

МЕХАНИЗМЫ ВОВЛЕЧЕНИЯ МОНОАМИНОКСИДАЗЫ В РАЗВИТИЕ ГИПЕРБАРИЧЕСКИХ КИСЛОРОДНЫХ СУДОРОГ

© 2024 г. С. Ю. Жиляев¹, И. Н. Басова¹, Т. Ф. Платонова¹, О. С. Алексеева¹*,
Н. А. Гавришева², И. Т. Демченко¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт эволюционной физиологии
и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия

² ФБГОУ ВО Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет
им. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

* e-mail: osa72@inbox.ru

Поступила в редакцию 25.04.2024 г.

После доработки 25.07.2024 г.

Принята к публикации 31.07.2024 г.

Дыхание гипербарическим кислородом (ГБО₂) вызывает генерализованные тонические и клонические судороги, механизмы возникновения которых недостаточно изучены. Целью настоящей работы являлось исследование механизмов вовлечения моноаминоксидазы (МАО) в развитие гипербарических кислородных судорог. У крыс, находящихся в барокамере под давлением кислорода 5 АТА, анализировали судорожные реакции после введения пиразидола — ингибитора МАО-А и паргилина — ингибитора МАО-Б. Исследования показали снижение активности МАО-изоформ в ГБО₂, а также задержку развития судорог у животных при ингибировании МАО-А и МАО-Б. Уровень ГАМК в мозге понижался при ГБО₂, а ингибирование МАО-Б с помощью паргилина предотвращало снижение содержания тормозного медиатора. Полученные результаты свидетельствуют о том, что МАО-изоформы играют важную роль в регулировании эпилептогенеза при экстремальной гипероксии. Гипербарический кислород, ингибируя каталитическую активность МАО путем трансформации ее молекулярной структуры, приводит к нарушению регуляции обмена моноаминовых нейротрансмиттеров и понижению уровня ГАМК в мозге, что в совокупности ведет к дисбалансу процессов возбуждения/торможения в ЦНС, лежащему в основе патогенеза кислородной эпилепсии.

Ключевые слова: гипербарический кислород, судороги, адренергическая система мозга, моноаминоксидаза, пиразидол, паргилин

DOI: 10.31857/S0044452924050069, **EDN:** XPERWU

ВВЕДЕНИЕ

Дыхание кислородом под давлением (гипербарический кислород, ГБО₂) используется в оксигенотерапии для лечения многих заболеваний, а также акванавтами и водолазами для выполнения различных экономических и военных задач. Несмотря на относительную безопасность, использование сжатого кислорода сопряжено с риском его токсического действия на ЦНС, которое проявляется в виде эпилептиформных паттернов на электроэнцефалограмме (ЭЭГ) и тонико-клонических моторных судорог, напоминающих генерализованный эпилептический припадок. Многолетние исследования судорожной активности мозга в ГБО₂, получившей название «кислородная эпилепсия» [1], до сих пор не привели к пониманию ее патогенеза. Одним из признаков развития гипероксических судорог является высокая активность перифе-

рического отдела симпатической нервной системы, которая сопровождается острой гипертензией с нарушением сердечной и легочной функций [2–4]. Гиперактивность симпатической нервной системы в ГБО₂ предшествует появлению судорог, что допускает их причинно-следственную связь. Адренорецепторы головного мозга, как часть центральной адренергической системы, причастны в гиперактивации симпатической нервной системы и влияют на развитие гипербарических кислородных судорог. Доказательством этому служит тот факт, что введение в мозговую желудочек крысы неселективных и селективных антагонистов α - и β -норадренорецепторов (пропранолол, атенолол, фентоламин и празозин), модифицирует сердечно-сосудистые реакции, а пропранолол, кроме того, эффективно предотвращает развитие судорожного синдрома, увеличивая более чем в 2 раза латентный период появления гипероксических судорог [4–5]. Сово-

купность представленных данных позволяет высказать предположение об участии норадренергической системы в развитии судорожной активности мозга при дыхании гипербарическим кислородом.

Ключевая роль в функционировании норадренергической передачи в мозге принадлежит моноаминоксидазе (МАО), которая осуществляет катаболизм моноаминовых нейромедиаторов посредством их окислительного дезаминирования. МАО поддерживает постоянство концентраций эндогенных моноаминов синаптической передачи в головном мозге. Локализованная в митохондриях, МАО существует в двух функциональных формах: МАО-А и МАО-В. По своему строению обе изоформы белка сходны между собой, их аминокислотные последовательности совпадают примерно на 70%. Оба типа МАО в большом количестве найдены в нейронах и глиальных клетках головного мозга. Изоформы МАО различаются по своим функциям, каждая из них проявляет преимущественное сродство к субстратам и специфичность к ингибиторам [6–7]. По отношению к биогенным аминам, МАО-А предпочтительно метаболизирует серотонин, норадреналин и адреналин, тогда как МАО-В преимущественно дезаминирует фенилэтиламин. Дофамин рассматривается как смешанный субстрат, который окисляется с помощью МАО-А в мозге крыс, но с участием МАО-В в мозге человека [8].

Предположение о причастности МАО к ГБО₂-опосредованным судорогам высказывалась ранее и при этом рассматривались три потенциальных механизма вовлечения фермента в развитие судорожного процесса. Согласно этим гипотетическим механизмам, МАО вовлекается в развитие гипероксических судорог за счет: (а) повышения содержания в мозге перекиси водорода, являющейся конечным продуктом дезаминирования моноаминовых нейромедиаторов и обладающей просудорожным действием [9]; (б) МАО-опосредованных изменений уровня катехоламинов в мозге, приводящих к нарушениями нервной передачи, проявляющейся в активации периферического и центрального отделов адренергической системы в ГБО₂ [4, 10]; (в) влияния МАО на метаболизм ГАМК [11–12]. Все названные механизмы вовлечения МАО в развитие ГБО₂-опосредованных судорог обосновывались косвенными данными и их валидность до сих пор остается недоказанной.

