

## РОЛЬ ГЛУТАМАТЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ В МЕХАНИЗМЕ РАЗВИТИЯ СУДОРОГ ПРИ ДЕЙСТВИИ ГИПЕРБАРИЧЕСКОГО КИСЛОРОДА

О. С. Алексеева

Институт эволюционной физиологии и биохимии имени И. М. Сеченова Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия

*Целью* научной статьи являлось изучение нейрофизиологических механизмов возникновения судорожной активности при дыхании кислородом под повышенным давлением в условиях гипербарической оксигенации и роли глутаматергической системы в этом процессе.

*Материалы и методы исследования.* В работе были использованы крысы линии Вистар, самцы массой 200–250 г в количестве 20 шт. Животных размещали в барокамере и проводили компрессию медицинским кислородом до 5 ата. Во время компрессии и в ходе последующей экспозиции у животных регистрировали поведенческие реакции и признаки судорожной активности. Двум экспериментальным группам предварительно, за 6 часов до компрессии, вводили ингибитор глутаминсинтазы в различных концентрациях.

*Результаты и их обсуждение.* Показано, что необратимое ингибирование глутаминсинтазы в мозге крыс при действии повышенного давления кислорода приводит к значительному уменьшению латентного периода развития судорог.

**Ключевые слова:** морская медицина, головной мозг, гипербарическая оксигенация, кислородные судороги, глутаматергическая система

Контакт: Алексеева Ольга Сергеевна, [osa72@inbox.ru](mailto:osa72@inbox.ru)

© Alekseeva O.S., 2022

## THE ROLE OF THE GLUTAMATERGIC SYSTEM IN THE MECHANISM OF DEVELOPMENT OF HYPERBARIC OXYGEN SEIZURES

Olga S. Alekseeva

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

*The purpose of the scientific article* was to study the neurophysiological mechanisms of the occurrence of convulsive activity when breathing oxygen under high pressure under conditions of hyperbaric oxygen and the role of the glutamatergic system in this process.

*Research methods:* Wistar rats, males, weighing 200–250 g. in the amount of 20 were used in the work. The animals were placed in a pressure chamber and compressed with medical oxygen up to 5 ATA. Behavioral reactions and signs of convulsive activity were recorded in animals during compression and during subsequent exposure. Two experimental groups were previously injected with a glutamine synthetase inhibitor at various concentrations 6 hours before compression.

*The main results* showed that irreversible inhibition of glutamine synthetase in the rat brain under the action of increased oxygen pressure led to a significant decrease in the latent period of convulsions.

**Key words:** marine medicine, diving medicine, military diver, diving descents, physical indicators, decompression gas formation

Contact: Alekseeva Olga Sergeevna, [osa72@inbox.ru](mailto:osa72@inbox.ru)

**Конфликт интересов:** авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

**Для цитирования:** Алексеева О.С. Роль глутаматергической системы в механизме развития судорог при действии гипербарического кислорода // *Морская медицина*. 2022. Т. 8, № 1. С. 56–60, doi: <http://dx.doi.org/10.22328/2413-5747-2022-8-1-56-60>.

**Conflict of interest:** the authors stated that there is no potential conflict of interest.

**For citation:** Alekseeva O.S. The role of the glutamatergic system in the mechanism of development of hyperbaric oxygen seizures // *Marine medicine*. 2022. Vol. 8, No. 1. P. 56–60, doi: <http://dx.doi.org/10.22328/2413-5747-2022-8-1-56-60>.

**Введение.** Кислород под повышенным давлением, или гипербарический кислород ( $\text{ГБО}_2$ ) широко используется в клинике, при проведении водолазных работ, для подводных погружений. Ограничивающим фактором применения гипербарического кислорода является его токсическое действие на ЦНС, которое проявляется эпилептиформной активностью на электроэнцефалограмме и мышечными судорогами. Причиной развития кислородных судорог может быть нарушение проведения тормозных или возбуждающих влияний в центральной нервной системе, а также баланса между ними при дыхании кислородом под повышенным давлением из-за значительного увеличения пула активных форм кислорода и азота (АФКА), существенно возрастающих при экстремальной гипероксии [1, с. 169; 2, с. 1032]. Так как развитие судорог при гипероксии сопровождается выраженной активностью центральной нервной системы, стоит предполагать, что такой сдвиг может быть направлен на усиление позиций глутаматергической системы в общей нейромедиации. Угнетение же функции ГАМК-ергической системы подтверждается данными, свидетельствующими о снижении в мозге концентрации этого тормозного медиатора при  $\text{ГБО}_2$  [3, с. 303; 4, с. 287; 5, с. 296].

