyfr rozmieszczonych na kartce papieru. Część B Testu łączenia punktów (TMT B) jest podobna, z tą różnicą, że osoba musi stosować naprzemiennie cyfry i litery (np. 1, A, 2, B, 3, C itd.). Ogólnie rzecz biorąc, wynik TMT B jest wskaźnikiem szybkości przetwarzania wizualnego i wydajności funkcji wykonawczej/przerzutności uwagi. Punktacja każdej części odnosi się do czasu potrzebnego na wykonanie zadania [8]. Różnica między wynikami w części B i A jest wskaźnikiem wydajności funkcji wykonawczej/przerzutności uwagi i jest oznaczona jako TMT B-A.

Test zastępowania cyfry symbolem (DSST) polega na transkrypcji kodu cyfra-symbol za pomocą klucza przez określony czas. Ilość poprawnego odkodowania wskazuje na szybkość przetwarzania [9]. Wynik testu jest podawany jako liczba symboli, które pozostały nieodkodowane po 60-sekundowym teście.

Test Digit Span (DST) polega na wysłuchaniu sekwencji liczb i ich powtórzeniu. W teście Digit Span Forward (DSF) uczestnicy proszeni są o powtórzenie sekwencji w kolejności rosnącej, natomiast w Digit Span Backwards (DSB) powtarzają ją w odwrotnej kolejności. Jeśli dwie sekwencje o tej samej długości zostaną poprawnie powtórzone, egzaminator przechodzi do kolejnego, dłuższego zestawu cyfr. Całościowe wyniki DSF i DSB oraz suma tych dwóch wyników są poddane analizie statystycznej [9]. DSB wymaga przechowywania danych przez krótki czas, podczas rotacji ciągu cyfr. DSB wymaga sprawnego funkcjonowania pamięci roboczej, a wynik DSF jest ściśle związany z efektywnością uwagi słuchowej [9].

Objawy zmęczenia mierzono za pomocą skali nasilenia zmęczenia [10].

2.6 Pomiary układu sercowo-naczyniowego

Parametry hemodynamiczne (częstość akcji serca (HR), skurczowe ciśnienie krwi (sBP), rozkurczowe ciśnienie krwi (dBP), średnie ciśnienie krwi (mBP), objętość wyrzutowa (SI), wskaźnik sercowy (CI) i wskaźnik całkowitego obwodowego oporu naczyniowego (TPRI) oraz autonomicznego układu nerwowego (składowa niskiej częstotliwości (LF), składowa wysokiej częstotliwości (HF), stosunek LF/HF i całkowite średnie nachylenie) były

automatycznie mierzone w spoczynku i podczas testu aktywnego stania (AS), za pomocą Task Force Monitor®, TFM (CNS Systems, Gratz, Austria). Task Force Monitor® jest przeznaczony do nieinwazyjnych pomiarów parametrów hemodynamicznych i składa się z elektrokardiografii (EKG), kardiografii impedancyjnej (ICG) oraz oscylometrycznego (oscBP) i ciągłego (contBP) pomiaru ciśnienia krwi [11].

Całkowitą średnią nachylenia, powiązaną z czynnością serca, obliczono za pomocą oprogramowania Task Force Monitor, przy użyciu metody sekwencyjnej, która polega na wyborze sekwencji czterech lub więcej kolejnych cykli pracy serca współwystępujących bądź z postępującym wzrostem skurczowego ciśnienia krwi i odstępu RR, bądź z postępującym spadkiem skurczowego ciśnienia krwi i odstępu RR. Obliczono całkowite średnie nachylenie linii regresji między skurczowym ciśnieniem krwi a zmianami odstępu R-R (zarówno wzrostem, jak i spadkiem) i posłużyło ono jako wskaźnik wrażliwości na modulację baroreceptorów tętnicznych częstotliwości rytmu serca [12, 13].

2.7 Parametry biochemiczne

Krew pobraną z żyły odłokciowej wykorzystano do biochemicznych analiz ELISA (HBSS, Immuniq, Żory, Polska): syntaza tlenu azotu 2 (NOS-2), syntaza tlenu azotu 3 (NOS-3), dialdehyd malonowy (MDA), neurotrofina-4 (NT 4), neurotrofina-3 (NT 3), neurotroficzny czynnik pochodzenia mózgowego (BDNF), dysmutaza ponadtlenkowa zawierająca miedź i cynk - CuZn-SOD (SOD-1) i białko wydzielane przez komórki maczugowate (CC16).

Pomiary powyższych parametrów wykonano w 2 punktach w trakcie badania, na początku badania, przed 10 ekspozycjami oraz po 10 ekspozycjach w komorze normobarycznej (po sesjach).

2.8 Test wysiłkowy układu sercowo-naczyniowego i spirometria

Test wysiłkowy sercowo-płucny (CPET) wykonano w obecności lekarza, przy użyciu protokołu Bruce'a (Cardiovit CS-200 Ergo-Spiro, Schiller AG, Baar, Szwajcaria) [14]. Przed każdym testem podawano krótką instrukcję chodzenia na bieżni. Przeszkolony technik poinformował każdego uczestnika, że test zakończy się po osiągnięciu progu beztlenowego. Każdy test przeprowadzono w tym samym klimatyzowanym pomieszczeniu, w stałej temperaturze 20-22°C i wilgotności względnej 50-60%. Próg beztlenowy (AT) obliczono przy założeniu, że współczynnik wymiany oddechowej (RER) = 1.

Spirometrię przy użyciu tego samego sprzętu wykonano przed każdym CPET.

2.9 Analiza statystyczna

Do oceny normalności danych zastosowano test Shapiro-Wilka. Zmienne, w których wartości nie wykazywały rozkładu normalnego, analizowano za pomocą testu rangowanych znaków Wilcozona, aby porównać dane przed i po interwencji; w przeciwnym razie zastosowano test t. Podano wartość średnią i odchylenie standardowe (SD), a poziom istotności ustalono na 0,05. Do analizy danych wykorzystano pakiet statystyczny STATISTICA 13.1 (StatSoft, Inc.). Do zbadania wpływu interwencji (efekt czasowy oznaczony jako przed (przed interwencją) i po (po interwencji)) na funkcje poznawcze i parametry biochemiczne zastosowano modele mieszane z efektami losowymi, oparte na dwuczynnikowej analizie wariancji ANOVA. W celu określenia zależności parametrów w czasie zastosowano modele mieszane z efektami losowymi (oparte na metodzie największej wiarygodności zastosowanej do estymacji parametrów wariancji). Analizy przeprowadzono w wersji R 3.5.0 (R: biblioteka lme) i Matlab 2017b [15]. Utworzono wykresy skrzypcowe za pomocą biblioteki ggstatsplot, aby pokazać dynamikę zmian wartości pojedynczych pacjentów w odpowiedzi na terapię normobaryczną [16].

3. Wyniki

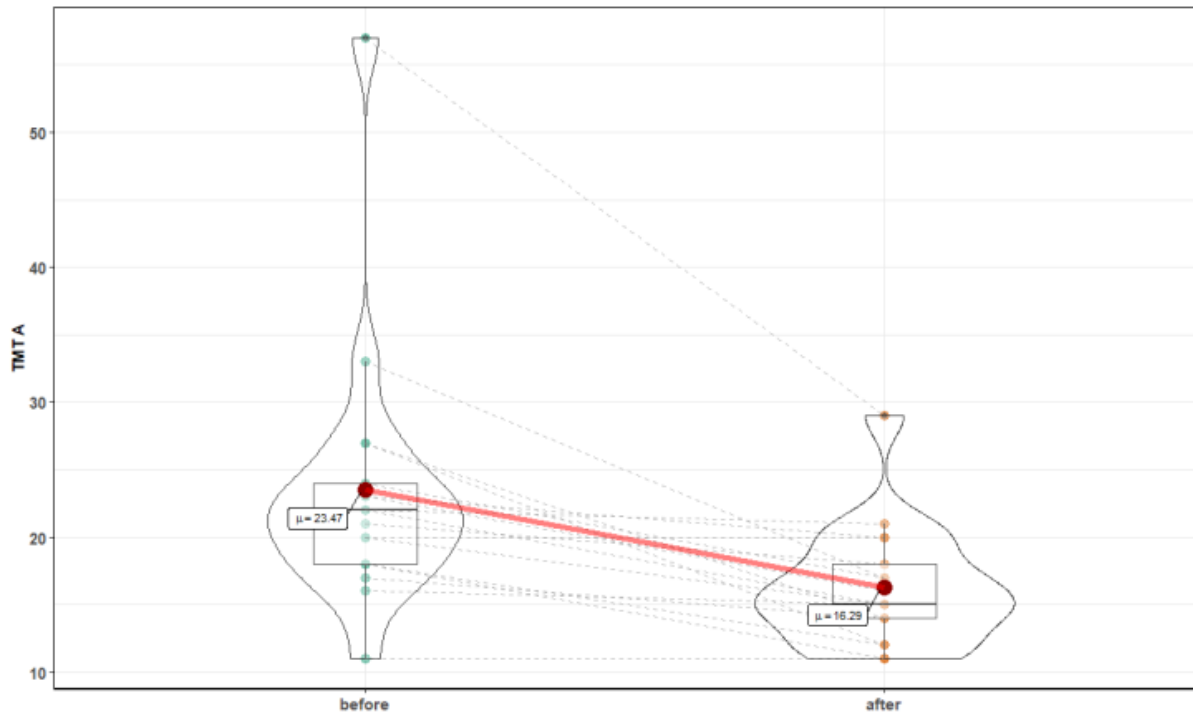
W tabeli 1 przedstawiono średnie wartości parametrów antropometrycznych i składu ciała. Po 10 sesjach w komorze normobarycznej zaobserwowano znaczny spadek masy ciała i procentowej zawartości tkanki tłuszczowej.