Целью настоящей работы являлся экспериментальный анализ трех вышеизложенных потенциальных механизмов вовлечения МАО в развитие гипероксических судорог. В рамках поставленной цели оценивали каталитическую активность двух изоформ МАО при введении пирозидола и паргилина, а также динамику мозговой ГАМК у животных в барокамере под давлением 5 АТА. Пирази-

дол (пирлиндол) является селективным обратимым ингибитором МАО-А. Активность этой изоформы фермента восстанавливается в течение нескольких часов после использования ингибитора. Пиразидол ингибирует активность МАО-А и блокирует пути метаболического разрушения нейромедиаторов норадренергической системы мозга, что препятствует нормальной терминации их медиаторного действия и ведет к возрастанию функциональной активности симпатoadреналовой системы [13]. Паргилин является необратимым селективным ингибитором МАО-В (IC₅₀ для МАО-А составляет 0.01152 мкмоль/л, а для МАО-В — 0.00820 мкмоль/л). МАО-В преимущественно дезаминирует фенилэтиламин, но принимает также участие в окислительном дезаминировании катехоламинов, таких, как норадреналин и дофамин, в пресинаптических нервных окончаниях. Ингибируя катаболизм этих биогенных аминов в головном мозге, паргилин увеличивает их синаптическую концентрацию и связывание с постсинаптическими рецепторами.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В опытах использовали крыс линии Wistar массой 265–295 г, закупленных в питомнике лабораторных животных «Рапполово» (Всеволожский район, Ленинградская область).

Эксперименты выполнены на бодрствующих и наркотизированных животных в барокамере, заполненной кислородом под давлением 5 АТА (атмосфер абсолютных). В первой серии опытов использовали интактных (не оперированных) крыс, которым за 30 мин до компрессии кислородом вводили внутрибрюшинно физиологический раствор (контрольная группа), пиразидол (Фармстандарт-Лексредства, Москва, Россия) в дозе 10, 25, 100 мг/кг или паргилин (Pargyline hydrochloride, Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA) в дозе 25 мг/кг. Препараты растворяли в физиологическом растворе и вводили в объеме 1.0 мл на животное. Через 30 мин после инъекции крыс помещали в кислородную барокамеру объемом 100 литров по четыре животных в каждом опыте. Повышение давления кислорода в камере до 5 АТА в опытах осуществляли со скоростью 1 АТА/мин. Температуру в камере поддерживали в пределах 23–25°C, влажность около 60%, содержание CO₂ не превышало 0.05%. Экспозиция крыс в ГБО₂ продолжалась до появления выраженных тонических или клонических судорог, а при их отсутствии — максимально до 90 мин.

У интактных животных после 4-минутной декомпрессии извлекали головной мозг, согласно утвержденному протоколу, выделяли теменную кору, стриатум и гипоталамус, в которых измеряли активность моноаминоксидазы. Для этого ис-

пользовали фрагменты митохондриальных мембран каждого из трех отделов головного мозга крыс, частично очищенных от балластного белка посредством их экстракции в 0.0075 М калий-фосфатном буфере, pH = 7.4. Содержание белка в ферментных препаратах определяли по методу Лоури [14]. Активность MAO определяли спектрофотометрическим методом при длине волны 440 нм по количеству аммиака, образующегося в результате ферментативной реакции окислительного дезаминирования субстрата (норадrenalина), по модифицированному методу Конвея с последующей несселеризацией [15–16]. Анализируемые пробы (конечный объем 2.5 мл) содержали 1 мг/мл митохондриального белка, 0.01 М фосфатного буфера, pH = 7.4 и норадrenalина гидротарtrate в форме моногидрата (концентрации 4.010^{-4} М). В опытах с введением паргилина (25 мг/кг) активность MAO определяли в теменной коре крыс аналогичным предыдущему методом, используя спектрофотометрическое измерение активности фермента по количеству аммиака, образующегося в результате дезаминирования субстрата (норадrenalин) и подробно изложенного в работе [17].

Во второй серии опытов использовали крыс, которым под наркозом (в расчете на 100 гр. массы животного): золетил 0.3 мг в/м, ксилазин 0.8 мг в/м, атропина сульфат 0.1 % раствор — 0.01 мл п/к, в стриатум мозга имплантировали платиновые электроды диаметров 150 мкм согласно стереотаксическим координатам (AP = + 1.0 мм, L = 2.5 мм, D = 6.7 мм) по атласу [18]. Платиновые электроды использовались для измерений кровотока методом водородного клиренса [19]. Через 7 дней после операции, животным за 30 мин до кислородной экспозиции внутрибрюшинно вводили физраствор (контрольная группа), пиразидол (25 мг/кг) или паргилин (25 мг/кг). Через 30 мин после инъекции крыс помещали в кислородную барокамеру объемом 100 литров по одному оперированному животному в каждом опыте. Параметры ГБО₂-экспозиции были такими же, как и в первой серии опытов. Экспозиция крыс в ГБО₂ продолжалась до появления выраженных тонико-клонических судорог, а при их отсутствии — максимально до 90 мин.

В третьей серии опытов измеряли содержание внеклеточной ГАМК в стриатуме крыс, находящихся в барокамере под давлением кислорода 5 АТА. Для этого наркотизированным животным (уретан 750 мг/кг + хлоралоза 250 мг/кг, внутрибрюшинно) в стриатум (координаты такие же, как для измерения кровотока) вводили микродиализные канюли (СМА/11, СМА/Microdialysis АВ, Швеция). Во время ГБО₂-экспозиции канюли перфузировали искусственным ликвором со скоростью 1.0 мкл/мин, а пробы диализата объемом 15 мкл автоматически отбирали каждые 15 мин (СМА 142 Microfraction Col-

lector, АВ, Швеция). Биоэлектрическую активность коры мозга (ЭКоГ) у наркотизированных животных в ГБО₂ регистрировали с помощью винтов из нержавеющей стали диаметром 2.4 мм. Один винт вводили через отверстие в теменной кости черепа до соприкосновения с твердой мозговой оболочкой, а другой, индифферентный, — в лобную пазуху. Для регистрации ЭКоГ использовали измерительный комплекс с вычислением спектральных характеристик биоэлектрического процесса (LabView 2, iWORK, СА, США). Появление судорожной активности мозга оценивали по наличию повторяющихся комплексных спайков.