Известно, что глутамат является основным возбуждающим медиатором в нервной системе млекопитающих. Он выделяется в синаптическую щель, активирует постсинаптические рецепторы и с помощью транспортеров удаляется обратно в пресинаптический нейрон и глию, где специализированный фермент глутаминсинтетаза (GS) превращает его в глутамин. Этот фермент находится преимущественно в цитоплазме клеток астроглии, при этом максимальное его количество выявляется в отростках, расположенных в областях глутаматергических синапсов [6, с. 1357; 7, с. 758].

Многочисленными исследованиями показано достоверное снижение экспрессии гена или активности глутаминсинтетазы в мозге и повышение уровня глутамата у больных с такими патологическими расстройствами, как шизофрения, болезнь Альцгеймера, депрессия и эпилепсия [8, с. 95; 9, с. 3; 10, с. 974], а также у животных с моделями экспериментальных судорог [11, с. 15]. И хотя изменение содержания глутаминсинтетазы в мозге при гипероксии не изучено, вероятно, активность этого фермента может влиять на нейротрансмиттерную передачу и развитие судорог при гипероксии.

**Целью** нашего исследования являлось изучение влияния необратимого блокирования активности глутаминсинтетазы с помощью селективного ингибитора метионинсульфоксимины (L-Methionine sulfoximine, MSO), широко используемого в научных исследованиях, на скорость развития судорог у крыс при дыхании кислородом под повышенным давлением.

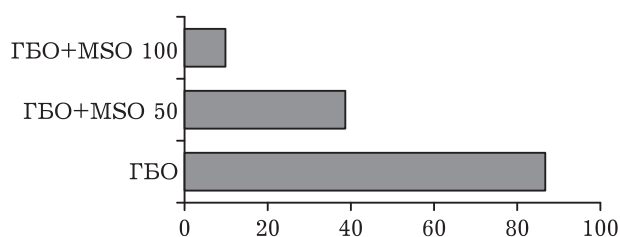
**Материалы и методы.** Исследования проводили на крысах-самцах линии Вистар ( $n=20$ ) массой 200–250 г. Содержание и использование животных в экспериментах осуществлялось в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приложение к приказу МЗ СССР № 755 от 12.08.1977 г.), Хельсинкской декларацией 1975 г. и ее пересмотренным вариантом 2000 г. Животных размещали в барокамере объемом 107 литров в свободном поведении.

Компрессию осуществляли медицинским кислородом до давления в камере 5 АТА (атмосфер абсолютных) со скоростью 1 АТА/мин. Экспозицию в камере в условиях гипербарии продолжали до появления у животных судорог или, при их отсутствии, в течение 100 минут. Двум группам экспериментальных животных за 6 часов до экспозиции под давлением кислорода внутривентриально вводили ингибитор глутаминсинтетазы L-Methionine sulfoximine (MSO) (L-S-(3-Amino-3-carboxypropyl)-S-methylsulfoximine, M5379 Sigma-Aldrich, США) в дозе 50 мг/кг или 100 мг/кг. Контрольная группа животных подвергалась компрессии кислородом без предварительной инъекции. Во время экспозиции под давлением у животных регистрировали поведенческие реакции, признаки судорожной активности. Декомпрессию проводили за 5–7 мин.

При статистической обработке использовали результаты измерения латентного периода появления моторных судорожных реакций у животных в течение экспозиции под повышенным давлением кислорода. Для количественной оценки развития судорожного синдрома была адаптирована известная шкала судорожных состояний, позволяющая разделить тяжесть приступов на стадии [12, с. 282]. Данные анализировали с применением дисперсионного анализа SigmaPlot 13.0 (Systat Software, Inc., San Jose, CA). Однофакторный дисперсионный анализ использовали для сравнения латентных периодов судорожных реакций при введении препарата и без него. Достоверность выявляли по парному

t-критерию Стьюдента. В качестве статистически значимых принимали значения  $p < 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** Проведенные исследования показали, что крысы контрольной группы (без введения препарата) в условиях действия повышенного давления кислорода проявляли различные паттерны моторной судорожной активности в определенной стадийной последовательности, которая уже была описана нами ранее [13, с. 513]. Она выражалась в первых признаках судорожной активности в виде интенсивного груминга, легкого потряхивания головы и передних лап на стадии 1. Далее следовала стадия 2 — локальные непроизвольные движения мышц продолжительностью 5–15 секунд, повторяющиеся через



