

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<sup>1,\*</sup>, П. Н. Савилов<sup>2</sup>, В. Н. Яковлев<sup>3</sup>, Е. В. Дорохов<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Москва, Россия

<sup>2</sup> Тамбовское областное государственное бюджетное учреждение “Тамбовская ЦРБ”, Тамбов, Россия

<sup>3</sup> 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 хемилюминесцентным 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 КС1 (15–20 мл), извлекали на льду, выделяли ствол, мозжечок и большие полушария. Ткань гомогенизировали в растворе трис-НС1 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 ( $p < 0.05$ ; табл. 1).

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 се-

ансов ( $p < 0.05$ ; табл. 1). Показатели при этом оставались в пределах контрольного уровня (табл. 1).

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% ( $p < 0.05$ , табл. 1).

### ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно данным литературы, установлена прямая зависимость между активностью СОД и скоростью образования супероксиданион-радикала ( $O_2^{\cdot-}$ ) [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  $O_2^{\cdot-}$  [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 по-

требления кислорода дыхательной цепью митохондрий 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 aviacionnoy medicine dlya vosstanovleniya zdorov'ya i reabilitatsii 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 gipoksicheskoy trenirovki i giperbaricheskoy 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 хемилюминесцентного 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 kryс pri giperbaricheskoy 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<sup>a, #</sup>, P. N. Savilov<sup>b</sup>, V. N. Yakovlev<sup>c</sup>, and E. V. Dorokhov<sup>c</sup>

<sup>a</sup> I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia

<sup>b</sup> Tambov Central Regional Hospital, Tambov, Russia

<sup>c</sup> N.N. Burdenko Voronezh State Medical University, Voronezh, Russia

<sup>#</sup>e-mail: yaroslava.v.bulgakova@mail.ru

Our study addresses the effect of multiple sessions of hyperbaric oxygenation (HBO) (2 ATA, 50 minutes, 1 session per day) on superoxide dismutase (SOD) activity as determined by a chemiluminescent method in the phylogenetically heterogeneous brain structures (brain stem, cerebellum, cerebral hemispheres) of white rats. A study of intact animals (series 1, control) revealed no statistically significant differences in SOD activity between these structures. One HBO session (series 2) stimulated SOD activity in all the brain structures: in the hemispheres, cerebellum and stem by 41, 31 and 66% vs. control, respectively ( $p < 0.05$ ). After five HBO sessions (series 3), the SOD response intensity in the brain stem exceeded that in the other structures ( $p < 0.05$ ) and increased by 187% vs. control ( $p < 0.001$ ). A continuation of oxygenation up to ten sessions (series 4) was accompanied by a normalization of SOD activity. After eighteen HBO sessions (series 5), the SOD activity level in the cerebellum and cerebral hemispheres somewhat increased compared to the 10th HBO session, although remained closer to the values of the control group than to those of the brain stem. In this brain structure, the SOD activation level exceeded the intact organism's values by 46% ( $p < 0.05$ ).

**Keywords:** hyperbaric oxygenation, superoxide dismutase, brain