

УДК 616.36-002.-089-008:9:547.466.6

©Савилов

## КОРРЕКЦИЯ ГИПЕРБАРИЧЕСКИМ КИСЛОРОДОМ НАРУШЕНИЯ МЕТАБОЛИЗМА ГЛУТАМИНА В ПЕЧЕНИ ОПЕРИРОВАННОЙ НА ФОНЕ ХРОНИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА

*П.Н. Савилов*

Воронежская государственная медицинская академия им. Н.Н. Бурденко,  
Студенческая, 10, 394000 Воронеж; факс: (8073)-53-00-05;  
эл. почта: p\_savilov@rambler.ru

Применение гипербарической оксигенации (ГБО, 3 ата, 50 мин, 1 сеанс в сутки) в первые трое суток после резекции печени (РП, 15-20% от массы органа) у животных с хроническим токсическим гепатитом (CCl<sub>4</sub>, 50% р-р, 0,1 мл/ 100 г массы, подкожно, через день, 65 суток) устраняет дефицит глутамина и глутамата в оперированной печени и предотвращает накопление в ней эндогенного токсина аммиака, вызванного сочетанным действием на неё CCl<sub>4</sub> и РП. Гипербарический кислород (ГБО<sub>2</sub>) регулирует влияние РП на активность ключевых ферментов метаболизма глутамина в печени: глутаминсинтетазы (ГС) и фосфатзависимой глутаминазы (ФЗГ). Усиливая и пролонгируя стимулирующее влияние РП на активность ГС, ГБО<sub>2</sub> ограничивает аналогичные изменения ФЗГ в раннем (3-и сутки) и способствует отсроченной кратковременной стимуляции в позднем (7-е сутки) послеоперационном периоде. В отличие от неоксигенированных животных с РП это не сопровождается накоплением в печени аммиака и снижением концентрации глутамина.

**Ключевые слова:** гипероксия, печень, резекция, гепатит, глутамин, метаболизм.

**ВВЕДЕНИЕ.** Согласно современным представлениям, у млекопитающих метаболизм глутамина (обратимая форма связывания аммиака) в печени существенно отличается от такового процесса в других органах, что обусловлено компартментализацией в печёночной дольке реакций его образования и дезамидирования [1]. Это связано с избирательной локализацией ферментов, катализирующих указанные биохимические реакции. Глутаминсинтетаза (ГС) обнаружена исключительно в гепатоцитах перивенулярной (центральной) зоны [2], фосфатзависимая глутаминаза (ФЗГ), катализирующая дезамидирование глутамина, - в гепатоцитах перипортальной зоны [1]. Такое разделение метаболизма глутамина свидетельствует о существовании в печени глутаминового цикла, играющего важную роль не только в обезвреживании аммиака, но и регуляции кислотно-основного состояния организма [3]. Следует подчеркнуть, что образующаяся при дезамидировании глутамина амидная группа вовлекается в орнитиновый цикл синтеза мочевины (необратимая форма связывания аммиака), также локализованный в гепатоцитах перипортальной зоны [1, 2].

Установлено, что раздельное механическое (резекция печени) и химическое повреждение печени нарушает метаболизм в ней глутамина [4, 5], содействуя снижению его концентрации в печени и накоплению в ней эндогенного токсина - аммиака. Применение гипербарической оксигенации (ГБО) устраняло указанные нарушения [6, 7]. Однако, её влияние на метаболизм глутамина в печени при сочетанном действии механического и химического факторов остаётся не известным.

Целью настоящего исследования явилось изучение влияния терапевтических режимов ГБО на метаболизм глутамина в печени, оперированной на фоне хронического гепатита.