**Рисунок.** Латентный период развития кислородных судорог (мин) при ГБО 5 ата у животных после предварительного введения MSO в дозах 50 и 100 мг/кг  
**Figure.** Mean values of seizure latency in rats pretreated with MSO at doses of 50 and 100 mg/kg and exposed to HBO<sub>2</sub> at 5 ATA

несколько минут. При продолжающейся экспозиции под повышенным давлением кислорода у крыс появлялись ритмические сокращения мышц всего тела продолжительностью 10–25 секунд, животные вставали на задние лапы и пятились назад. Эти признаки были отнесены к 3 стадии развития судорожной активности. И, наконец, на стадии 4 наблюдались генерализованные клонические или тонические судороги, регистрировалась тахикардия, гипервентиляция и другие признаки расстройств вегетативной нервной системы.

Животные, которым вводили препарат метионинсульфоксимин в дозах 50 или 100 мг/кг за 6 часов до ГБО<sub>2</sub>, демонстрировали в течение всего периода наблюдения до начала компрессии кислородом в барокамере отсутствие визуальных нарушений поведения и рефлексов позы. При экспозиции под повышенным давлением кислорода наибольший просудорожный эффект вызывал MSO в дозе 100 мг/кг. Судорожная активность у крыс с ингибированной GS развивалась со сменой тех же стадий, что и у контрольных животных, однако их появле-

ние заметно ускорялось по отношению к контрольным значениям (рисунок).

Исследования показали, что скорость развития судорожного синдрома в условиях действия повышенного давления кислорода зависит от активности глутаминсинтетазы, фермента, играющего ключевую роль в процессе глутаматергической нейротрансмиссии. Так, в контрольной группе крыс, подвергавшихся действию гипербарического кислорода без предварительного введения препарата MSO, продолжительность экспозиции до начала судорог составляла 87 мин, что вполне согласуется с данными литературы [14, с. 872]. Судороги у этих животных начинались с локальных миоклоний и заканчивались генерализованными конвульсиями. И вместе с тем животные, которым предварительно за 6 часов до экспозиции вводили MSO в различных дозах, демонстрировали ускорение развития судорожного синдрома (см. рисунок).

Точных данных об изменении активности GS в условиях действия гипербарического кислорода пока не получено. Косвенным подтверждением роли глутаматергической системы в развитии судорожного синдрома при ГБО могут служить данные о том, что ферментативная активность GS в мозге снижается при многих заболеваниях, включая эпилепсию с повышенной судорожной готовностью, вызываемой увеличением концентрации внеклеточного глутамата, что приводит к гиперактивации нейронов [9, с. 3].

Кроме того, известно, что метионинсульфоксимин вызывает необратимое ингибирование GS в головном мозге и при токсической дозе препарата 150–180 мг/кг судороги возникают у животных без дополнительных воздействий [15, с. 2064]. В наших исследованиях применение MSO в дозе 50 мг/кг вызывало уменьшение латентного периода развития судорог почти в 2 раза, а при дозе 100 мг/кг — в 8 раз по отношению к контрольной группе. Такая дозировка MSO (100 мг/кг) на 70% ингибирует активность глутаминсинтетазы через 6–8 часов после введения [16, с. 2682].

Несмотря на существенную роль GS в катализе превращения глутамата в глутамин и регуляции возбуждающих медиаторных процессов в ЦНС, модуляторы активности этого фермента мало изучены. Известно, что при постановке пентилентетразоловой модели судорог у крыс происходит нитрование GS в головном

мозге и снижение ее активности [17, с. 1745]. Из этого следует, что одной из причин развития кислородных судорог может быть ингибирование GS путем S-нитрозилирования входящего в ее состав цистеина [18, с. 5].

Таким образом, полученные данные свидетельствуют, что существенную роль в развитии кислородных судорог в условиях гипербарии играет глутаматергическая система через изменение активности фермента глутаминсинтетазы, служащего важнейшим звеном в механизме утилизации избытка возбуждающего нейромедиатора глутамата из синаптической щели.