Измерения ГАМК в пробах диализата проводили с помощью высокопроизводительной жидкостной хроматографии (HPLC) с электрохимической детекцией ГАМК в диализате (ESA model 5100A). Содержание ГАМК в пробах диализата определяли в мкмоль/л по калибровочным стандартам. Параметры ГБО₂-экспозиции были такими же, как и в двух первых сериях опытов.

Всего в исследованиях было использовано 75 животных, разделенных на 12 групп. В первой серии опытов использовано 42 крыс, разделенных на 6 групп. Животных первой группы ($n = 7$) с интактной MAO подвергали действию гипербарического кислорода 5 АТА после внутрибрюшинного введения физраствора (контрольная группа). За 30 мин до ГБО₂-экспозиции крысам второй ($n = 7$), третьей ($n = 7$) и четвертой групп ($n = 7$) внутрибрюшинно вводили пиразидол в дозах 10, 25 и 100 мг/кг соответственно, а животным пятой группы ($n = 7$) вводили паргилин в дозе 25 мг/кг. Крысам шестой группы ($n = 7$) вводили пропранолол (5 мг/кг) с последующей экспозицией под давлением кислорода 5 АТА.

Во второй серии опытов с вживленными электродами использовали 21 животное, разделенные на 3 группы. Кровоток в стриатуме под давлением кислорода 5 АТА измеряли без введения препаратов (группа 7, $n = 7$), а в группах 8 ($n = 7$) и 9 ($n = 7$) после введения пиразидола в дозе 25 мг/кг и паргилина в дозе 25 мг/кг, соответственно, с последующей экспозицией в ГБО₂.

В третьей серии опытов использовано 12 животных, у которых ГАМК в стриатуме измеряли при дыхании воздухом в течении 75 мин (группа 10, $n = 3$), в барокамере под давлением кислорода 5 АТА (группа 11, $n = 4$) и в группе крыс (группа 12, $n = 5$), которым за 30 мин до ГБО₂-экспозиции внутрибрюшинно вводили паргилин (25 мг/кг).

Для статистического анализа с применением программы SigmaPlot 13.0 (Systat Software, Inc., San Jose, США) использовали значения латентного периода появления гипероксических судорог, а также величины каталитической активности MAO и мозгового кровотока. Однофакторный дисперсион-

ный анализ применяли для сравнения латентных периодов судорожных реакций у животных первой серии опытов. Двухфакторный дисперсионный анализ использовали для определения эффектов ГБО₂ и MAO-ингибиторов на мозговой кровоток. Для выявления достоверности отличий использовали парный *t*-критерий с поправкой Бонферрони для множественных сравнений. Все данные представлены как $M \pm SEM$, статистически значимые изменения принимались при уровне $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Моторные проявления гипероксических судорог

У животных, которым не вводили препараты, в период ГБО₂ появлялись характерные двигательные нарушения, разделенные нами на 4 стадии в соответствии с известной шкалой интенсивности судорожной активности [20]. В первые 10–15 мин гипероксической экспозиции животные оставались неподвижными, затем у них появлялся интенсивный груминг, единичные встряхивания головы и передних лап (стадия 1). Стадия 2 характеризовалась усиливающимися сокращениями мышц головы и передних конечностей продолжительностью 3–15 сек с последующим повторением. На стадии 3 у животных появлялись сокращения мышц всего тела продолжительностью до 20 сек, при этом животные вставали на задние лапы и пятились назад. На стадии 4 у крыс развивались генерализованные клонические или тонические судороги, которые сопровождалась острыми нарушениями сердечной деятельности и внешнего дыхания.

Стадийное развитие судорожного синдрома в ГБО₂ сохранялось у животных, которым предварительно вводили пиразидол или паргилин. При введении пиразидола в дозе 10, 25 и 100 мг/кг латентный период развития 4-й стадии судорожного синдрома максимально удлинялся по сравнению с таковым для контрольных животных при дозе 25 мг/кг (рис. 1а). Паргилин в дозе 25 мг/кг также статистически значимо увеличивал время появления судорог по сравнению с контрольной группой животных. Противосудорожная активность обоих ингибиторов, введенных в равных дозах, была одинаковой. Введение пропранолола максимально предотвращало развитие гипербарических кислородных судорог (рис. 1б).

Влияние пиразидола и паргилина на активность MAO

У контрольной группы крыс кислород под давлением 5 АТА достоверно понижал активность MAO (субстрат норадреналин) в коре и гипоталамусе, но повышал в стриатуме. У животных с предваритель-

ным введением пиразидола в дозе 10 или 25 мг/кг и последующей экспозицией в ГБО₂ было выявлено дальнейшее снижение активности MAO во всех трёх структурах ($p < 0.05$). При увеличении дозы препарата до 100 мг/кг отмечали снижение активности MAO в коре, тогда как в стриатуме и гипоталамусе активность фермента уменьшалась недостоверно по отношению к значениям, измеренным при дыхании воздухом (рис. 2). Активность MAO в теменной коре крыс при введении паргилина и экспозиции животных в кислороде под давлением 5 АТА понижалась примерно на 30% и составляла в среднем $69 \pm 4.8\%$ по отношению к контролю.