**МЕТОДИКА.** Исследования проведены на 216 беспородных белых крысах (самках) массой 170-220 г. Хронический гепатит вызывали подкожным введением 50% раствора тетрахлорметана ( $\text{CCl}_4$ ) на оливковом масле из расчёта 0,1 мл на 100 г массы тела подкожно, через день, с двумя двухнедельными перерывами между 6 и 7, 13 и 14 инъекциями. На 65-е сутки введения токсина сразу после последней инъекции часть животных подвергали оперативному вмешательству на фоне эфирного наркоза: лапаротомии и лапаротомия + резекция печени (РП). РП осуществляли электроножом, удаляя часть левой доли печени, что составляло 15-20% массы органа. ГБО применяли в первые трое суток после РП в режиме 3 ата, 50 мин, 1 сеанс в сутки. Первый сеанс начинали через 4-8, второй и третий через 24 и 48 часов после РП соответственно. Объектом исследования служили оперируемая (левая ЛДП) и одна из неоперированных (средняя, СДП) доли печени. Животные были разделены на 11 групп. 1 группа - интактные животные (норма); 2 группа – животные, исследованные на 65-е сутки введения  $\text{CCl}_4$  (конец затравки); 3, 4 и 5 группы – животные, исследованные соответственно на 3-е, 7-е и 14-е сутки после отмены  $\text{CCl}_4$  и лапаротомии (“ложнооперированные” животные). Эти группы животных служили контролем для оценки непосредственного влияния РП и её сочетания с ГБО на исследуемые показатели; 6, 7 и 8 группы составили животные с хроническим  $\text{CCl}_4$ -гепатитом, исследованные на 3-е, 7-е и 14-е сутки после РП соответственно. Оксигенированные животные с хроническим  $\text{CCl}_4$ -гепатитом и РП, исследованные на 3-е, 7-е и 14-е сутки послеоперационного (1-е, 4-е, 11-е сутки постгипероксического) периода составили соответственно 9, 10 и 11 групп. Забой животных осуществляли декапитацией на фоне этаминалового наркоза. Животных 9-й группы выводили из эксперимента сразу после последнего (3-го) сеанса ГБО.

В ткани печени, замороженной в жидком азоте, определяли концентрацию аммиака, глутамина [8] и глутамата [9]. Для определения активности ферментов печень предварительно перфузировали охлаждённым раствором  $\text{KCl}$  (0,125 М) с добавлением ЭДТА (1 мМ) и гомогенизировали в растворе сахарозы (0,25 М) в соотношении 1:9. Субклеточные фракции гепатоцитов выделяли методом дифференцированного центрифугирования при  $+2-(+5)^\circ\text{C}$  по методике [10]. Исходный гомогенат первоначально центрифугировали 10 мин при 1000 g, полученную надосадочную жидкость (5 мл) подвергали повторному центрифугированию в течение 10 мин при 16000 g для получения осадка, содержащего митохондриальную фракцию гепатоцитов. Надосадочную жидкость (5 мл), полученную после второго центрифугирования, использовали для выделения микросомальной фракции, подвергая её центрифугированию в течение 120 мин при 45000 g. Осадок, содержащий митохондриальную фракцию гепатоцитов очищали от примесей двукратным ресуспендированием в 5 мл 0,25 М раствора сахарозы, pH 7,4, и центрифугировали при 22000 g течение 10 мин.

В митохондриальной фракции определяли активность фосфатзависимой глутаминазы (ФЗГ) фотометрически по отщепившемуся аммиаку [11]. Инкубационная смесь (объёмом 2,0 мл) содержала 50 мМ трис- $\text{HCl}$  буфер, 100 мМ  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , pH 8,05, 100 мкг белка; старт реакции осуществляли добавлением глутамина в концентрации 2,05 мМ. Через 30 мин реакцию останавливали добавлением 0,1 мл 60% раствора трихлоруксусной кислоты (ТХУ), которую в контрольном опыте добавляли раньше глутамина. В депротеинизированной надосадочной жидкости определяли содержание аммиака изотермическим микродиффузионным методом [8].

В микросомальной фракции определяли активность глутаминсинтетазы (ГС) по отщепившемуся ортофосфату [12]. Инкубационная смесь (объёмом 1,6 мл) содержала 133 мМ трис- $\text{HCl}$ , буфер, pH 7,2, 44 мМ  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , 44 мМ  $\text{MgCl}_2$ ,

2,5 мМ цистеин, 6,25 мМ АТР, 100 мкг белка; старт реакции осуществляли 110 мМ раствором глутамата. Через 20 мин инкубации при 37°C реакцию останавливали добавлением 0,1 мл 60% раствора ТХУ, затем добавляли 1% раствор сернокислого железа в 0,15 М растворе серной кислоты. В контрольном опыте добавляли глутамат. Пробы центрифугировали в течение 5 мин при 1000 g. К надосадочной жидкости добавляли 6,6% раствор молибденовокислого аммония в 3,75 М серной кислоте. После чего измеряли оптическую плотность раствора при 720 нм. Определение белка в субклеточных фракциях гепатоцитов проводили по методу Лоури [13]. Содержание метаболитов выражали в ммоль /кг влажной ткани, активность ферментов - в нкат/мг белка (1 нанокат = 1 наномоль/сек). Результаты обработаны статистически с учётом параметрического t-критерия Стьюдента.

**РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.** Как показали исследования (табл. 1), к концу затравки отмечено достоверное снижение (на 70%) активности ГС и концентрации глутамин (на 53% - 49%) в обеих исследуемых долях печени. Активность ФЗГ достоверно не менялась. Это указывает на преобладание к этому сроку в печени распада (дезамидирования) глутамин над его образованием. Содержание аммиака при этом снижалось, как и в других исследованиях [7], вероятно, за счёт амидирования карбоксильных групп тканевых белков, активируемого при данной патологии [14].