Tabela 1: Wartości parametrów antropometrycznych i składu ciała przed i po 10 ekspozycjach w komorze normobarycznej. BMR = podstawowe tempo przemiany materii, FatP = procent tkanki tłuszczowej, FFM = masa beztłuszczowa, VFatL = poziom trzewnej tkanki tłuszczowej.

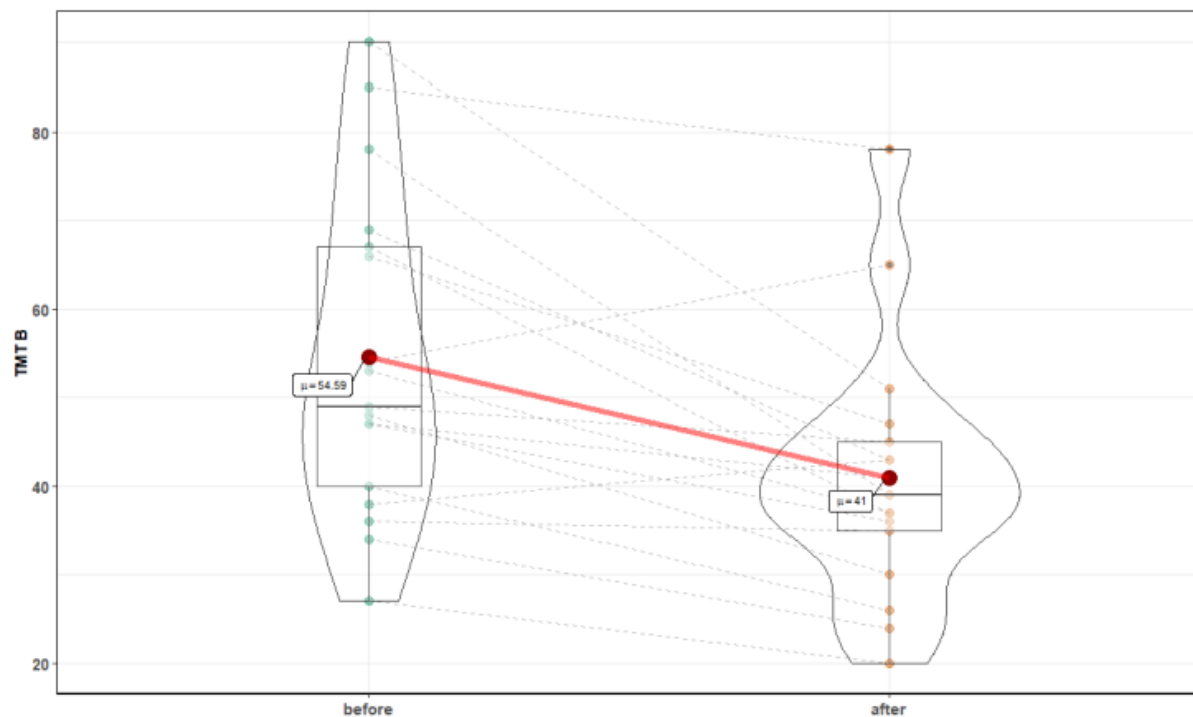
Parametr	Przed Średnia ± SD	Po Średnia ± SD	Wartość p
Waga (kg)	81.44±23.5	81.01±23.3	0.03
BMR (kcal)	7498.97±1944.2	7543.56±1970.4	0.35
FatP (%)	24.86±7.8	23.93±7.7	0.04
FFM (kg)	60.32±15.5	60.77±15.6	0.31
VFatL	6.88±5.3	6.65±4.9	0.18
Masa kości (kg)	3.00±0.7	3.04±0.7	0.08

Obie części oceny TMT wykazały znaczną poprawę po ekspozycjach normobarycznych. Rysunki 2 i 3 przedstawiają zmiany po 10 sesjach w komorze normobarycznej odpowiednio w części A ($23,5 \pm 10$ s przed vs. $16,3 \pm 4,5$ po, $Z = 3,41$, $p = 0,0007$) oraz w części B ($54,59 \pm 18,4$ s przed vs. $41 \pm 14,3$ po, $T = 4$, $p = 0,001$). Nie stwierdzono statystycznie istotnych zmian w TMT B-A, co sugeruje brak poprawy funkcji wykonawczych.

Ekspozycje normobaryczne poprawiły wyniki w teście oceny DSST. Wystąpił istotny spadek średniej liczby symboli pozostałych po 60-sekundowym teście, przy średniej $53,9 \pm 8,7$ symboli pozostawionych przed ekspozycjami normobarycznymi, w porównaniu z $48,1 \pm 7,2$ po terapii, $T = 5$, $p = 0,0001$. Zmiany w DDST $12,53 \pm 12,8$ symboli pozostawionych po 120 sekundach przed vs. ($6,88 \pm 9,6$ po interwencji, były nieistotne ($p = 0,22$)). W części testu CVLT swobodnego odtwarzania po długim odroczeniu nastąpiła znaczna poprawa średniej liczby słów poprawnie przywołanych po ekspozycjach normobarycznych, przy $13,18 \pm 2,8$ słów przywołanych wcześniej, w porównaniu z $14,88 \pm 1,7$ po, $Z = 3,06$, $p = 0,002$) (Rysunek 4). Zmiany w części testu CVLT swobodnego odtwarzania po krótkim odroczeniu były nieistotne, z dodatkowymi 1,5 słowami odtworzonymi po ekspozycjach normobarycznych, $Z = 1,95$, $p = 0,054$. Zmęczenie uległo znacznemu zmniejszeniu po 10 ekspozycjach normobarycznych, przechodząc od 21,8 punktów przed, do 14,2 po terapii, $Z = 3,29$, $p = 0,001$).



Rysunek 2. Wpływ terapii normobarycznej na część A Testu łączenia punktów. Czerwone kropki połączone czerwoną linią oznaczają wartość średnią; pozioma czarna linia wewnątrz ramki oznacza medianę. Zielone kropki przed i pomarańczowe kropki po, połączone liniami przerywanymi, oznaczają wyniki poszczególnych pacjentów.



Rysunek 3. Wpływ terapii normobarycznej na część B Testu łączenia punktów.

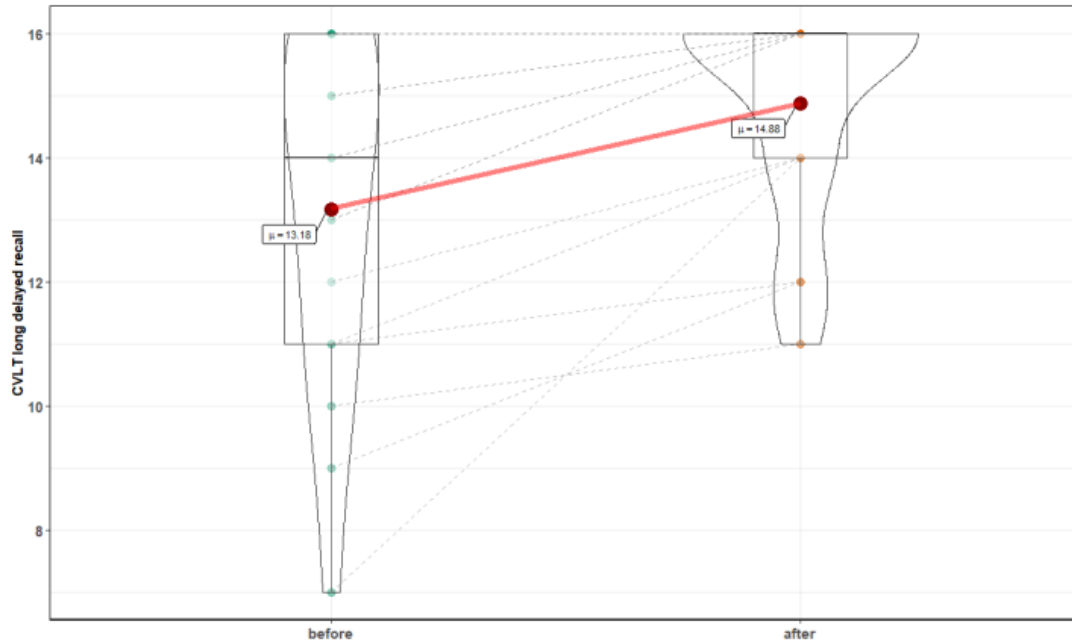


Figure 4. Effects of normobaric therapy on CVLT long delayed recall.