Мозговой кровоток при ингибировании MAO

Абсолютная величина кровотока в стриатуме головного мозга крыс при дыхании воздухом составляла 81 ± 6.3 мл/мин/100 г мозга. Введение пиразидола этим животным вызывало понижение кровотока в

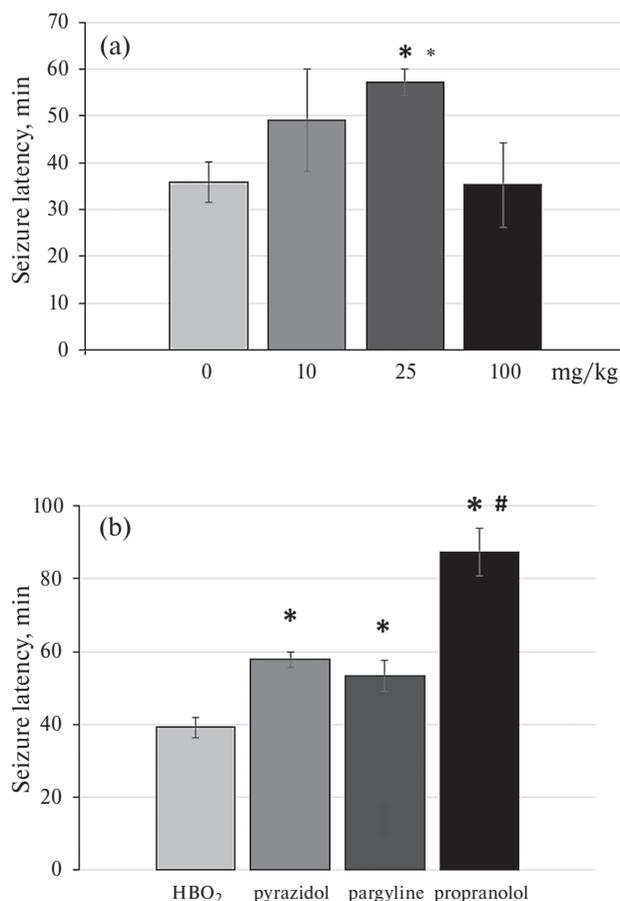


Рис. 1. Латентный период развития 4-й стадии судорог у крыс при дыхании кислородом под давлением 5 АТА после введения ингибиторов MAO: (а) — после введения различных доз пиразидола (мг/кг), * $p < 0.05$ по отношению к контролю (введение физраствора); (б) — при введении пиразидола (25 мг/кг), паргилина (25 мг/кг), пропранолола (5 мг/кг). * $p < 0.05$ по отношению к ГБО₂, # $p < 0.05$ по отношению к пиразидолу и паргилину.

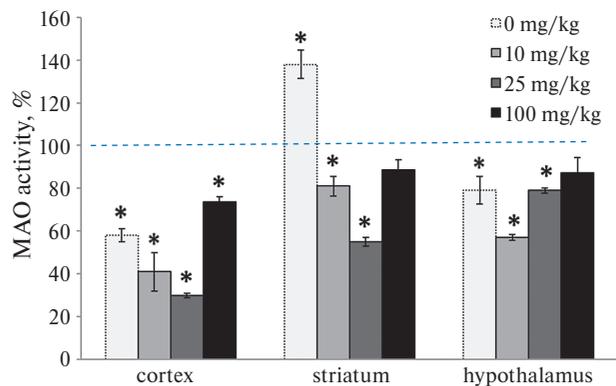


Рис. 2. Изменение активности MAO в структурах мозга крыс после их экспозиции в гипербарическом кислороде под давлением 5 АТА с предварительным введением различных доз пиразидола. * $p < 0.05$ по отношению к активности MAO при дыхании воздухом (пунктирная линия).

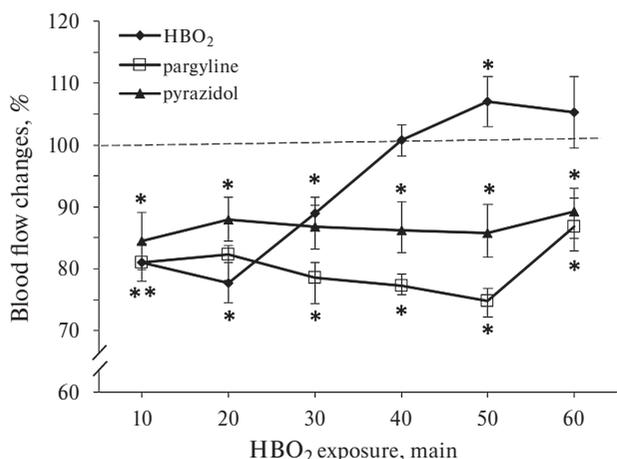


Рис. 3. Изменение кровотока в стриатуме крыс при дыхании кислородом под давлением 5 АТА после введения паргилина (25 мг/кг) и пиразидола (25 мг/кг). * $p < 0.05$ по отношению к кровотоку при дыхании воздухом (пунктирная линия).

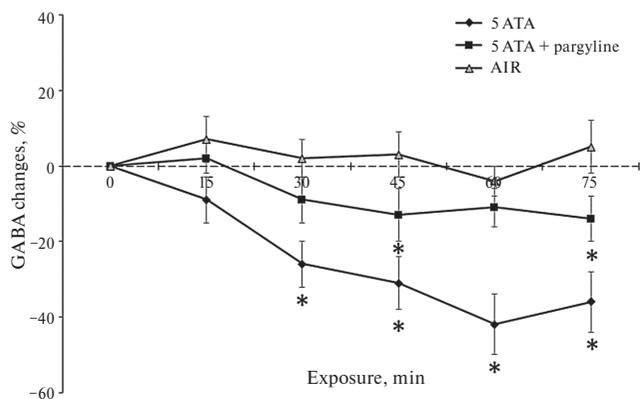


Рис. 4. Влияние ингибирования MAO-B с помощью паргилина (25 мг/кг) на содержание ГАМК в стриатуме крыс при дыхании гипербарическим кислородом. * $p < 0.05$ по отношению к значениям ГАМК при дыхании воздухом (пунктирная линия).