Таблица 1. Содержание аммиака, глутамата, глутамин (ммоль/кг сырой ткани), активность ГС и ФЗГ (нмоль/сек на 1 мг белка) в печени животных с хроническим CCl<sub>4</sub>-гепатитом после резекции печени.

Показатели		Норма	Конец затравки	Сутки после резекции печени		
				3	7	14
Группы животных		1	2	6	7	8
Аммиак	ЛДП	<u>0,94±0,03</u>	<u>0,59±0,05*</u>	<u>1,58±0,13*</u>	<u>1,6±0,12*</u>	<u>1,66±0,09*</u>
	СДП	<u>0,94±0,04</u>	<u>0,6±0,05*</u>	<u>1,65±0,1*</u>	<u>1,7±0,13*</u>	<u>1,82±0,18*</u>
Глутамат	ЛДП	<u>1,83±0,08</u>	<u>1,47±0,1*</u>	<u>1,68±0,12</u>	<u>2,14±0,14*</u>	<u>1,77±0,14*</u>
	СДП	<u>2,0±0,09</u>	<u>1,68±0,14</u>	<u>1,5±0,15*</u>	<u>2,12±0,18</u>	<u>1,58±0,1*</u>
Глутамин	ЛДП	<u>3,36±0,16</u>	<u>1,59±0,09*</u>	<u>2,46±0,12*</u>	<u>2,14±0,14*</u>	<u>2,29±0,18*</u>
	СДП	<u>3,56±0,16</u>	<u>1,83±0,1*</u>	<u>2,44±0,11*</u>	<u>2,2±0,19*</u>	<u>2,03±0,2*</u>
ГС	ЛДП	<u>1,14±0,09</u>	<u>0,44±0,05*</u>	<u>0,61±0,07*</u>	<u>0,59±0,09*</u>	<u>0,85±0,06*</u>
	СДП	<u>1,13±0,09</u>	<u>0,41±0,05*</u>	<u>0,91±0,11*</u>	<u>0,76±0,05*</u>	<u>0,52±0,1*</u>
ФЗГ	ЛДП	<u>1,83±0,1</u>	<u>1,46±0,17</u>	<u>3,28±0,45*</u>	<u>1,32±0,19*</u>	<u>1,37±0,13*</u>
	СДП	<u>1,53±0,08</u>	<u>1,29±0,17</u>	<u>2,65±0,2*</u>	<u>1,61±0,14</u>	<u>1,79±0,18</u>

Примечание. ЛДП - левая доля печени, СДП - средняя доля печени, \* - достоверность различий (p<0,05) по сравнению с нормой, • - достоверность различий (p<0,05) по сравнению с концом затравки. Здесь и в таблице 2 приведены среднеарифметические ± ошибка средних.

Лапаротомия, осуществлённая сразу после последней инъекции гепатотоксина, содействовала накоплению в печени аммиака, на фоне сохранения в ней сниженного содержания глутамин и развития дефицита глутамата. Это сохранялось к 14-м суткам послеоперационного периода на фоне преобладания в гепатоцитах дезамидирования глутамин над его образованием.

# КОРРЕКЦИЯ НАРУШЕНИЯ МЕТАБОЛИЗМА ГЛУТАМИНА

Как видно из таблицы 1, лапаротомия и РП достоверно увеличивали активность ГС по сравнению с концом затравки в СДП на 3-и и 7-е сутки, соответственно, на 125% и 85%, а в ЛДП только на 14-е сутки (на 93%) послеоперационного периода. Однако полного восстановления активности этого фермента не происходило, и она оставалась достоверно ниже нормы (табл. 1). Кратковременная стимуляция ФЗГ гепатоцитов на 3-и сутки после РП в дальнейшем сменялась её угнетением в ЛДП и нормализацией в СДП к 14-м суткам послеоперационного периода (табл. 1). Одновременно отмечалось накопление в печени аммиака, на фоне сохранения в ней сниженной концентрации глутамина и развития дефицита глутамата (табл. 1).