Rysunek 4. Wpływ terapii normobarycznej na część testu CVLT odtwarzania po długim odroczeniu.

Ponadto odnotowano istotne zmniejszenie FSS ($21,82 \pm 10$ przed vs. $14,24 \pm 6,8$ po, $Z=3,29$, $p=0,001$) (Rys. 5).

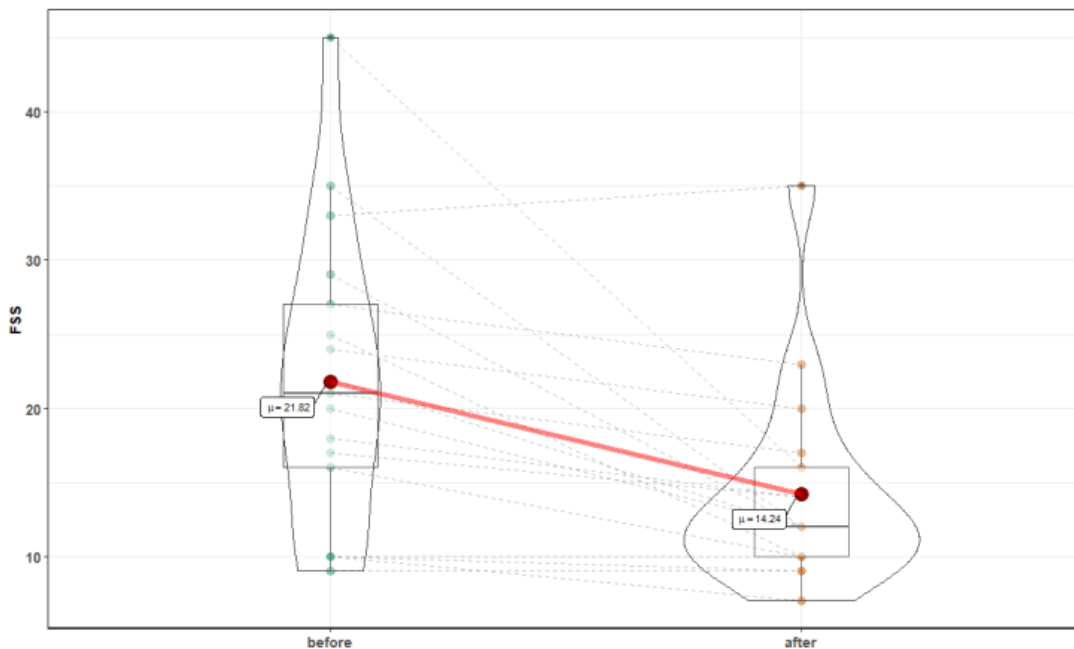
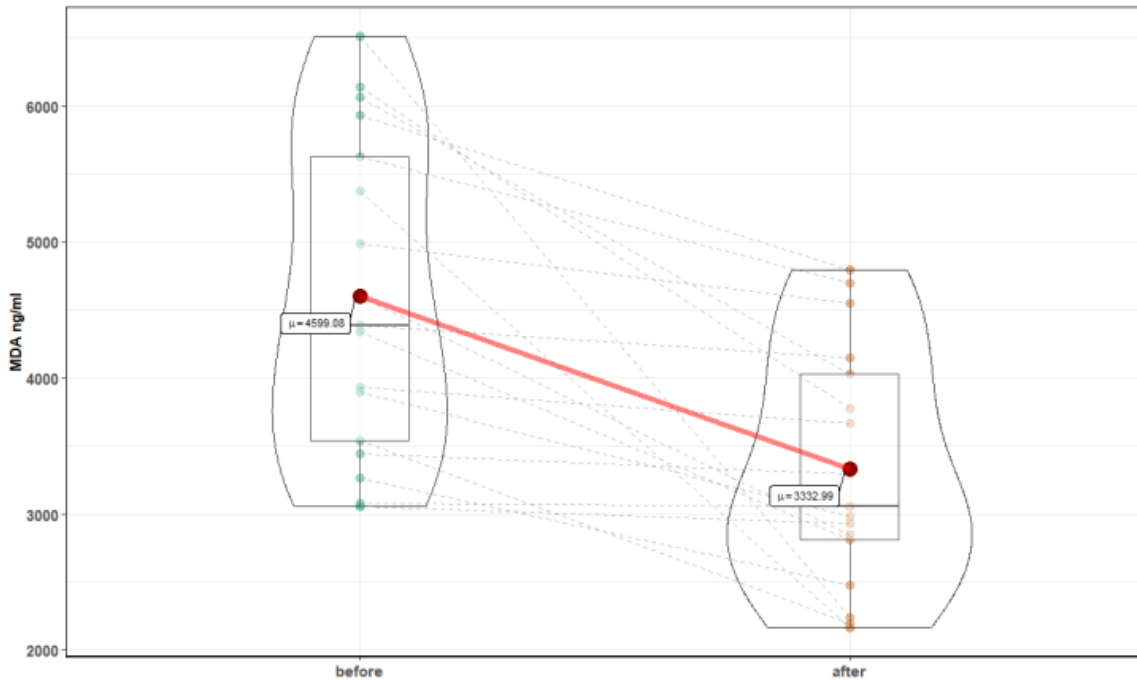


Figure 5. Fatigue Severity Scale before and after 10 normobaric exposures.

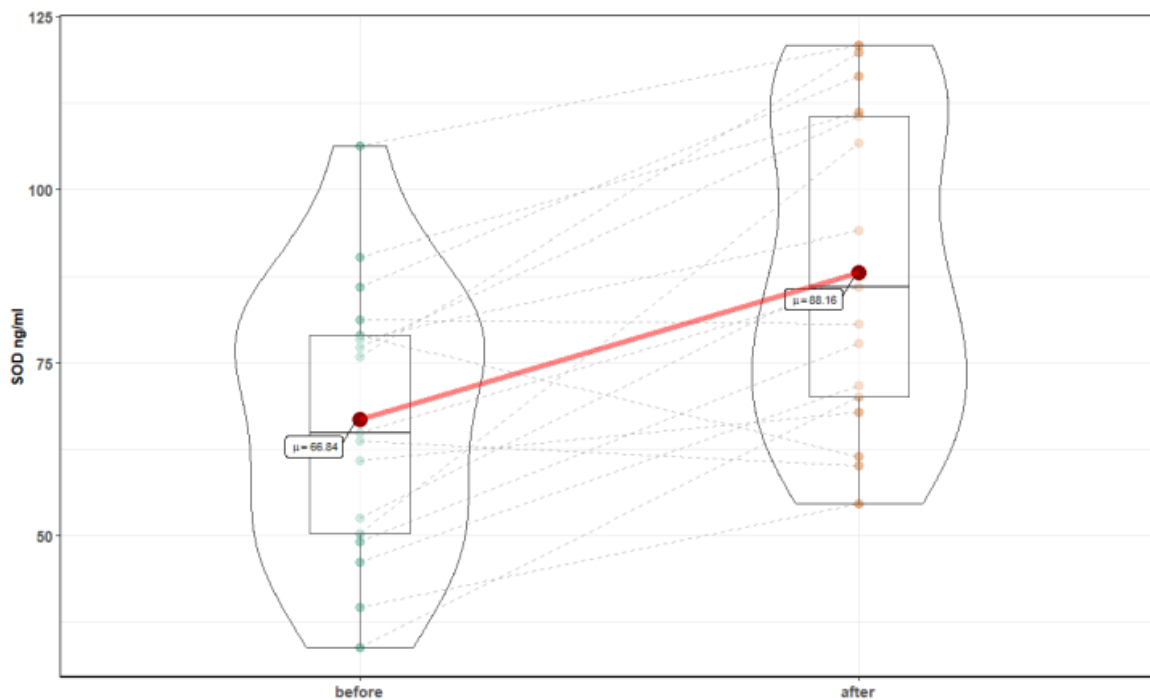
Rysunek 5. Skala nasilenia zmęczenia przed i po 10 ekspozycjach normobarycznych.