стриатуме на 5–13 % в ходе 60-минутных измерений. Во время ГБО₂-экспозиции наблюдались фазные изменения кровотока в стриатуме: понижение в первые 30 мин с последующим повышением перед появлением генерализованных судорог (рис. 3). В группе животных, которым вводили пиразидол в дозе 25 мг/кг с последующей экспозицией в барокамере под повышенным давлением кислорода, наблюдалась только первая фаза снижения кровотока, а церебральная гиперемия не проявлялась. Предварительное введение паргилина в дозе 25 мг/кг также предотвращало развитие гиперемии в мозге животных во время ГБО₂-экспозиции (рис. 3).

У наркотизированных животных моторных судорожных проявлений в ГБО₂ не наблюдалось, но на ЭКОГ появлялись повторяющиеся эпилептиформные спайки через 67 ± 7.7 мин после начала кислородной экспозиции при давлении 5 АТА. Относительные значения мощностей для дельта- и тета-частотных диапазонов ЭКОГ возрастали на 35 и 78 % соответственно по отношению к контрольным величинам.

Концентрация ГАМК в стриатуме наркотизированных крыс при дыхании атмосферным воздухом составляла 0.073 ± 0.068 мкмоль/л. Контрольный уровень ГАМК сохранялся на протяжении 75 мин измерений. У животных в ГБО₂ с интактной MAO уровень ГАМК постепенно снижался, достигая величины $42 \pm 8.3\%$ от контрольного значения при дыхании воздухом. После внутрибрюшинного введения крысам паргилина в дозе 25 мг/кг с последующей их экспозицией в ГБО₂ уровень внеклеточной ГАМК в стриатуме приближался к значениям, полученным при дыхании воздухом (рис. 4).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В настоящей работе получены новые данные, указывающие на причастность MAO к развитию судорожной активности головного мозга в условиях гипербарической гипероксии. В частности, установлено, что дыхание кислородом под давлением 5 АТА приводило к развитию судорог и разнонаправленным изменениям активности MAO в мозге крыс: достоверному снижению в коре и гипоталамусе, и повышению в стриатуме. Далее, при ингибировании MAO-A с помощью пиразидола или MAO-B с помощью паргилина активность фермента снижалась во всех исследуемых мозговых структурах, а развитие судорог заметно ослаблялось. И еще, у животных в ГБО₂ мозговая ГАМК снижалась, а при ингибировании MAO с помощью паргилина внеклеточная ГАМК в стриатуме оставалась на уровне контрольных значений.

Полученные результаты позволяют провести валидацию обсуждаемых в литературе механизмов вовлечения MAO в развитие ГБО₂-опосредо-

ванной судорожной активности головного мозга. Один из таких механизмов связывается с изменениями активности MAO в гипероксической среде. Выявленное в настоящей работе понижение активности фермента в коре и гипоталамусе после пребывания животных в ГБО₂ согласуется с результатами другого исследования, показавшего понижение активности MAO в митохондриальной фракции целого мозга крыс после их экспозиции в гипербарическом кислороде [11]. Вместе с тем, в настоящей работе одновременно со снижением активности MAO выявлено повышение каталитических свойств фермента в стриатуме мозга крыс после их пребывания в гипероксической среде под давлением 5 АТА. Основываясь на этих данных логично допустить, что появление гипероксических судорог зависит от направленности изменений активности MAO в определенных мозговых структурах. Системное ингибирование фермента с помощью пиразидола или паргилина перед ГБО₂-экспозицией приводило к понижению активности MAO во всех исследуемых структурах мозга и замедляло появление судорог. Это означает, что умеренное снижение активности MAO в ГБО₂ напрямую не является причиной развития гипероксических судорог или, по меньшей мере, пониженного уровня активности фермента недостаточно для их развития. При этом следует отметить, что противосудорожные эффекты пиразидола и паргилина одинаковы, когда ингибиторы сравнивались в равных дозах, а для оценки активности фермента в обоих случаях использовали норадреналин. Это указывает на то, что в норадренергической системе мозга существуют разные мишени для подавления или предупреждения гипербарических кислородных судорог. Доказательством этому служит тот факт, что противосудорожное действие пропранолола в наших опытах оказалось значительно сильнее, чем у двух ингибиторов MAO (рис. 1).

Другим, обсуждаемым в литературе, механизмом вовлечения MAO в развитие гипероксических судорог является возможное участие в их патогенезе перекиси водорода и аммиака — конечных продуктов окислительного дезаминирования моноаминов [21]. Действительно, уровень H₂O₂ в головном мозге повышается в условиях гипербарической гипероксии [9, 22]. Однако причастность MAO к увеличению внеклеточного уровня H₂O₂ неочевидна, так как по нашим данным и результатам других исследований [11] каталитическая активность фермента подавляется в гипербарической гипероксии, а значит и уровень конечных продуктов дезаминирования нейромедиаторов должен понижаться. Выявленное повышение уровня экстраклеточной H₂O₂ в мозге [9, 22], вероятнее всего, связано с биотрансформацией супероксидных анионов, генерация ко-

торых в условиях гипероксии значительно усиливается [23–25].

Следующим потенциальным механизмом участия MAO в развитии гипероксических судорог может быть усиление функции адренергической системы в мозге за счет повышения уровня катехоламинов [26]. В настоящей работе мы не измеряли уровень мозгового норадреналина, но, используя его в качестве субстрата для определения активности MAO в мозге, получили результаты, предполагающие повышение уровня катехоламинов, по меньшей мере в коре и гипоталамусе. Если ингибирование MAO ведет к повышению уровня норадреналина, то это может приводить к возрастанию функциональной активности адренергической системы в мозге и, в целом, к гиперактивации всей симпатoadреналовой системы [27, 28]. Подтверждением этому является усиление симпатической активности и повышение содержания норадреналина в плазме крови крыс, у которых наблюдались судороги в гипероксии под давлением 5 АТА [29]. Противосудорожное действие норадреналина показано и на других экспериментальных моделях эпилепсии [27].

