

УДК 616.831-085.835.3-07:577.158

АКТИВНОСТЬ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ В ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИ РАЗНЫХ ОТДЕЛАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС ПРИ МНОГОКРАТНЫХ СЕАНСАХ ГИПЕРБАРИЧЕСКОЙ ОКСИГЕНАЦИИ

© 2019 г. Я. В. Булгакова^{1,*}, П. Н. Савилов², В. Н. Яковлев³, Е. В. Дорохов³

¹ Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Москва, Россия

² Тамбовское областное государственное бюджетное учреждение “Тамбовская ЦРБ”, Тамбов, Россия

³ Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко, Воронеж, Россия

*e-mail: yaroslava.v.bulgakova@mail.ru

Поступила в редакцию 10.11.2018 г.

После доработки 19.12.2018 г.

Принята к публикации 12.03.2019 г.

В статье анализируется влияние многократных сеансов гипербарической оксигенации (ГБО) (2 ата, 50 мин, 1 сеанс в сутки) на активность супероксиддисмутазы (СОД) в филогенетически гетерогенных структурах мозга. Активность СОД определяли хемилюминисцентным методом в стволе, мозжечке и больших полушариях мозга белых крыс. Исследование интактных животных (1-я серия) не выявило достоверных различий активности СОД между упомянутыми структурами. Один сеанс ГБО (2-я серия) стимулировал активность СОД во всех отделах мозга, при этом рост показателя в полушариях, мозжечке и стволе составил 41%, 31% и 66% от уровня контроля соответственно ($p < 0.05$). При увеличении гипероксической нагрузки до 5 сеансов (3-я серия) выраженность ответной реакции СОД в стволе превысила уровень других исследованных структур ($p < 0.05$) и составила 187% по сравнению с уровнем контроля ($p < 0.001$). Продолжение оксигенации до десяти сеансов (4-я серия) сопровождалось нормализацией активности фермента. После 18-го сеанса ГБО (5-я серия) уровень активности СОД в мозжечке и больших полушариях несколько возрастал по сравнению с 10-м сеансом, оставаясь, в то же время, ближе к значениям контрольной группы, чем в стволе головного мозга. В этом отделе уровень активации СОД превышал показатели интактного организма на 46% ($p < 0.05$).

Ключевые слова: гипербарическая оксигенация, супероксиддисмутаза, головной мозг

DOI: 10.1134/S0044452919050012

ВВЕДЕНИЕ

Воздействие кислорода под повышенным давлением (гипербарическая оксигенация) широко используется в практике подводной, авиационной и спортивной медицины как мощное средство повышения работоспособности организма и когнитивной функции головного мозга в условиях экстремальных нагрузок [1–3]. Одним из важных условий эффективного применения гипербарической оксигенации (ГБО) в клинике является изучение механизмов адаптации как здорового, так и больного организма к гипероксии [1]. При этом важную роль играют компоненты системы антиоксидантной защиты [3]. Целью настоящей работы было изучение влияния многократных сеансов ГБО в терапевтическом режиме на активность супероксиддисмутазы нейронов филогенетически разнородных структур головного мозга.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Опыты проведены на 43 половозрелых белых нелинейных крысах-самцах массой 180–220 г. Манипуляции на животных проводились с учетом “Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных”, утвержденных приказом МЗ СССР от 12.08.77 (№ 755).

ГБО проводили медицинским кислородом в экспериментальной барокамере (объем 90 л, режим 202.6 кПа, 50 мин изопрессии, 1 сеанс в сутки, 18 сеансов).

Животные были разделены на 5 серий опытов. В 1-й серии исследованы интактные животные ($n = 10$); 2-ю, 3-ю, 4-ю и 5-ю серии составили животные, исследованные сразу после 1-го ($n = 16$), 5-го ($n = 9$), 10-го ($n = 8$) и 18-го ($n = 10$) сеанса ГБО соответственно.