Po 10 sesjach w komorze normobarycznej odnotowano istotne zmiany w markerach stresu oksydacyjnego: obniżenie poziomu MDA $4599,1 \pm 1166,4$ ng/ml przed, w porównaniu do $3332,99 \pm 880,4$ po ($T = 4,43$, $p < 0,001$) oraz wzrost poziomu Cu Zn SOD $66,84 \pm 19,8$

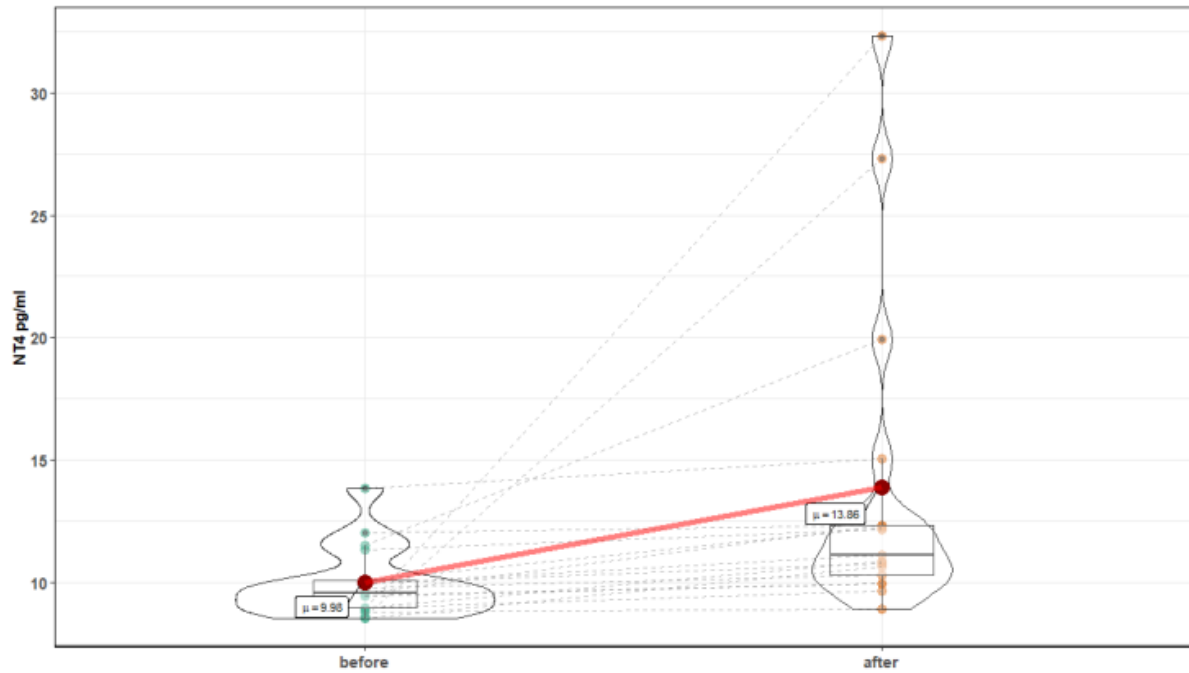
ng/ml przed w porównaniu do $88,16 \pm 22,4$ po ($T = 4,78$, $p < 0,001$) (Rys. 6 i 7). Ponadto odnotowano istotny wzrost poziomu neurotrofin: zaobserwowano NT 4 i BDNF. NT4 wykazała wzrost od $9,98 \pm 1,4$ pg/ml przed, w porównaniu do $13,86 \pm 6,6$ po ($Z = 3,82$, $p = 0,0001$), a BDNF $721,52 \pm 574,8$ pg/ml przed w porównaniu do $1493,37 \pm 943,1$ po ($Z = 3,26$, $p = 0,001$) (Rys. 8 i 9). Zmiany NT 3 i NOS-3 nie były istotne statystycznie. Stwierdzono statystycznie istotny wzrost poziomu NOS-2, $214,52 \pm 48$ pg/ml przed, w porównaniu z $272,6 \pm 131,2$ po ($Z = 2,29$, $p = 0,02$). Poziom CC16 znacząco wzrósł z $5,25 \pm 2,2$ ng/ml przed w porównaniu do $6,89 \pm 2,2$ po ($T = 2,71$, $p = 0,015$).



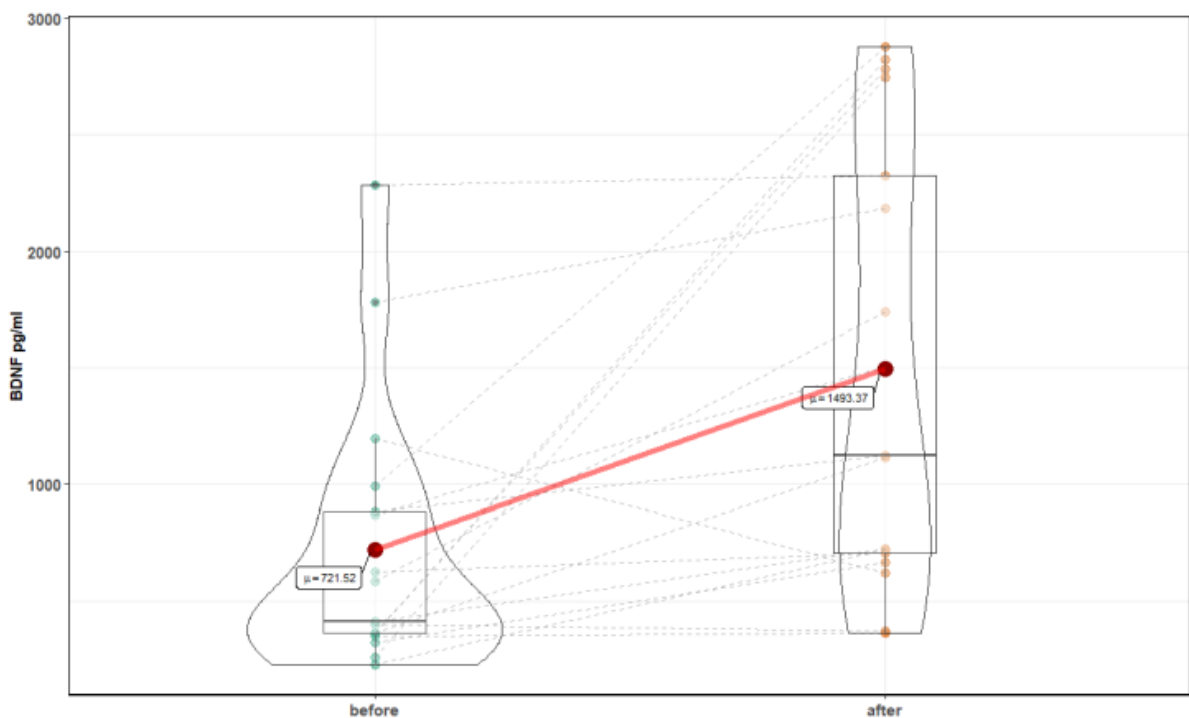
Rysunek 6. MDA przed i po 10 ekspozycjach normobarycznych.



Rysunek 7. SOD przed i po 10 ekspozycjach w komorze normobarycznej.



Rysunek 8. NT 4 przed i po 10 ekspozycjach w komorze normobarycznej.



Rysunek 9. Wpływ terapii normobarycznej na BDNF.

Wyniki pomiarów epizodycznego uczenia się werbalnego i pamięci przy użyciu części testu CVLT - swobodnego odtwarzania po krótkim odroczeniu przedstawiono w Tabeli 2. W liniowym modelu mieszanym z efektami losowymi dopasowanego według największego prawdopodobieństwa ekspozycje normobaryczne nie miały wpływu na część testu CVLT swobodnego odtwarzania po krótkim odroczeniu ($p = 0,34$), natomiast BDNF istotnie wpływał na ten wynik testu ($p = 0,0062$).

W Tabeli 3 przedstawiono wyniki liniowego modelu mieszanego z efektami losowymi dla części testu CVLT – swobodnego odtwarzania po długim odroczeniu jako zmiennej zależnej. Wyniki wskazują, że wystąpił istotny wpływ ekspozycji normobarycznych ($p = 0,017$) i BDNF ($p = 0,021$).

Tabela 2. Wyniki liniowego modelu mieszanego z efektami losowymi dla CVLT swobodnego odtwarzania po krótkim odroczeniu. Czas (ekspozycje normobaryczne) i BDNF są zmiennymi niezależnymi. SE = błąd standardowy.