Применение ГБО после РП приводило к увеличению активности ГС на 3-и сутки послеоперационного периода относительно контрольной серии “ложнооперированных” животных в обеих долях на 640%, у неоксигенированных крыс в ЛДП это увеличение составило 35%, в СДП – на 114% (рис. 1а). В результате активность ГС гепатоцитов на 1-е сутки постгипероксического периода превышала норму в ЛДП на 212%, в СДП - на 175% (табл. 2). Следовательно, в условиях гипероксии значительно усиливается стимулирующее влияние РП на активность ГС гепатоцитов. В отличие от ГС, достоверный прирост активности ФЗГ в печени оксигенированных животных на 3-и сутки после РП относительно “ложнооперированных” животных контрольной серии отмечался только в ЛДП (на 24%), тогда как у животных с РП без ГБО он составил в ЛДП и СДП соответственно 108% и 55% (рис. 1а). Следовательно, в условиях гипероксии ограничивается стимуляция ФЗГ гепатоцитов, вызываемая РП. В результате в первые сутки постгипероксического периода в ЛДП её активность находилась в пределах нормы, а в СДП была увеличена только на 37% (табл. 2). Как видно из рисунка 2а, у оксигенированных крыс на 3-и сутки после РП, в отличие от животных с РП без ГБО, накопление глутамина и глутамата, отмеченное во всех исследуемых долях сочеталось с ингибированием накопления в них аммиака. В результате концентрация аммиака в обеих исследуемых долях оперированной печени на 1-е сутки постгипероксического периода находилась в пределах нормы, а содержание глутамата и глутамина достоверно превышала её в ЛДП - на 44% и 132%, в СДП – на 44% и 106% соответственно (табл. 2).

Таблица 2. Содержание аммиака, глутамата, глутамина (ммоль/кг сырой ткани), активность ГС и ФЗГ (нмоль/сек на 1 мг белка) в печени животных с хроническим ССІ<sub>4</sub>-гепатитом после сочетания резекции печени и ГБО.

Показатели  Группы животных		Норма	Конiec затравки	Сутки послеоперационного (постгипероксического) периода		
				3 (1)	7 (4)	14 (11)
		1	2	9	10	11
Аммиак	ЛДП	0,94±0,03	0,59±0,05*	0,89±0,08•	1,0±0,08•	0,9±0,07•
	СДП	0,94±0,04	0,6±0,05*	1,02±0,08•	0,92±0,07•	0,8±0,08•
Глутамат	ЛДП	1,83±0,08	1,47±0,1*	3,49±0,18*	2,93±0,19*	2,82±0,2*
	СДП	2,0±0,09	1,68±0,14	2,67±0,18*	2,27±0,12•	2,64±0,18*
Глутамин	ЛДП	3,36±0,16	1,59±0,09*	6,59±0,42*	4,28±0,12*4	5,86±0,44*
	СДП	3,56±0,16	1,83±0,1*	5,34±0,46*	,08±0,16*	6,53±0,41*
ГС	ЛДП	1,14±0,09	0,44±0,05*	3,56±0,68*	1,91±0,22*	1,84±0,24*
	СДП	1,13±0,09	0,41±0,05*	3,11±0,58*	1,66±0,13*	1,47±0,17
ФЗГ	ЛДП	1,83±0,1	1,46±0,17	2,45±0,22*	2,57±0,36*	2,37±0,22•
	СДП	1,53±0,08	1,29±0,17	2,09±0,21*	2,52±0,14*	2,35±0,3•

Примечание. ЛДП - левая доля печени, СДП - средняя доля печени, \* - достоверность различий (p<0,05) по сравнению с нормой, • - достоверность различий (p<0,05) по сравнению с концом затравки.