В качестве обезболивания при декапитации применялся ингаляционный наркоз медицинским эфиром. Головной мозг промывали ледяным изо-

Таблица 1. Активность СОД в отделах головного мозга крыс при ГБО ($M \pm m$)

Серии опытов	Активность СОД, УЕ/г сырой ткани		
	Ствол	Мозжечок	Полушария
Контроль (1-я серия)	3061 ± 441	3958 ± 223	3556 ± 187
1 сеанс ГБО (2-я серия)	5096 ± 73*	5203 ± 90*	5041 ± 83*
5 сеансов ГБО (3-я серия)	5724 ± 78*●	5226 ± 132*	5320 ± 60*●
10 сеансов ГБО (4-я серия)	4117 ± 201●■	3458 ± 360●■	4015 ± 197●■
18 сеансов ГБО (5-я серия)	4483 ± 202*●■	4259 ± 187●■◆	4202 ± 195●■

Примечание: * – $p < 0.05$ по сравнению с контролем, ● – с первым сеансом, ■ – с пятым сеансом, ◆ – с десятым сеансом.

тоническим раствором КСl (15–20 мл), извлекали на льду, выделяли ствол, мозжечок и большие полушария. Ткань гомогенизировали в растворе трис-НСl буфера (0.25 М) при $t = +1-(+3)^\circ\text{C}$. Общую активность супероксиддисмутазы (СОД; КФ 1.15.1.11) в гомогенатах исследуемых мозговых структур определяли хемилюминесцентным методом и выражали в условных единицах (УЕ/мл г сырой ткани) [4]. Результаты обработаны статистически с помощью непараметрического критерия Вилкоксона–Манна–Уитни после проверки гипотезы о нормальности распределения. Статистический анализ проводили с использованием пакетов “Microsoft Excel”, “Statistica 5.0 Statsoft”. Изменения оценивали как достоверные при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В 1-й серии исследования активности СОД в отделах головного мозга интактных животных не выявили достоверных различий активности СОД между структурами ствола, мозжечка и больших полушарий (табл. 1).

Во 2-й серии исследований было обнаружено, что однократное воздействие кислорода под повышенным давлением стимулировало рост активности СОД в полушариях, мозжечке и стволе головного мозга на 41%, 31% и 66% соответственно ($p < 0.05$; табл. 1).

В 3-й серии исследований было выявлено, что при увеличении гипероксической нагрузки до 5 сеансов ГБО направленность ответной реакции СОД исследуемых структур головного мозга сохранялась. При этом выраженность ее в стволе головного мозга составляла 187% по сравнению с уровнем контроля ($p < 0.001$) и превышала уровень показателей в мозжечке и больших полушариях, составивших 132% и 150% от контрольного соответственно ($p < 0.05$; таблица).

В 4-й серии опытов, при увеличении количества сеансов ГБО до 10-ти, во всех исследованных отделах мозга было обнаружено снижение стимулирующего влияния гипербарического кислорода на активность СОД по сравнению с действием 1-го и

5-го сеансов ($p < 0.05$; табл. 1). Показатели при этом оставались в пределах контрольного уровня (таблица).

В 5-й серии опытов, после 18-го сеанса ГБО, уровень активности СОД в мозжечке и больших полушариях несколько возрастал по сравнению с 10-м сеансом, оставаясь, в то же время, ближе к значениям контрольной группы, чем в стволе головного мозга. В этом отделе реакция носила более выраженный характер, и уровень активации СОД превышал показатели интактного организма на 46% ($p < 0.05$, таблица).

ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно данным литературы, установлена прямая зависимость между активностью СОД и скоростью образования супероксиданион-радикала (O_2^-) [5]. Принимая это во внимание, увеличение активности СОД, обнаруженное при одно- и пятикратном воздействии ГБО в режиме 2 ата, 50 мин, можно связать с повышением интенсивности радикалообразования, наиболее выраженным после 5 сеансов в филогенетически более древнем отделе – стволе мозга. При этом вероятным механизмом представляется увеличение скорости потребления кислорода в дыхательной цепи митохондрий, приводящее к увеличению естественной утечки из нее свободных радикалов, в том числе O_2^- [1].