	Wartość	SE	Wartość p
Przechwycenie	11.81	0.64	<0.01
Przed: po	0.61	0.63	0.34
BDNF	0.0015	0.0005	0.006

Tabela 3. Wyniki liniowego modelu mieszanego z efektami dopasowanego według maksymalnego prawdopodobieństwa dla części CVLT swobodnego odtwarzania po długim odroczeniu. Czas i BDNF są zmiennymi niezależnymi. SE = błąd standardowy.

	Wartość	SE	Wartość p
Przechwycenie	12.45	0.56	<0.0001
Przed: po	1.22	0.46	0.017
BDNF	0.0009	0.0004	0.021

Przeprowadziliśmy również liniowy model mieszany dla ulepszonych testów funkcji poznawczych, aby ocenić wpływ ekspozycji normobarycznych, MDA, LF/HF lub BDNF jako zmiennych niezależnych. Tutaj ekspozycje normobaryczne istotnie wpłynęły na test poznawczy ($p < 0,05$), podczas gdy inne wymienione powyżej zmienne nie wykazały istotnego wpływu.

Nie było statystycznych różnic w parametrach hemodynamicznych. Całkowite średnie nachylenie (czynność baroreceptorów) po ekspozycjach normobarycznych było znacząco wyższe, $17,91 \pm 9,1$ przed, w porównaniu do $22,13 \pm 9,2$ po terapii ($T = 3,47$, $p = 0,003$) (Tabela 4). Nie odnotowano istotnych zmian w odpowiedzi na test aktywnego stania (Tabela 5).

Tabela 4. Średnie wartości parametrów sercowo-naczyniowych i autonomicznego układu nerwowego (w spoczynku) przed i po 10 ekspozycjach w komorze normobarycznej: HR = częstość akcji serca, sBP = skurczowe ciśnienie krwi, dBP = rozkurczowe ciśnienie krwi, mBP = średnie ciśnienie krwi, SI = objętość wyrzutowa, CI = wskaźnik sercowy, TPRI = wskaźnik całkowitego obwodowego oporu naczyniowego, HF = widmo w zakresie wysokich częstotliwości, LF - widmo w zakresie niskich częstotliwości.

Parametr	Przed Średnia ± SD	Po Średnia ± SD	Wartość p
HR (1/min)	69.77 ± 11.2	68.46 ± 10	>0.05
sBP (mmHg)	114.26 ± 16.4	113.38 ± 14.4	>0.05
dBP (mmHg)	74.25 ± 9.0	74.61 ± 8.5	>0.05
mBP (mmHg)	90.58 ± 10.8	90.50 ± 9.3	>0.05
SI (ml/m ²)	51.71 ± 12	50.39 ± 13.3	>0.05
CI (l/min/m ²)	3.51 ± 0.6	3.36 ± 0.7	>0.05
TPRI (dyn*s*m ² /cm ⁵)	2110.44 ± 664.4	2200 ± 582.1	>0.05
LF-RRI (ms ²)	506.62 ± 475.1	708.18 ± 734.3	>0.05
HF-RRI (ms ²)	410.35 ± 339.1	581.4 ± 580.6	>0.05
LF/HF	1.64 ± 1.2	1.76 ± 1.3	>0.05
LF-dBP (mmHg ²)	5.54 ± 5.1	6.29 ± 5.8	>0.05
HF-dBP (mmHg ²)	0.94 ± 0.9	1.41 ± 1.1	>0.05
LF-sBP (mmHg ²)	8.25 ± 7.7	6.45 ± 4.7	>0.05
HF-sBP (mmHg ²)	2.91 ± 3.6	2.49 ± 1.6	>0.05
Całkowite średnie nachylenie (ms/mmHg)	17.91 ± 9.1	22.13 ± 9.2	0.003

Tabela 5. Wielkość zmian (delta) wywołanych testem aktywnego stania na parametrach hemodynamicznych przed i po 10 ekspozycjach w komorze normobarycznej.

Parametr	Przed Średnia ± SD	Po Średnia ± SD	Wartość p
Δ HR (1/min)	-14.50 ± 5.7	-13.64 ± 5.3	>0.05
Δ sBP (mmHg)	-17.63 ± 8.9	-16.51 ± 7.5	>0.05
Δ dBP (mmHg)	-19.95 ± 5.7	-18.96 ± 7.9	>0.05
Δ mBP (mmHg)	-18.82 ± 6.7	-17.46 ± 7.6	>0.05

Nie odnotowano istotnych zmian w wynikach CPET i spirometrii ($p > 0,05$).

4. Dyskusja

Głównym odkryciem tego badania jest to, że 10 ekspozycji w komorze normobarycznej o całkowitym ciśnieniu 1500 hPa, w połączeniu ze zwiększonym poziomem tlenu (37%), dwutlenku węgla (1,079%) i wodoru (0,44%) w powietrzu, wywiera pozytywny wpływ na szybkość przetwarzania informacji wzrokowych i przerzutności uwagi, krótkotrwałą pamięć słuchowo-werbalną, zwiększa ekspresję neurotrofin i usprawnia funkcjonowanie baroreceptorów. Można uznać, że obniżenie poziomu MDA i wzrost poziomu SOD ma pozytywny wpływ na zdolność jednostki do radzenia sobie ze stresem oksydacyjnym. Jednak wzrost poziomu CC16 można uznać za wskaźnik zwiększonego stresu oksydacyjnego i stanu zapalnego w układzie oddechowym. W pewnych okolicznościach podwyższone poziomy SOC2 wskazują na stres oksydacyjny, chociaż poziomy mogą być związane z sygnalizacją [17]. Nie odnotowano istotnych zmian w wynikach testu wysiłkowego sercowo-płucnego i spirometrii.

Neurotrofiny (NT 4 i BDNF) odgrywają kluczową rolę w neuroplastyczności, neurogenezie i neuroprotekcji w ośrodkowym układzie nerwowym [18]. Zarówno NT 4, jak i BDNF wykazały wzrost poziomu w osoczu po ekspozycjach normobarycznych, co może łączyć się z lepszymi wynikami testu CVLT, który wykazał znaczną poprawę swobodnego odtwarzania zarówno w przypadku krótkiego, jak i długiego odroczenia. Jednak w przypadku CVLT nie zastosowano wersji alternatywnej, ponieważ nie było dostępnej wersji alternatywnej w języku polskim; w związku z tym mógł wystąpić efekt niewielkiej praktyki, wyjaśniający obserwowane wyniki [19].

Zgodnie z naszymi wynikami, poziomy BDNF w surowicy korelowały również z dobrymi wynikami w skróconej formie Bostońskiego testu nazywania (Boston Naming Test) u zdrowych osób starszych [20]. Program ćwiczeń aerobowych również skutkowało podwyższonym poziomem BDNF w osoczu [21]. Szczególnie cenne byłyby dalsze badania mające na celu zrozumienie, w jaki sposób zmiany biologiczne spowodowane terapią normobaryczną wiążą się z poprawą funkcji poznawczych. Znaczącą poprawę odnotowano w obu testach szybkości przetwarzania wizualnego (TMT A i DSST). Na wyniki w DSST może mieć wpływ uczenie asocjacyjne, potencjalnie wyjaśniając obserwowane podobieństwa we wzorcu poprawy funkcji poznawczych [22]. W przeciwieństwie do tego, nie odnotowano znaczących zmian w teście Digit Span. Jednak we wcześniejszych badaniach odnotowano wysokie poziomy korelacji ($r = 0,55$) między wynikiem DSB a płynną inteligencją [23]. Nie można zakładać, że sesje normobaryczne wpłyną na wszystkie aspekty funkcjonowania poznawczego. Wydaje się, że na inteligencję płynną nie mają wpływu ekspozycje normobaryczne.

Ekspozycja normobaryczna miała wpływ na funkcję baroreceptora, przy czym zaobserwowano również zmiany w regulacji równowagi współczulnej i przywspółczulnej oraz regulacji ciśnienia krwi w odpowiedzi na test aktywnego stania, co sugeruje poprawę kontroli reakcji ortostatycznych z potencjalnymi korzyściami zdrowotnymi dla serca. Dlatego terapię normobaryczną można uznać za terapię wspomagającą w przypadku nietolerancji ortostatycznej. Dalsze badania kliniczne obejmowałyby badanie zmian w analizie złożoności sygnałów pod wpływem terapii normobarycznej [24, 25].

Ekspozycje w komorze normobarycznej powodowały również modulację stresu oksydacyjnego, o czym świadczą istotne zmiany parametrów biochemicznych: MDA i SOD. Wyniki mogą sugerować poprawę lokalnego przepływu tkankowego i zmniejszenie intensywności stresu oksydacyjnego związanego z obniżonym poziomem wolnych rodników. Jednak po terapii normobarycznej odnotowano również podwyższony poziom CC16, będącego wskaźnikiem stresu oksydacyjnego i stanu zapalnego układu oddechowego [26].