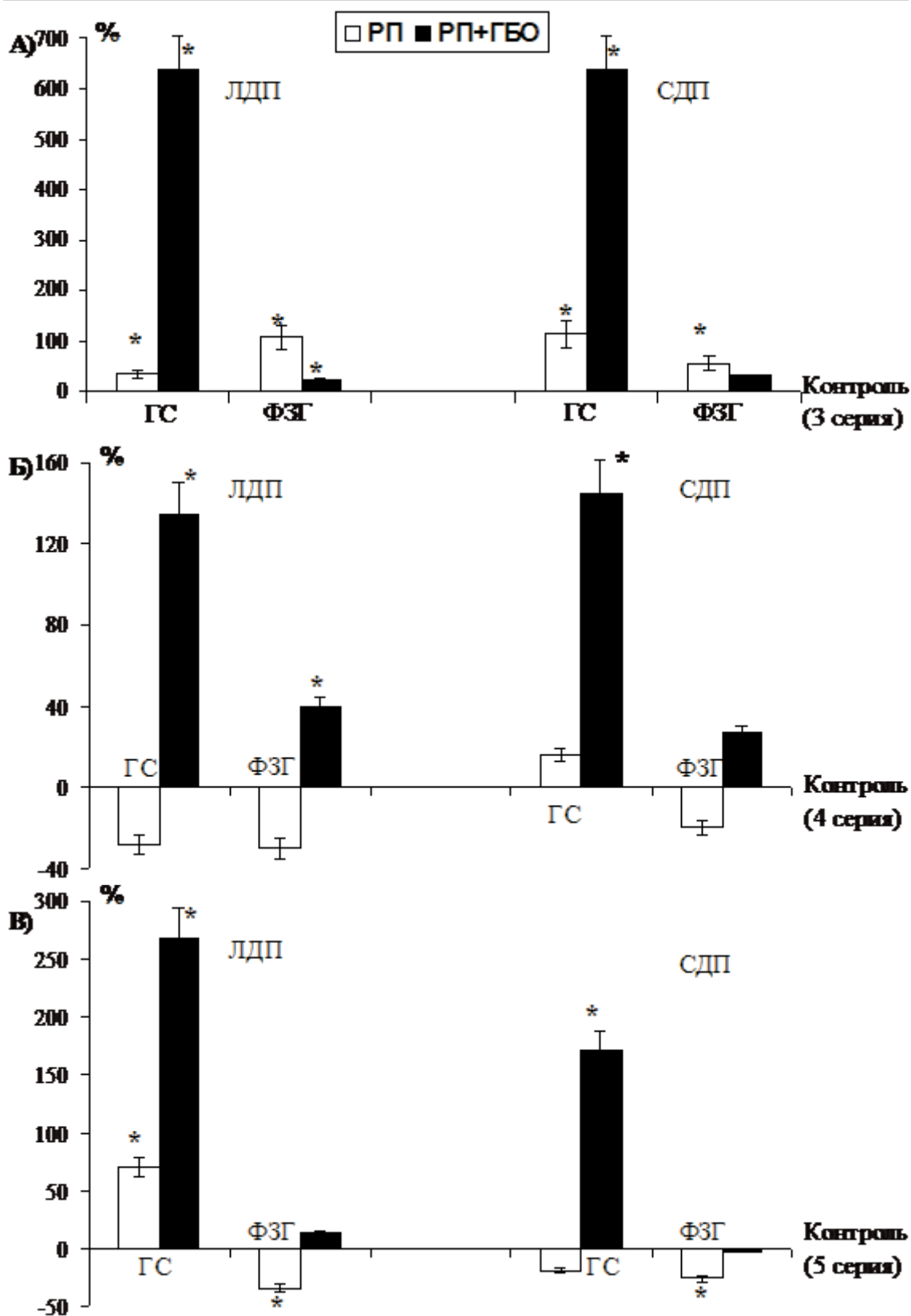
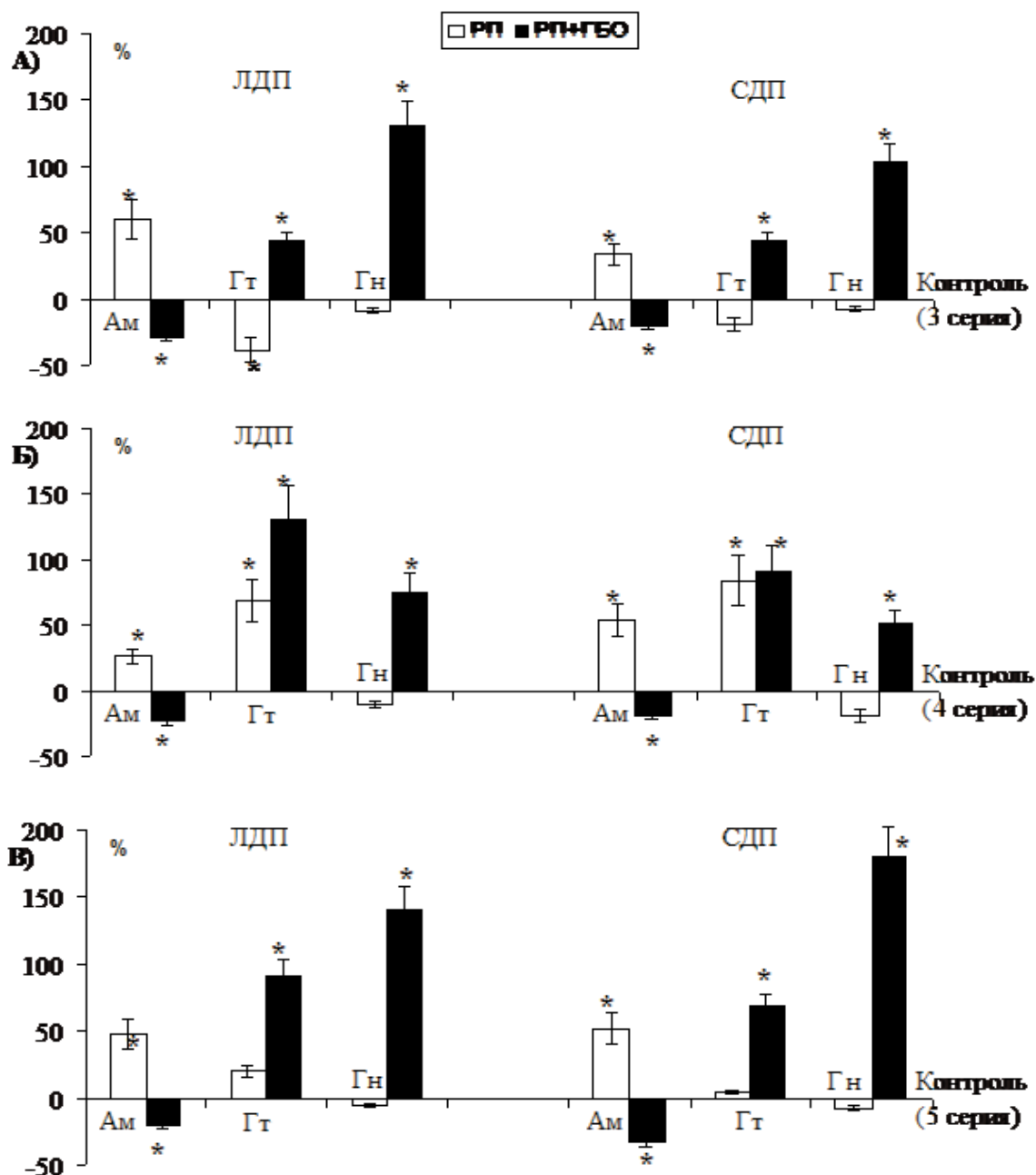