Косвенным доказательством причастности норадреналина к развитию судорог является противосудорожное действие блокаторов норадренергических рецепторов в мозге [4]. Так как норадренергическая система оказывает тормозящее действие на функцию ГАМК-ергических нейронов мозга, повышение ее активности может приводить к релаксированию и усилению процессов возбуждения в центральной нервной системе и, как следствие, к возникновению у животных судорожной активности. Однако следует отметить, что блокада не всех типов адренорецепторов приводит к противосудорожному эффекту. В частности, малоэффективным противосудорожным эффектом обладал фентоламин — неселективный блокатор α1- и α2- рецепторов, а прозапин — селективный блокатор α1 вообще не оказывал действия на развитие судорог у крыс в гипербарическом кислороде [5]. Важно также отметить, что ингибирование обеих изоформ моноаминоксидазы приводило к увеличению внеклеточной концентрации дофамина и 3-метокситирамина при нормобарической гипероксии [30]. В больших концентрациях дофамин стимулирует α- и β-адренорецепторы и это действие связано с его способностью высвобождать норадреналин из гранулярных пресинаптических депо, то есть оказывать не прямое адреномиметическое действие [31].

При существовании множества доказательств активации норадренергической системы в генезе гипербарических кислородных судорог, имеются данные о дефиците норадреналина, приводящем к развитию эпилептических судорог. Так, из клиники известно о снижении уровня норадреналина у па-

циентов с височной эпилепсией [32]. В настоящей работе выявлено повышение активности MAO в стриатуме крыс при их экспозиции в ГБО₂. Можно предположить, что следствием активации фермента в стриатуме может быть снижение уровня норадреналина в этой структуре. Однако из-за отсутствия прямых его измерений, как в настоящей работе, так в других исследованиях, не представляется возможным однозначно считать причиной развития кислородных судорог понижение уровня этого нейромедиатора в стриатуме. Следует лишь упомянуть, что снижение уровня другого катехоламина — дофамина в стриатуме наблюдалось у крыс во время их экспозиции в гипербарическом кислороде [33]. При всей привлекательности гипотезы о вовлечении катехоламинов в развитие гипероксических судорог, результаты настоящей работы являются косвенным доказательством участия MAO в нарушении норадренергической передачи, приводящем к судорожному синдрому. До сих пор неизвестны ни уровень катехоламинов, ни их динамика в разных структурах мозга при развитии патологической реакции на экстремальную гипероксию.

Еще один потенциальный механизм вовлечения MAO в развитие кислородных судорог может базироваться на том, что подавление каталитической активности MAO в ГБО₂ сопровождается появлением качественно новых реакций дезаминирования азотистых соединений, не относящихся к моноаминам. Некоторые аминокислоты, такие, как лизин и ГАМК, являются субстратами для химически модифицированной MAO [34]. Качественная модификация мембраносвязанного MAO обычно наблюдается в экспериментальных условиях, вызывающих стимуляцию перекисного окисления липидов (ПОЛ) в биомембранах и окисление SH-групп в составе фермента-белка [12]. Условия экстремальной гипероксии являются идеальными для биотрансформации MAO, так как характеризуются выраженными реакциями ПОЛ, окислением или S-нитрозилированием различных белков, в том числе и ферментов [35]. Результаты исследований подтверждают ранее полученные данные [11] и гипотезу о том, что трансформированная в гипероксии MAO дезаминирует ГАМК, что приводит к снижению ее внеклеточного содержания и развитию судорог. В наших опытах паргилин, ингибируя MAO, ослабляет скорость дезаминирования ГАМК и поддерживает ее на уровне, достаточном для противодействия развитию гипероксических судорог.

Таким образом, валидация предполагаемых механизмов вовлечения MAO в развитие гипербарических кислородных судорог свидетельствует о том, что MAO играет важную роль в регулировании эпилептогенеза в экстремальной гипероксии. Гипербарический кислород, ингибируя каталитическую

активность MAO путем трансформации ее молекулярной структуры, приводит к нарушению регуляции обмена моноаминовых нейротрансмиттеров и понижению уровня ГАМК в мозге, что в совокупности ведет к дисбалансу процессов возбуждения/торможения в ЦНС, приводящему к развитию кислородной эпилепсии.

ВКЛАДЫ АВТОРОВ

Идея работы и дизайн эксперимента (И.Т.Д.), постановка экспериментов (С.Ю.Ж., Т.Ф.П., И.Н.Б.), сбор данных (С.Ю.Ж., Т.Ф.П., Н.А.Г., И.Н.Б., О.С.А.), обработка данных (И.Т.Д., С.Ю.Ж., Н.А.Г., И.Н.Б., О.С.А.), написание и редактирование текста (И.Т.Д., О.С.А., С.Ю.Ж., Н.А.Г.).