Wykazano wcześniej, że hiperoksja pogarsza czynność tętnic z powodu podwyższonego poziomu wolnych rodników i indukcji przemijającej dysfunkcji śródbłonna [27]. Co ważne, wzrost SOD obserwowany w powyższym badaniu może być odpowiedzią na zwiększony stres oksydacyjny związany z ROS indukowanymi tlenem. Poziom CC16 był obniżony u pacjentów z uszkodzeniem płuc w porównaniu ze zdrowymi uczestnikami [28]. Kurowski i in. wykazali, że program ćwiczeń fizycznych o wysokiej intensywności wiąże się ze spadkiem poziomu CC16b w surowicy, co z kolei zwiększa podatność dróg oddechowych na infekcje i związane z nimi upośledzenie czynności płuc [29]. W przypadku sarkoidozy zaproponowano, aby CC16 było markerem integralności bariery krew-powietrze [30]. Inne badania dotyczące związku hiperoksji normobarycznej ze stresem oksydacyjnym są kontrowersyjne, gdyż wybór modelu eksperymentalnego, stan chorobowy i czas trwania hiperoksji mają wpływ na wyniki. W badaniach komórek i tkanek mózgu, płuc i nerek, zwiększony stres oksydacyjny jest silnie związany z hiperoksją normobaryczną [31 - 33]. Inne badania dotyczyły wpływu hiperoksji i stresu oksydacyjnego w ostrym udarze niedokrwiennym, urazowym uszkodzeniu mózgu i stwardnieniu rozsianym. W tym przypadku badania pokazują, że krótkie lub ciągłe ekspozycje na normobaryczną hiperoksję przez siedem dni dostarczyły dowodów na uszkodzenie oksydacyjne. W tych badaniach niektórzy autorzy sugerują, że korzyści płynące z sesji hiperoksji w postaci poprawy funkcjonowania komórek i tkanek mogą przewyższać ryzyko potencjalnie zwiększonej generacji reaktywnych form tlenu [34–36].

Obserwowane w tym badaniu zmiany parametrów baroreceptorów mogą sugerować poprawę mechanizmów regulujących reakcje ortostatyczne i aktywność kardioprotekcyjną nawet w środowisku zwiększonego stresu oksydacyjnego. Ta obserwacja jest zgodna z przywróceniem obniżonej wrażliwości baroreceptorowej po krótkotrwałej ekspozycji na tlen u pacjentów z cukrzycą typu 1 [37]. Nasze inne interesujące odkrycie, że sesje normobaryczne wydają się modulować wagę ciała poprzez redukcję masy tkanki tłuszczowej, jest intrygujące i wymaga kontynuacji w większym badaniu.

Zauważono ostre reakcje na hiperoksy czny oddech po wystąpieniu w stanie euforii u niektórych uczestników oraz poprawę bezwzględnej mocy wyjściowej w kolejnym wyczerpującym teście wysiłkowym [38]. Inni autorzy wykazują, że frakcja oddechowa 31,5% wdychanego tlenu indukowała zmiany odczuwanego wysiłku podczas wysiłku fizycznego, opóźniając spadek utlenowania mózgu podczas maksymalnego wysiłku [39]. Nasze wyniki pokazują, że ekspozycja na hiperoksję z 37% tlenem w warunkach normobarycznych (1500 hPa) nie wpływa na funkcjonowanie układu sercowo-naczyniowego. Obserwacja zmian w równowadze sympatyczno-wagalnej podczas testu aktywnego stania po ekspozycji w komorze normobarycznej potwierdza wcześniejsze badania sugerujące, że 100% tlenu przy 2,5 ATA poprawia funkcjonowanie przywspółczulnego układu nerwowego [40]. W zmianach autonomicznych potencjalnie pośredniczy zmniejszony dopływ chemoreceptorów obwodowych do rdzenia przedłużonego. Ponadto istotne zmiany parametrów baroreceptorów oraz tendencja do zmian syntazy tlenu azotu (NOS-2) po sesjach w komorze normobarycznej mogą świadczyć o poprawie mechanizmów regulujących działanie ortostatyczne i kardioprotekcyjne. W warunkach fizjologicznych tlenek azotu zapewnia stałe napięcie ścian rozszerzające naczynia krwionośne, zapobiegając skurczowi naczyń współczulnych. W warunkach hiperoksji synteza NO może być stymulowana w celu zapewnienia mechanizmu regulacji napięcia naczyniowego. Inni autorzy sugerują, że skurcz naczyń przedramienia obserwuje się podczas hiperoksji hiperbarycznej, ale nie podczas normoksji przy 1 ATA [41]. Zgodnie z naszymi wynikami, w innych badaniach stwierdzono, że oddychanie hiperoksy czne zmniejsza zmęczenie, zwiększa subiektywne postrzeganie poziomu energii i zwiększa czujność [42]. Hiperoksja normobaryczna okazała się skuteczna w modulowaniu mikrokrążenia u osób zdrowych [43]. Niektóre wyniki sugerują, że zmiany czynnościowe w pracy mózgu wynikają ze zmian w mózgowym przepływie krwi wywołanych hiperoksją [44, 45]. W badaniach dotyczących wpływu hiperoksji na sygnał fMRI zaobserwowano naprzemienną aktywność sieci stanu spoczynkowego mózgu [46].

Praktycznym wnioskiem z tego badania jest potrzeba przeprowadzenia badania klinicznego przed terapią normobaryczną, w celu monitorowania pacjentów w trakcie leczenia, z obserwacją po terapii. Ponieważ niektórzy pacjenci zrezygnowali z naszego badania z powodu skutków ubocznych, istnieje potrzeba monitorowania klinicznego przyszłych badań ekspozycji normobarycznych w celu zapewnienia bezpieczeństwa.

Jednym z ograniczeń tego badania jest stosunkowo niewielka liczba uczestników. Większość dostępnych badań nad hiperoksją i jej wpływem na autonomiczny układ nerwowy przeprowadzono na małych grupach i badano jedynie wpływ jednej z dwóch zmiennych (tj. O₂ lub ciśnienie). Przyszłe badania w komorze normobarycznej powinny zbadać szereg zmiennych gazowych (np. zmiany poziomu tlenu, dwutlenku węgla i wodoru) i ich wpływ na różne stany chorobowe. Należy również ocenić stosunek ryzyka do korzyści terapii w komorze normobarycznej. Ponadto w tym badaniu nie uwzględniono grupy kontrolnej poddawanej tej samej interwencji bez hiperoksji; sugerujemy zaślepienie uczestników przyszłych badań, aby wykluczyć jakiegokolwiek efekty placebo. Jednak prawidłowa interwencja pozorowana w grupie kontrolnej oparta na ekspozycji na 1,2 ATA podniosłaby poziom tlenu w osoczu o około 30% w porównaniu z normalnym ciśnieniem [47]. Można postawić hipotezę, że nawet niewielki wzrost ilości ATA może spowodować zmianę funkcji mózgu [48]. Wyniki randomizowanych, kontrolowanych badań klinicznych dostarczyły dowodów na znaczną poprawę funkcji układu nerwowego dzięki powietrzu w pomieszczeniu przy 1,3/1,2 ATA [48, 49]. Co więcej, 1,3 ATA wydaje się być najmniejszą zmianą ciśnienia odczuwaną przez człowieka [50]. Dlatego niższe ATA nie byłoby odpowiednim bodźcem w grupie pozorowanej interwencji, ponieważ pacjenci mogliby być świadomi przynależności do grupy pozorowanej.

Ponieważ pacjentów nie obserwowano po ekspozycji po ekspozycji normobarycznej, nie są dostępne informacje na temat tego, czy korzyści utrzymywały się w długim okresie. Co więcej, brak alternatywnych testów poznawczych po interwencji nie pozwalał nam kontrolować możliwego działania wyuczonego/praktycznego wpływu na wyniki. W związku z tym proponujemy, aby nasze wstępne badanie zostało rozszerzone w celu zwiększenia liczebności grupy i dodania odpowiedniej grupy pozorowanej interwencji z dołączonym badaniem kontrolnym. Ponadto należy przeprowadzić przyszłe badania oceniające wpływ terapii normobarycznej na grupy kliniczne, w których zmęczenie, zaburzenia poznawcze i dysautonomia stanowią istotny problem.