Рисунок 1

Изменение активности глутаминсинтетазы ГС и фосфатзависимой глутамины (ФЗГ) в левой (ЛДП) и средней (СДП) долях печени на 3-и (А), 7-е (Б) и 14-е (В) сутки после резекции печени (РП) и её сочетания с ГБО. \* - достоверность различий ( $p < 0,05$ ) по сравнению с соответствующим контролем ("ложнооперированные" животные). Объяснения в тексте.



**Рисунок 2.**

Изменение содержания аммиака (Ам), глутамата (Гт) и глутамина (Гн) в левой (ЛДП) и средней (СДП) долях печени на 3-и (А), 7-е (Б) и 14-е (В) сутки после резекции печени (РП) и её сочетания с ГБО. \* - достоверность различий ( $p < 0,05$ ) по сравнению с соответствующим контролем ("ложнооперированные" животные). Объяснения в тексте.

Таким образом, ограничение в условиях гипероксии активирующего влияния РП на дезамидирование глутамата, сопровождается усилением её влияния на глутаминсинтетазную активность гепатоцитов. Это сопровождается повышением концентрации в оперированном органе глутамата и глутамина при ингибировании накопления в нём аммиака.



На 7-е сутки послеоперационного периода у оксигенированных животных, в отличие от неоксигенированных крыс с РП, превышение активности ГС гепатоцитов относительно контроля составило в ЛДП и СДП соответственно 135% и 151% (рис. 1б), на 14-е сутки – соответственно 268% и 169% (рис. 1в). При этом она оставалась достоверно выше нормы (табл. 2), что указывает на сохранение стимулирующего влияния гипербарического кислорода на ГС гепатоцитов оперированной печени после прекращения непосредственного влияния ГБО на животных.

У крыс с РП и ГБО на 7-е сутки послеоперационного периода активность ФЗГ превышала уровень контроля в ЛДП на 40%, а в СДП достоверно не отличалась от него (рис. 1б), как и на 14-е сутки исследования (рис. 1в). По сравнению с нормой увеличение активности ФЗГ на 4-е сутки постгипероксического периода (7-е сутки после РП) составило в ЛДП 34%, в СДП 37%, тогда как на 11-е сутки постгипероксического периода (14-е сутки после РП) она находилась в пределах нормы (табл. 2). Следовательно, прекращение гипероксического воздействия сопровождается кратковременной отсроченной стимуляцией активности ФЗГ в оперированной печени, наиболее выраженной в повреждаемой при операции доле органа.

Как видно из рисунка 2б, у оксигенированных животных с РП на 7-е сутки послеоперационного периода концентрация глутамата и глутамина, в отличие от животных с РП без ГБО превышала аналогичный показатель в ЛДП на 131% и 35%, в СДП – на 92% и 52% соответственно. На 14-е сутки после РП прирост глутамина и глутамата у оксигенированных крыс составил в ЛДП соответственно 92% и 140%, в СДП на 68% и 180% (рис. 2в). При этом в обоих случаях отмечалось достоверное снижение концентрации аммиака (рис. 2б,в). По сравнению с нормой на 4-е и 11-е сутки постгипероксического периода в оперированной печени крыс концентрация глутамина и глутамата превышали норму, тогда как содержание аммиака находилось в её пределах (табл. 2).