**Заключение.** Исследование и разработка внутренних природных объектов страны имеет большое экономическое, биологическое и военное значение. Многие стратегические объекты являются водными, что подразумевает прове-

дение водолазных работ. Для комплексного решения проблемы сохранения здоровья, работоспособности и качества жизни водолазов необходимо применение новых методов и подходов, основанных на понимании механизмов развития патологии в условиях действия повышенного давления. Механизм одной из таких патологий — развитие судорожной активности при дыхании гипербарическим кислородом — авторы изучали в представленной работе и получили данные об роли глутаматергической системы в этих процессах. Результаты исследования могут служить основой для разработки новых подходов к организации глубоководных погружений, а также проведению лечебных сеансов гипербарической оксигенации.

*Работа выполнена в рамках государственного задания ИЭФБ РАН (рег. № 075-00408-21-00).*

### ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Demchenko I.T., Piantadosi C.A. Nitric oxide amplifies the excitatory to inhibitory neurotransmitter imbalance accelerating oxygen seizures // *Undersea Hyperb. Med.* 2006. Vol. 33, No. 3. P. 169–174.
2. D'Agostino D.P., Putnam R.W., Dean J.B. Superoxide ( $O_2^-$ ) production in CA1 neurons of rat hippocampal slices exposed to graded levels of oxygen // *J. Neurophysiol.* 2007. Vol. 98. P. 1030–1041.
3. Гершенович З.С., Кричевская А.А., Колоушек Я. Действие кислорода под давлением на активность глутаминсинтетазы в мозгу крыс // *Биохимия*. 1963. Т. 28, № 2. С. 303–307. Gershenovich Z.S., Krichevskaya A.A., Koloushek Ya. Dejstvie kisloroda pod davleniem na aktivnost' glutaminsintetazy v mozgu krysy // *Biohimiya*. 1963. T. 28, No. 2. S. 303–307. [Gershenovich Z.S., Krichevskaya A.A., Koloushek Ya. Effect of hyperbaric oxygen on the activity of glutamine synthetase in the brain of rats. *Biochemistry*, 1963, Vol. 28, No. 2, pp. 303–307 (In Russ)].
4. Mialon P., Gibey R., Bigot J.C., Barthelemy L. Changes in striatal and cortical amino acid and ammonia levels of rat brain after one hyperbaric oxygen-induced seizures // *Aviat. Space Environ. Med.* 1992. Vol. 63, No. 4. P. 287–291.
5. Wood J.D., Watson W.J. Protective action of gamma-aminobutyric acid against oxygen toxicity // *Nature*. 1962. Vol. 195. P. 296.
6. Martinez-Hernandez A., Bell K.P., Norenberg M.D. Glutamine synthetase: glial localization in brain // *Science*. 1977. Vol. 195. P.1356–1368.
7. Norenberg M.D. Distribution of glutamine synthetase in the rat central nervous system // *J. Histochem. Cytochem.* 1979. Vol. 27. P. 756–762.
8. Boksha I.S., Tereshkina E.B., Savushkina O.K., Prokhorova T.A., Vorobyeva E.A., Burbaeva G.Sh. Comparative Studies of Glutamine Synthetase Levels in the Brains of Patients with Schizophrenia and Mentally Healthy People // *Neurochemical Journal*. 2018. Vol. 12. P. 95–101.
9. Eid T., Tu N., Lee T.S., Lai J.C. Regulation of astrocyte glutamine synthetase in epilepsy // *Neurochem. Int.* 2013. Vol. 63, No. 7. P. 670–681.
10. Robinson S.R. Changes in the cellular distribution of glutamine synthetase in Alzheimer's disease // *J. Neurosci Res.* 2001. Vol. 66. P. 972–980.
11. Dutuit M., Didier-Bazes M., Vergnes M., Mutin M., Conjard A., Akaoka H., Belin M.F., Touret M. Specific alteration in the expression of glial fibrillary acidic protein, glutamate dehydrogenase, and glutamine synthetase in rats with genetic absence epilepsy // *Glia*. 2000. Vol. 32. P. 15–24.
12. Racine R.J. Modification of seizure activity by electrical stimulation. II. Motor seizure // *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*. 1972. Vol. 32, No. 3. P. 281–294.
13. Москвин А.Н., Платонова Т.Ф., Жилиев С.Ю., Алексеева О.С., Никитина Е.Р., Демченко И.Т. Блокада транспортеров гамма-аминомасляной кислоты в синапсах головного мозга предохраняет от развития судорог при дыхании кислородом под давлением // *Росс. физиол. журнал им. И. М. Сеченова*. 2019. Т. 105, № 4. С. 510–519. Moskvina A.N.,