5. Wnioski

Głównym odkryciem niniejszego badania jest to, że 10 ekspozycji w komorze normobarycznej ma pozytywny wpływ na szybkość przetwarzania informacji wizualnych i przerzutność uwagi, funkcjonowanie baroreceptorów i stres oksydacyjny. Zaobserwowano zwiększoną ekspresję neurotrofin i poprawę w niektórych aspektach szybkości przetwarzania wzrokowego, przerzutności uwagi, opóźnione swobodnego odtwarzania z długim odroczeniem słuchowych bodźców werbalnych oraz zmniejszenie zmęczenia. Ponadto zaobserwowano wzrost poziomu neurotrofin (NT 4 i BDNF). Ekspozycje w komorze normobarycznej spowodowały również zmniejszenie stresu oksydacyjnego, o czym świadczą znaczące zmiany parametrów biochemicznych, MDA i SOD. Zaobserwowaliśmy wzrost SOD i spadek poziomu MDA, co może sugerować poprawę miejscowego przepływu tkankowego i zmniejszenie intensywności stresu oksydacyjnego, a tym samym prawdopodobnie obniżenie reakcji wolnych rodników i wzmocnienie obrony antyoksydacyjnej. Co ważne, wzrost SOD obserwowany w powyższym badaniu może być odpowiedzią na zwiększony stres oksydacyjny, potencjalnie wywołany przez indukowane tlenem ROS lub zwiększoną sygnalizację. Poza tym podwyższony poziom CC16 może odzwierciedlać adaptację śródbłonna płucnego do stresu oksydacyjnego. Inne badania rozważające związek między hiperoksją normobaryczną a stresem oksydacyjnym generują

sprzeczne wyniki w konsekwencji niespójności modeli eksperymentalnych, różnic w stanie chorobowym i czasie trwania ekspozycji na hiperoksję.

Ponadto zmiany parametrów baroreceptorów mogą sugerować poprawę mechanizmów regulujących reakcje ortostatyczne i działanie kardioprotekcyjne.

Podsumowując, wydaje się, że ekspozycje w komorze normobarycznej są w stanie poprawić niektóre obszary funkcji poznawczych, czynniki neurotroficzne, stres oksydacyjny i regulację autonomiczną u zdrowych osób. Jednak zdecydowanie zaleca się przeprowadzenie badania lekarskiego przed rozpoczęciem terapii normobarycznej i monitorowanie postępów.

Wkład autorów: Wszyscy autorzy wnieśli wkład w koncepcję badania i ostateczną rewizję rękopisu: kuratorstwo danych, S.K., analiza formalna, K.R. i J.S.; administracja projektu, P.Z. i J.L.N.; nadzór, P.Z. i J.S., pisanie - oryginalny projekt, J.S. i S.K.; pisanie - recenzja i redakcja, K.J.M., M.M. i J.L.N. Wszyscy autorzy przeczytali i zgodzili się na opublikowaną wersję rękopisu.

Finansowanie: Firma Ekonstal Sp. z o.o. pokryła koszty podróży uczestników oraz koszty badań krążeniowo-oddechowych i układu autonomicznego.

Konflikt interesów: Autorzy deklarują brak konfliktu interesów.

Bibliografia

1. Taccone, F.S.; Crippa, I.A.; Vincent, J.L. Normobaric hyperoxia after stroke: A word of caution. *Expert Rev. Neurother.* 2018, 18, 91–93. [CrossRef] [PubMed]
2. Shin, H.K.; Dunn, A.K.; Jones, P.B.; Boas, D.A.; Lo, E.H.; Moskowitz, M.A.; Ayata, C. Normobaric hyperoxia improves cerebral blood flow and oxygenation, and inhibits peri-infarct depolarizations in experimental focal ischaemia. *Brain* 2007, 130 Pt 6, 1631–1642. [CrossRef]
3. Brueckl, C.; Kaestle, S.; Kerem, A.; Habazettl, H.; Krombach, F.; Kuppe, H.; Kuebler, W.M. Hyperoxia-induced reactive oxygen species formation in pulmonary capillary endothelial cells in situ. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2006, 34, 453–463. [CrossRef] [PubMed]
4. Sperlich, B.; Calbet, J.; Boushel, R.; Holmberg, H.C. Is the use of hyperoxia in sports effective, safe and ethical? *Scand. J. Med. Sci. Sports* 2016, 26, 1268–1272. [CrossRef] [PubMed]
5. Klugar, M.; Nytra, I.; Bocková, S.; Klugarová, J.; Kelnarová, Z.; Marecková, J. The effectiveness of hyperbaric oxygen therapy on mortality in adults with craniotrauma: A systematic review protocol. *JBIG Database Syst. Rev. Implement. Rep.* 2014, 12, 54–66. [CrossRef]
6. Heyboer, M., III; Sharma, D.; Santiago, W.; McCulloch, N. Hyperbaric oxygen therapy: Side effects defined and quantified. *Adv. Wound Care* 2017, 6, 210–224. [CrossRef]
7. Delis, D.C.; Kramer, J.H.; Kaplan, E.; Thompkins, B.A.O. CVLT: California verbal learning test-adult version: Manual. *Psychol. Corp.* 1987. [CrossRef]
8. Llinas-Regla, J.; Vilalta-Franch, J.; Lopez-Pousa, S.; Calvo-Perxas, L.; Torrents Rodas, D.; Garre-Olmo, J. The Trail Making Test. *Assessment* 2017, 24, 183–196. [CrossRef]
9. Lezak, M.D.; Howieson, D.B.; Loring, D.W.; Fischer, J.S. *Neuropsychological Assessment*; Oxford University Press: Cary, NC, USA, 2004; ISBN 978-0-19-511121-7.
10. Johansson, S.; Kottorp, A.; Lee, K.A.; Gay, C.L.; Lerdal, A. Can the Fatigue Severity Scale 7-item version be used across different patient populations as a generic fatigue measure—a comparative study using a Rasch model approach. *Health Qual. Life Outcomes* 2014, 12, 24. [CrossRef]
11. Fortin, J.; Marte, W.; Grullenberger, R. Continuous non-invasive blood pressure monitoring using concentrically interlocking control loops. *Comput. Biol. Med.* 2006, 36, 941–957. [CrossRef]
12. Parati, G.; Omboni, S.; Frattola, A.; Di Rienzo, M.; Zanchetti, A.; Mancia, G. Dynamic evaluation of the baroreflex in ambulant subjects. *Blood Press. Heart Rate Var.* 1992, 4, 123–137.