Таким образом, прекращение гипероксического воздействия на животных с резекцией патологически изменённой печени сопровождается кратковременной отсроченной стимуляцией дезамидирования глутамина на фоне сохранения его повышенного образования гепатоцитами. Это сопровождается сохранением стимулирующего влияния гипероксии на накопление ими глутамата и глутамина, равно как и ингибирующего влияния на накопление в них аммиака.

Концентрация глутамина в клетке определяется соотношением скоростей его образования и дезамидирования [1, 2], а также поступлением метаболита в клетку и его удалением из неё. Исследования показали, что применение ГБО после РП у животных с хроническим  $\text{CCl}_4$ -гепатитом не только ликвидировало дефицит глутамина в гепатоцитах, но и создавало условия для его стойкого накопления в них в послеоперационном периоде. При этом анализ фермент-субстратных отношений указывает на различие в механизмах, определяющих данный эффект как в условиях курсового воздействия ГБО, так и в постгипероксическом периоде.

В условиях гипероксии накопление глутамина в оперированной печени к первым суткам постгипероксического периода происходило на фоне его активного образования гепатоцитами при ограничении стимулирующего влияния операции на дезамидирование в них глутамина. При этом гипербарический кислород значительно усиливал вызываемое РП повышение активности ГС в гепатоцитах и, вероятно, ликвидировал дефицит в них АТР, характерный для данной патологии [15]. На фоне накопления оперированной печенью при ГБО глутамата, являющегося, наряду с аммиаком, субстратом для образования глутамина, это создаёт условия для повышенного образования последнего в гепатоцитах. Известно, что ГБО предотвращает накопление клеткой в условиях патологии неорганического фосфата [16], являющегося, как известно [17], стимулятором ФЗГ. Вероятно, это является одной из причин ограничения в условиях ГБО повышения активности ФЗГ в оперированной печени, что также содействовало накоплению в ней глутамина и снижению концентрации аммиака.

В постгипероксическом периоде стимулирующее влияние гипербарического кислорода на глутаминообразовательную функцию печени постепенно ослабевало, но продолжало оставаться достаточно высоким по сравнению с нормой к 11-м суткам постгипероксического периода. Благодаря этому предотвращалось угнетение активности фермента в поздние сроки после РП, характерное для неоксигенированных животных (табл. 1). Активность ГС находится в прямой зависимости от её концентрации в клетке [2], поэтому её увеличение в оперированной печени животных после ГБО позволяют говорить о способности гипербарического кислорода не только усиливать, стимулирующее влияние РП, на образование фермента гепатоцитами, но и пролонгировать этот эффект в послеоперационном периоде.

В предыдущих исследованиях было показано, что в процессе адаптации организма как к терапевтическим режимам ГБО [14], так и к РП [18], происходят структурные изменения в митохондриальных мембранах гепатоцитов, которые носят динамичный характер. Это, безусловно, должно отразиться на активности мембраносвязанных ферментов, в том числе и на ФЗГ. Последняя, как известно [19], локализована на внутренней поверхности митохондриальных мембран гепатоцитов перипортальной зоны. С этих позиций можно объяснить как отсроченное увеличение её активности ФЗГ к 4-м суткам, так и её нормализацию к 11-м суткам постгипероксического периода (табл. 2). Известно, что образующаяся при дезамидировании глутамина амидная группа вовлекается в первое звено орнитинового цикла синтеза мочевины – образование карбамоилфосфата, протекающее с затратой АТР [1]. Отсутствие у оксигенированных крыс (в отличие от неоксигенированных) накопления аммиака оперированной печенью на фоне стимуляции активности ФЗГ позволяет говорить о восстановлении в условиях гипероксии и сохранении в постгипероксическом периоде вовлечения амидных групп глутамин в орнитиновый цикл синтеза мочевины. Кроме того, стимуляция дезамидирования глутамин является одной из причин накопления гепатоцитами глутамата.

Глутамат, с одной стороны, является субстратом для образования глутамин, с другой, - продуктом его дезамидирования. Сохранение его повышенной концентрации в печени, оксигенированных крыс, несмотря на стимуляцию образования в ней глутамин, позволяет с уверенностью говорить об активации гипербарическим кислородом альтернативных путей образования глутамата в оперированном органе. Например, реакции переаминирования, катализируемой аланинаминотрансферазой, которая, как известно [20], активируется в больной печени при ГБО. Не исключается и снижение в условиях ГБО дезаминирования глутамата в гепатоцитах, в результате снижения активности глутаматдегидрогеназы, что обнаружено при сочетании РП с ГБО у здоровых животных [21].