- Platonova T.F., Zhilyaev S.Yu., Alekseeva O.S., Nikitina E.R., Demchenko I.T. Blokada transporterov gamma-aminomaslyanoj kisloty v sinapsah golovnogogo mozga predohranyaet ot razvitiya sudorog pri dyhanii kislorodom pod davleniem // *Ross. Fiziol. zhurnal im. I. M. Sechenova*. 2019. T. 105, No. 4. S. 510–519. [Moskvin A.N., Platonova T.Ph., Zhilyaev S.Yu., Alekseeva O.S., Nikitina E.R., Demchenko I.T. Blockade of  $\gamma$ -Aminobutyric Acid Transporters in Brain Synapses Protects Against Hyperbaric Oxygen-Induced Convulsions. *Neuroscience and Behavioral Physiology*, 2020, Vol. 50, No. 4, pp. 505–510 (In Russ.)].
14. Clark J.M., Lambertsen C.J., Gelfand R., Troxel A.B. Optimization of oxygen tolerance extension in rats by intermittent exposure // *J. Appl. Physiol.* 2006. Vol. 100, No. 3. P. 869–879.
15. Eid T., Ghosh A., Wang Y., Beckström H., Zaveri H.P., Lee T.S., Lai J.C., Malthankar-Phatak G.H., de Lanerolle N.C. Recurrent seizures and brain pathology after inhibition of glutamine synthetase in the hippocampus in rats // *Brain*. 2008. Vol. 131, Pt 8. P. 2061–2070.
16. Manning J.M., Moore S., Rowe W.B., Meister A. Identification of L-methionine S-sulfoximine as the diastereoisomer of L-methionine SR-sulfoximine that inhibits glutamine synthetase // *Biochemistry*. 1969. Vol. 8, No. 6. P. 2681–2685.
17. Bidmon H.J., Gorg B., Palomero-Gallagher N., Schleicher A., Haussinger D., Speckmann E.J., Zilles K. Glutamine synthetase becomes nitrated and its activity is reduced during repetitive seizure activity in the pentylentetrazole model of epilepsy. *Epilepsia*, 2008. Vol. 49, No. 10. P. 1733–1748.
18. Raju K., Doulias P.T., Evans P., Krizman E.N., Jackson J.G., Horyn O., Daikhin Y., Nissim I., Yudkoff M., Nissim I., Sharp K.A., Robinson M.B. Ischiropoulos H. Regulation of brain glutamate metabolism by nitric oxide and S-nitrosylation // *Sci. Signal.* 2015. Vol. 8, No. 384. P. ra68.

Поступила в редакцию/Received by the Editor: 21.12.2021 г.

#### Сведения об авторе:

Алексеева Ольга Сергеевна — кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории «Клеточные механизмы гомеостаза крови» федерального государственного бюджетного учреждения «Институт эволюционной физиологии и биохимии имени И. М. Сеченова Российской академии наук»; 194223, Санкт-Петербург, пр. Тореза, д. 44; e-mail: osa72@inbox.ru; ORCID 0000-0001-5688-347X; SPIN 4281-3091.

#### Уважаемые коллеги!

Вышла в свет книга «Медицинская служба Российского флота в XIX веке и ее руководители» под редакцией О. К. Бумай, И. Г. Мосягин.

В монографии рассматриваются вопросы организации охраны здоровья моряков Российского флота в XIX веке. В основу работы был положен анализ нормативно-правовых документов и архивных материалов этого периода, прежде всего, данные о структуре органов управления медицинской службой флота на всех уровнях, их функциях, о персональном составе. Приведены выдержки из нормативных документов, регламентирующих деятельность морских госпиталей. Подробно освещен вклад руководителей медицинской службы Российского флота XIX века в совершенствование системы по сохранению здоровья моряков. Представлены новые материалы о роли морских врачей в организации медицинского обеспечения освоения Северного морского пути.

Книга может представлять интерес для судовых врачей, ответственных за медицинское обслуживание экипажей судов, осуществляющих рейсы по Северному морскому пути, врачей — организаторов медицинского обеспечения судов морского и речного флота Российской Федерации.

Монография может быть рекомендована в качестве учебного пособия для курсантов Военно-медицинской академии при изучении ими истории военно-морской медицины.

Кроме того, представленные в монографии материалы могут быть использоваться при разработке нормативных документов, регламентирующих вопросы охраны здоровья моряков и в настоящее время.

---

Для получения более подробной информации Вы можете обратиться в издательство «Балтийский медицинский образовательный центр» по телефону (812) 956-92-55.