Для объяснения результатов, полученных при продолжении оксигенации до 10 и 18 сеансов, необходимо отметить, что, согласно литературным источникам, 6-часовая оксигенация белых крыс при более “жестком” режиме ГБО (3 ата) не приводила к увеличению количества радикалов в полушариях головного мозга [6]. Возможно, этот факт объясняет нормализацию активности СОД и позволяет предположить снижение потребления кислорода в дыхательной цепи митохондрий и уменьшение радикалообразования в структурах мозга к 10-му сеансу воздействия гипербарического кислорода. С этой точки зрения увеличение активности СОД от 10-го к 18-му сеансу ГБО может

являться ответной реакцией на реактивацию потребления кислорода дыхательной цепью митохондрией нейронов исследованных отделов головного мозга, в наибольшей степени проявившейся в филогенетически более древней структуре – стволе.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Все серии исследований, представленные в статье, выполнены без финансовой поддержки.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены.

Настоящая статья не содержит результатов каких-либо исследований с участием людей в качестве объектов исследований.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Леонов А.Н.* Гипероксия: Адаптация. Саногенез. Воронеж: ВГМА. 2006. [Leonov A.N. Giperoksiya: Adaptatsiya. Sanogenez. [Hyperoxia: Adaptation. Sanogenesis]. Voronezh: VGMA. 2006. (in Russ)].
2. *Филипенков С.Н., Дедеш Л.М., Елкина Л.Г., Секунов Г.Г.* Итоги, проблемы и перспективы применения ГБО в авиационной медицине для восстановления здоровья и реабилитации летного состава. Бюллетень гипербарической биологии и медицины. 11 (1–4): 43–53. 2003. [Filipenkov S.N., Dedesh L.M., Yolkina L.G., Sekunov G.G. Itogi, problemy i perspektivy primeneniya GBO v aviacionnoj medicine dlya vosstanovleniya zdorov'ya i reabilitacii lyotnogo sostava. [Results, problems and the prospects of application of hyperbaric oxygenation therapy in aviation medicine for recovery of health and rehabilitation of flight personnel]. Bulletin of hyperbaric biology and medicine. 11 (1–4): 43–53. 2003 (in Russ)].
3. *Морев В.К., Медведева Н.Н.* Практический опыт применения интервальной гипоксической тренировки и гипербарической оксигенации у спортсменов. Гипербарическая физиология и медицина. 1: 32–35. 2007. [Morev V.K., Medvedeva N.N. Prakticheskij opyt primeneniya interval'noj gipoksicheskoj trenirovki i giperbaricheskoj oksigenacii u sportsmenov. [Practical experience of application of an interval hypoxic training and hyperbaric oxygenation at athletes]. Hyperbaric physiology and medicine. 1: 32–35. 2007 (in Russ)].
4. *Пашков А.И., Романов А.Ю.* Применение хемилуминесцентного анализа для определения активности печеночного антикейлона и кейлона. Бюлл. экп. биол. и мед. 110 (7): 92–94. 1990. [Pashkov A.N., Romanov Iu.A. Use of chemiluminescence analysis in the determination of the activity of hepatic antichalone and chalone. Biull Eksp Biol Med. 110 (7): 92–94. 1990 (in Russ)].
5. *Fridovich I.* Superoxide Dismutase. Adv. Enzymol. 41: 35–97. 1974.
6. *Барсуков В.А.* Некоторые особенности свободно-радикальных процессов и тканевого дыхания в головном мозге и печени белых крыс при гипербарической оксигенации. Электроника и химия в кардиологии. 4: 184–189. 1968. [Barsukov V.A. Nekotorye osobennosti svobodno-radikal'nyh processov i tkanevogo dyhaniya v golovnom mozge i pecheni belyh krysv pri giperbaricheskoj oksigenacii. [Some features of free radical processes and tissue respiration in a brain and a liver of white rats at hyperbaric oxygenation]. Elektronika i himiya v kardiologii. [Electronics and chemistry in cardiology]. 4: 184–189. 1968 (in Russ)].

Superoxide Dismutase Activity in Phylogenetically Heterogeneous Regions of the Rat Brain during Repetitive Sessions of Hyperbaric Oxygenation

Ya. V. Bulgakova^{a,#}, P. N. Savilov^b, V. N. Yakovlev^c, and E. V. Dorokhov^c

^a I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia

^b Tambov Central Regional Hospital, Tambov, Russia

^c N.N. Burdenko Voronezh State Medical University

[#] e-mail: yaroslava.v.bulgakova@mail.ru