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена в рамках государственного задания ИЭФБ РАН (рег. № 075-00264-24-00).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены. Все процедуры, выполненные в исследованиях с участием животных, соответствовали этическим стандартам, утвержденным правовыми актами РФ, принципам Базельской декларации и рекомендациям Комиссии по биоэтике ИЭФБ РАН (протокол № 1-12/2022 от 27.01.2022 г.).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Zal'tsman GL* (1968) Стадии развития кислородной эпилепсии и функциональное состояние нервной системы. В кн. Гипербарические эпилепсия и наркоз. Л. Наука. С. 129–136. [*Zal'tsman GL* (1968) Stages of formation of oxygen-induced epilepsy and the functional state of the nervous system. In: *Hyperbaric Epilepsy and Narcosis: Neurophysiological Studies* (in Russian with English abstracts). *Zal'tsman GL* (ed.). Nauka. Leningrad, pp. 129–136.]
2. *Bean JW, Zee D, Thom B* (1966) Pulmonary changes with convulsions induced by drugs and oxygen at high pressure. *J Appl Physiol* 21(3): 865–872. <https://doi.org/10.1152/jappl.1966.21.3.865>
3. *Dean JB, Mulkey DK, Henderson RA 3rd, Potter SJ, Putnam RW* (2004) Hyperoxia, reactive oxygen species, and hyperventilation: oxygen sensitivity of brain stem neurons. *J Appl Physiol* (1985) 96(2): 784–791. <https://doi.org/10.1152/japplphysiol.00892.2003>
4. *Gasier HG, Demchenko IT, Zhilyaev SY, Moskvina AN, Krivchenko AI, Piantadosi CA* (2018) Adrenoceptor blockade modifies regional cerebral blood flow responses to hy-

- perbaric hyperoxia: protection against CNS oxygen toxicity. *J Appl Physiol* (1985) 125(4): 1296–1304. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00540.2018>
5. *Platonova TF, Alekseeva OS, Nikitina ER, Demchenko IT* (2020) Blockade of Brain Adrenoreceptors Delays Seizure Development during Hyperbaric Oxygen Breathing. *J Evol Biochem Phys* 56(5): 425–433. <https://doi.org/10.1134/S0022093020050051>
 6. *Glover V, Gibb C, Sandler M* (1986) The role of MAO in MPTP toxicity. *J Neural Transm Suppl* 20: 65–76.
 7. *Knoll J* (1978) On the dual nature of monoamine oxidase. *Horiz Biochem Biophys* 5: 37–64.
 8. *Magyar K* (1993) Pharmacology of monoamine oxidase type B inhibitors. In: *Inhibitors of Monoamine Oxidase B. Pharmacology and Clinical Use in Neurodegenerative Disorders* (ed. Szelenyi I) Birkhauser, Basel 125–143.
 9. *Yusa T, Beckman JS, Crapo JD, Freeman BA* (1987) Hyperoxia increases H₂O₂ production by brain in vivo. *J Appl Physiol* (1985) 63(1): 353–358. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.1987.63.1.353>. PMID: 362413
 10. *Demchenko IT, Zhilyaev SY, Moskvina AN, Piantadosi CA, Allen BW* (2010) Autonomic activation links CNS oxygen toxicity to acute cardiogenic pulmonary injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 300(1): L102–111. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00178.2010>
 11. *Горошинская ИА, Кричевская АА, Шугалей ВС, Шерстнев КБ, Баламирзоева РМ* (1986) Активность моноаминоксидазы и уровень гамма-аминомасляной кислоты при гипероксии, влияние хлоргидрата. *Вопросы медицинской химии* 32(2): 76–79. [*Goroshinskaya IA, Krichevskaya AA, Shugalei VS, Sherstnev KB, Balamirzoeva RM* (1986) Monoamine oxidase activity and gamma-aminobutyric acid levels in hyperoxia. The effect of clorgyline. *Vopr Med Khim* 32(2): 76–79.]
 12. *Medvedev AE, Rajgorodskaya DI, Gorkin VZ, Fedotova IB, Semiokhina AF* (1992) The role of lipid peroxidation in the possible involvement of membrane-bound monoamine oxidases in gamma-aminobutyric acid and glucosamine deamination in rat brain. Focus on chemical pathogenesis of experimental audiogenic epilepsy. *Mol Chem Neuro-pathol* 16(1–2): 187–201. <https://doi.org/10.1007/BF03159969>
 13. *Bruhwyler J, Liégeois JF* (1997) Pirlindole: a selective reversible inhibitor of monoamine oxidase A. A review of its preclinical properties. *Géchy J Pharmacol Res* 36(1): 23–33. <https://doi.org/10.1006/phrs.1997.0196>
 14. *Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ* (1951) Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193(1): 265–275.
 15. *Северина ИС* (1979) О возможном механизме избирательного торможения хлоргидрином и депренилом активности митохондриальной моноаминоксидазы печени крыс. *Биохимия* 44(2): 195–207. [*Severina IS* (1979) Possible mechanism of selective inhibition of rat liver mitochondrial monoamine oxidase by chlorgiline and deprenyl. *Biokhimiia*. 44(2): 195–207. (In Russ)].
 16. *Стрелков РБ* (1967) К модификации методики изотермической перегонки аммиака. Лабораторное дело. 1: 17–19. [*Strelkov RB* (1967) On the modification of the method of isothermic sublimation of ammonia. *Lab Delo*. 1: 17–19. (In Russ)].
 17. *Zhang J, Piantadosi CA* (1991) Prevention of H₂O₂ generation by monoamine oxidase protects against CNS O₂ toxicity. *J Appl Physiol* (1985) 71(3): 1057–1061. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.1991.71.3.1057>
 18. *Paxinos G, Watson C* (2005) *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. Boston, MA: Elsevier.
 19. *Demchenko IT, Luchakov YuI, Moskvina AN, Gutsaeva DR, Allen BW, Thalmann ED, Piantadosi CA* (2005) Cerebral blood flow and brainoxygenation in rats breathing oxygen under pressure. *J Cereb Blood Flow Metab* 25(10): 1288–1300. <https://doi.org/10.1038/sj.jcbfm.9600110>
 20. *Racine RJ* (1972) Modification of seizure activity by electrical stimulation. II. Motor seizure. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 32(3): 281–294. [https://doi.org/10.1016/0013-4694\(72\)90177-0](https://doi.org/10.1016/0013-4694(72)90177-0)
 21. *Faiman MD, Nolan RJ, Baxter CF, Dodd DE* (1977) Brain gamma-aminobutyric acid, glutamic acid decarboxylase, glutamate, and ammonia in mice during hyperbaric oxygenation. *J Neurochem* 28(4): 861–865. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1977.tb10640.x>
 22. *Piantadosi CA, Tatro LG* (1990) Regional H₂O₂ concentration in rat brain after hyperoxic convulsions. *J Appl Physiol* (1985) 69(5): 1761–1766. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.1990.69.5.1761>
 23. *D'Agostino DP, Putnam RW, Dean JB* (2007) Superoxide ($\cdot\text{O}_2^-$) production in CA1 neurons of rat hippocampal slices exposed to graded levels of oxygen. *J Neurophysiol* 98(2): 1030–1041. <https://doi.org/10.1152/jn.01003.2006>
 24. *Ciarlone GE, Dean JB* (2016) Normobaric hyperoxia stimulates superoxide and nitric oxide production in the caudal solitary complex of rat brain slices. *Am J Physiol Cell Physiol* 311(6): C1014–C1026. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00160.2016>
 25. *Oury TD, Ho YS, Piantadosi CA, Crapo JD* (1992) Extracellular superoxide dismutase, nitric oxide, and central nervous system O₂ toxicity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 89(20): 9715–9719. <https://doi.org/10.1073/pnas.89.20.9715>
 26. *Arai M, Takata K, Takeda Y, Mizobuchi S, Morita K* (2011) The excitement of multiple noradrenergic cell groups in the rat brain related to hyperbaric oxygen seizure. *Acta Med Okayama* 65(3): 163–168. <https://doi.org/10.18926/AMO/46627> PMID: 21709713
 27. *Fitzgerald PJ* (2010) Is elevated norepinephrine an etiological factor in some cases of epilepsy? *Seizure* 19(6): 311–318. <https://doi.org/10.1016/j.seizure.2010.04.011>
 28. *Finberg JP* (2014) Update on the pharmacology of selective inhibitors of MAO-A and MAO-B: focus on modulation of CNS monoamine neurotransmitter release. *Pharmacol Ther* 143(2): 133–152. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2014.02.010>
 29. *Demchenko IT, Zhilyaev SY, Moskvina AN, Piantadosi CA, Allen BW* (2011) Autonomic activation links CNS oxygen