13. Parati, G.; Di Rienzo, M.; Mancia, G. How to measure baroreflex sensitivity: From the cardiovascular laboratory to daily life. *J. Hypertens.* 2000, 18, 7–19. [CrossRef]
14. Bruce, R.; Kusumi, F.; Hosmer, D. Maximal oxygen intake and nomographic assessment of functional aerobic impairment in cardiovascular disease. *Am. Heart J.* 1973, 85, 546–562. [CrossRef]
15. R Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing; R Foundation for Statistical Computing: Vienna, Austria, 2013; Available online: <http://www.R-project.org/> (accessed on 4 February 2020).
16. Patil, I.; Powell, C. Ggstatsplot: 'ggplot2' Based Plots with Statistical Details. 2018. Available online: <https://CRAN.R-project.org/package=ggstatsplot> (accessed on 4 February 2020). [CrossRef]
17. Morten, K.J.; Potter, M.; Badder, L.; Sivathondan, P.; Dragovic, R.; Neumann, A.; Gavin, J.; Shrestha, R.; Reilly, S.; Phadwal, K.; et al. Insights into pancreatic β cell energy metabolism using rodent β cell models. *Welcome Open Res.* 2017, 2. [CrossRef]
18. Greenwood, P.M.; Parasuraman, R. Neuronal and cognitive plasticity: A neurocognitive framework for ameliorating cognitive aging. *Front. Aging Neurosci.* 2010, 2, 150. [CrossRef] [PubMed]
19. Benedict, R.H.; Zgaljardic, D.J. Practice effects during repeated administrations of memory tests with and without alternate forms. *J. Clin. Exp. Neuropsychol.* 1998, 20, 339–352. [CrossRef] [PubMed]
20. Gunstad, J.; Benitez, A.; Smith, J.; Glickman, E.; Spitznagel, M.B.; Alexander, T.; Murray, L. Serum brain-derived neurotrophic factor is associated with cognitive function in healthy older adults. *J. Geriatr. Psychiatry Neurol.* 2008, 21, 166–170. [CrossRef] *Medicina* 2020, 56, 172–181.
21. Dinoff, A.; Herrmann, N.; Swardfager, W.; Liu, C.S.; Sherman, C.; Chan, S.; Lanctôt, K.L. The effect of exercise training on resting concentrations of peripheral brain-derived neurotrophic factor (BDNF): A meta-analysis. *PLoS ONE* 2016, 11, e0163037. [CrossRef]
22. Jaeger, J. Digit Symbol Substitution Test: The Case for Sensitivity over Specificity in Neuropsychological Testing. *J. Clin. Psychopharmacol.* 2018, 38, 513. [CrossRef]
23. Gignac, G.E.; Weiss, L.G. Digit Span is (mostly) related linearly to general intelligence: Every extra bit of span counts. *Psychol. Assess.* 2015, 27, 1312. [CrossRef]
24. Buszko, K.; Pi ątkowska, A.; Ko ńzłuk, E.; Opolski, G. Entropy in investigation of vasovagal syndrome in passive head up tilt test. *Entropy* 2017, 19, 236. [CrossRef]
25. Buszko, K.; Pi ątkowska, A.; Ko ńzłuk, E.; Fabiszak, T.; Opolski, G. The complexity of hemodynamic response to the tilt test with and without nitroglycerine provocation in patients with vasovagal syncope. *Sci. Rep.* 2018, 8, 14554. [CrossRef] [PubMed]
26. Broeckaert, F.; Bernard, A. Clara cell secretory protein (CC16): Characteristics and perspectives as lung peripheral biomarker. *Clin. Exp. Allergy* 2000, 30, 469–475. [CrossRef] [PubMed]
27. Bernardi, L.; Gordin, D.; Bordino, M.; Rosengård-Bärlund, M.; Sandelin, A.; Forsblom, C.; Groop, P.H. Oxygen-induced impairment in arterial function is corrected by slow breathing in patients with type 1 diabetes. *Sci. Rep.* 2017, 7, 6001. [CrossRef] [PubMed]
28. Kropski, J.A.; Fremont, R.D.; Calfee, C.S.; Ware, L.B. Clara cell protein (CC16), a marker of lung epithelial injury, is decreased in plasma and pulmonary edema fluid from patients with acute lung injury. *Chest* 2009, 135, 1440–1447. [CrossRef] [PubMed]
29. Kurowski, M.; Jurczyk, J.; Jarz ębska, M.; Moskwa, S.; Makowska, J.S.; Krysztofiak, H.; Kowalski, M.L. Association of serum Clara cell protein CC16 with respiratory infections and immune response to respiratory pathogens in elite athletes. *Respir. Res.* 2014, 15, 45. [CrossRef]
30. Hermans, C.; Petrek, M.; Kolek, V.; Weynand, B.; Pieters, T.; Lambert, M.; Bernard, A. Serum Clara cell protein (CC16), a marker of the integrity of the air-blood barrier in sarcoidosis. *Eur. Respir. J.* 2001, 18, 507–514. [CrossRef]
31. Tatarkova, Z.; Engler, I.; Calkovska, A.; Mokra, D.; Drgova, A.; Hodas, P.; Lehotsky, J.; Dobrota, D.; Kaplan, P. Effect of long-term normobaric hyperoxia on oxidative stress in mitochondria of the guinea pig brain. *Neurochem. Res.* 2017, 36, 1475–1481. [CrossRef]
32. Ahotupa, M.; Mantyla, E.; Peltola, V.; Puntala, A.; Toivonen, H. Pro-oxidant effects of normobaric hyperoxia in rat tissues. *Acta Physiol. Scand.* 1992, 145, 151–157. [CrossRef]

33. Crapo, J.D.; Barry, B.E.; Foscue, H.A.; Shelburne, J. Structural and biochemical changes in rat lungs occurring during exposures to lethal and adaptive doses of oxygen. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1980, 122, 123–143. [CrossRef]
34. Weaver, J.; Liu, K.J. Does normobaric hyperoxia increase oxidative stress in acute ischemic stroke? A critical review of the literature. *Med. Gas Res.* 2015, 5, 11. [CrossRef] [PubMed]
35. Kumaria, A.; Tolia, C.M. Normobaric hyperoxia therapy for traumatic brain injury and stroke: A review. *Br. J. Neurosurg.* 2009, 23, 576–584. [CrossRef] [PubMed]
36. Fujiwara, N.; Mandeville, E.T.; Geng, X.; Luo, Y.; Arai, K.; Wang, X.; Ji, X.; Singhal, A.B.; Lo, E.H. Effect of normobaric oxygen therapy in a rat model of intracerebral hemorrhage. *Stroke* 2011, 42, 1469–1472. [CrossRef] [PubMed]
37. Bernardi, L.; Rosengård-Bärlund, M.; Sandelin, A.; Mäkinen, V.P.; Forsblom, C.; Groop, P.H.; FinnDiane Study Group. Short-term oxygen administration restores blunted baroreflex sensitivity in patients with type 1 diabetes. *Diabetologia* 2011, 54, 2164–2173. [CrossRef] [PubMed]
38. Kay, B.; Stannard, S.R.; Morton, R.H.; North, N. Hyperoxia during recovery improves peak power during repeated wingate cycle performance. *Braz. J. Biomotricity* 2008, 2, 92–100.
39. Oussaidene, K.; Prieur, F.; Bougault, V.; Borel, B.; Matran, R.; Mucci, P. Cerebral oxygenation during hyperoxia-induced increase in exercise tolerance for untrained men. *Eur. J. Appl. Physiol.* 2013, 113, 2047–2056. [CrossRef]
40. Lund, V.; Kentala, E.; Scheinin, H.; Klossner, J.; Sariola-Heinonen, K.; Jalonen, J. Hyperbaric oxygen increases parasympathetic activity in professional divers. *Acta Physiol. Scand.* 2000, 170, 39–44. [CrossRef]
41. Casey, D.P.; Joyner, M.J.; Claus, P.L.; Curry, T.B. Vasoconstrictor responsiveness during hyperbaric hyperoxia in contracting human muscle. *J. Appl. Physiol.* 2013, 114, 217–224. [CrossRef] *Medicina* 2020, 56, 172 of 16
42. Vuong, W.; Kizuk, S.A.; MacLean, J.; Dickson, C.T.; Mathewson, K. Electrophysiological Correlates of hyperoxia during Resting-state EEG in Awake Human Subjects. Preprint. Available online: <https://www.biorxiv.org/content/biorxiv/early/2019/01/14/355941.full.pdf> (accessed on 22 February 2019).
43. Cortés, D.O.; Puflea, F.; Donadello, K.; Taccone, F.S.; Gottin, L.; Creteur, J.; Vincent, J.-L.; De Backer, D. Normobaric hyperoxia alters the microcirculation in healthy volunteers. *Microvasc. Res.* 2014, 98, 23–28. [CrossRef]
44. Bergo, G.W.; Tyssebotn, I. Effect of exposure to oxygen at 101 and 150 kPa on the cerebral circulation and oxygen supply in conscious rats. *Eur. J. Appl. Physiol. Occup. Physiol.* 1995, 71, 475–484. [CrossRef]
45. Floyd, T.F.; Clark, J.M.; Gelfand, R.; Detre, J.A.; Ratcliffe, S.; Guvakov, D.; Lambertsen, C.J.; Eckenhoff, R.G. Independent cerebral vasoconstrictive effects of hyperoxia and accompanying arterial hypocapnia at 1 ATA. *J. Appl. Physiol.* 2003, 95, 2453–2461. [CrossRef] [PubMed]
46. Wu, Y.W.; Tang, C.Y.; Ng, J.; Wong, E.; Carpenter, D.; Tao, X. Effects of hyperoxia on resting state functional magnetic resonance imaging. *Neuroreport* 2014. [CrossRef] [PubMed]
47. Hu, Q.; Manaenko, A.; Guo, Z.; Huang, L.; Tang, J.; Zhang, J.H. Hyperbaric oxygen therapy for post concussion symptoms: Issues may affect the results. *Med. Gas Res.* 2015, 5, 10. [CrossRef] [PubMed]
48. Collet, J.P.; Vanasse, M.; Marois, P.; Amar, M.; Goldberg, J.; Lambert, J.; Lassonde, M.; Hardy, P.; Fortin, J.; Tremblay, S.D. Hyperbaric oxygen for children with cerebral palsy: A randomised multicentre trial. *Lancet* 2001, 357, 582–586. [CrossRef]
49. Wolf, G.; Cifu, D.; Baugh, L.; Carne, W.; Profenna, L. The effect of hyperbaric oxygen on symptoms after mild traumatic brain injury. *J. Neurotrauma* 2012, 29, 2606–2612. [CrossRef] [PubMed]
50. Van Hoesen, K.B.; Camporesi, E.M.; Moon, R.E.; Hage, M.L.; Piantadosi, C.A. Should hyperbaric oxygen be used to treat the pregnant patient for acute carbon monoxide poisoning? A case report and literature review. *JAMA* 1989, 261, 1039–1043. [CrossRef] [PubMed]