- toxicity to acute cardiogenic pulmonary injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 300(1): L102–111. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00178.2010>
30. Adachi YU, Watanabe K, Hideyuki Higuchi H, Tetsuo Satoh T, Vizi ES (2001) Oxygen inhalation enhances striatal dopamine metabolism and monoamineoxidase enzyme inhibition prevents it: a microdialysis study. *Eur J Pharmacol* 422(1-3): 61–68. [https://doi.org/10.1016/s0014-2999\(01\)01074-3](https://doi.org/10.1016/s0014-2999(01)01074-3)
31. Cho HU, Kim S, Sim J, Yang S, An H, Nam MH, Jang DP, Lee CJ (2021) Redefining differential roles of MAO-A in dopamine degradation and MAO-B in tonic GABA synthesis. *Exp Mol Med* 53(7): 1148–1158. <https://doi.org/10.1038/s12276-021-00646-3>
32. Pacia SV, Doyle WK, Broderick PA (2001) Biogenic amines in the human neocortex in patients with neocortical and mesial temporal lobe epilepsy: identification with in situ microvoltammetry. *Brain Res* 899(1-2): 106–111. [https://doi.org/10.1016/s0006-8993\(01\)02214-4](https://doi.org/10.1016/s0006-8993(01)02214-4)
33. Lavoute C, Weiss M, Risso JJ, Rostain JC (2014) Alteration of striatal dopamine levels under various partial pressure of oxygen in pre-convulsive and convulsive phases in freely-moving rats. *Neurochem Res* 39(2): 287–294. <https://doi.org/10.1007/s11064-013-1220-z>
34. Gorkin VZ (1985) Studies on the nature and specific inhibition of monoamine oxidases. In *Neuropharmacology 85* (eds. Kelemen K, Magyar K, Vizi ES). Akademiai Kiado, Budapest 9–14.
35. Hess DT, Stamler JS (2012) Regulation by S-nitrosylation of protein post-translational modification. *J Biol Chem* 287(7): 4411–4418. <https://doi.org/10.1074/jbc.R111.285742>

MECHANISMS OF MONOAMINE OXIDASE INVOLVEMENT IN THE DEVELOPMENT OF HYPERBARIC OXYGEN SEIZURES

S. Yu. Zhilyaev^a, I. N. Basova^a, T. F. Platonova^a, O. S. Alekseeva^{a, #},
N. A. Gavrishva^b and I. T. Demchenko^a

^a *Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry
of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia*

^b *Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russia*

[#] *e-mail: osa72@inbox.ru*

Hyperbaric oxygen (HBO₂) breathing induces generalized tonic and clonic seizures through poorly understood mechanisms. The purpose of the research was to evaluate the mechanisms of involvement of monoamine oxidase (MAO) in the development of hyperbaric oxygen convulsions. In rats placed in a pressure chamber under an oxygen pressure of 5 ATA, convulsive reactions were analyzed after the administration of pyrazidol, an MAO-A inhibitor, and pargyline, an MAO-B inhibitor. Studies have shown a decrease in the activity of MAO isoforms in HBO₂ as well as a delay in the development of seizures in animals with inhibition of MAO-A and MAO-B. The level of GABA in the brain decreased with HBO₂, and inhibition of MAO-B with pargyline prevented the decrease in the inhibitory transmitter. The results indicate that MAO isoforms play an important role in regulating epileptogenesis in extreme hyperoxia. Hyperbaric oxygen, inhibiting the catalytic activity of MAO by transforming its molecular structure, leads to disruption of the regulation of the exchange of monoamine neurotransmitters and a decrease in the level of GABA in the brain, which together leads to an imbalance of excitation/inhibition processes in the central nervous system, which is the basis for the development of oxygen epilepsy.

Keywords: hyperbaric oxygen, convulsions, adrenergic system, monoamine oxidase, pyrazidol, pargyline