#### **ВЫВОДЫ.**

1. Применение ГБО после РП на фоне хронического ССІ<sub>4</sub>-гепатита предотвращает снижение концентрации глутамин и накопление аммиака как в повреждённой, так и неповреждённой при операции долях печени, одновременно предотвращая формирование в них дефицита глутамата.

2. Гипербарический кислород регулирует вызываемые РП изменения активности ключевых ферментов метаболизма глутамин в гепатоцитах животных с хроническим ССІ<sub>4</sub>-гепатитом: ГС и ФЗГ. Усиливая стимулирующее влияние операции на активность ГС, он ограничивает её в отношении ФЗГ.

3. Сохранение в постгипероксическом периоде стимулирующего влияния гипербарического кислорода на образование гепатоцитами оперированной печени глутамин сопровождается кратковременной отсроченной стимуляцией его дезамидирования, без накопления в ней аммиака и развития дефицита глутамин, характерного для оперированной печени неоксигенированных животных.



4. Превентивное действие ГБО на формирование дефицита глутамата в печени, оперированной на фоне хронического  $\text{CCl}_4$ -гепатита определяется, главным образом, вовлечением в гипероксический саногенез помимо дезамидирования глутамина других метаболических реакций, определяющих увеличение концентрации глутамата в клетке.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Häussinger D., Gerok W. (1984) Infusionstherapie, **11**, 246-253.
2. Gebhardt R. (1988) Scand. J. Gastroenterol. Suppl., **23**, 8-18.
3. Gerok W., Häussinger D. (1987) Der Internist, **27**, 429-436.
4. Савилов П.Н. (2000) Вопр. мед. химии, **46**, 370-376.
5. Савилов П.Н. (2004) Патол. физиология и эксперим. тер., №1, 24-26.
6. Савилов П.Н. (2004) Биомедицинская химия, **50**, 164-171.
7. Ласкаржевская М.А. (1983) Влияние гипербарической оксигенации на кровоток, напряжение кислорода и реакции обмена низкомолекулярных азотистых веществ печени при её токсическом поражении. Дисс. канд. наук, Воронежский гос. мед. институт, Воронеж.
8. Силакова А.И., Трубин Г.П., Явликова А.И. (1962) Вопр. мед. химии, **8**, 538-544.
9. Bernt E., Bergmeyer H.U. (1979) Methoden der enzym. Analys. Weinheim, **2**, 1749-1752.
10. Jonson D., Lardy H. (1967) Meth. Enzymol., **10**, 94-102.
11. Beaton J.R., Ozawa C. (1955) J. Biol. Chem., **214**, 685-691.
12. Пушкин А.В., Евстигнеева З.Г., Кретович В.Л. (1972) Прикл. биохим. и микробиол., **8**(9), 86-90.
13. Hartree E.F. (1972) Anal. Biochem., **48**, 422-427.
14. Кашуба Э.Г. (1976) Влияние гипербарической оксигенации на течение острого и подострого поражения печени четырёххлористым углеродом в эксперименте. Дисс. канд. наук, Воронежский гос. мед. институт, Воронеж.
15. Солопаев Б.П. (1980) Регенерация нормальной и патологически изменённой печени, Верхнее-Волжское изд-во, Горький.
16. Акуленко М.Е. (1974) Изменение содержания аденин-нуклеотидов, фосфокреатинина и неорганического фосфора в центральной нервной системе при острой массивной кровопотере и гипербарической оксигенации. Дисс. канд. наук, Воронежский гос. мед. институт, Воронеж.
17. Козлов Е.А., Коваленко Н.А. (1972) Успехи биол. химии, **13**, 49-79.
18. Хейсин Е.М. (ред.) (1969) В кн: Нормальная и патологическая цитология паренхимы печени. Наука, Л., с. 90-115.
19. Mc Givan J.A., Bradford P.M., Verholen A.I. (1984) In: Glutamine Metabolism in Mammalian Tissues, Berlin, pp. 122-132.
20. Малютин В.Э. (1993) Влияние гипербарической оксигенации на кровоток, напряжение кислорода и азотистый метаболизм в печени в раннем посттерминальном периоде. Дисс. канд. наук, ВГМИ, Воронеж.
21. Савилов П.Н. (1996) Анестезиология и реаниматология, №5, 64-67.

Поступила: 22. 02. 2008.

**CORRECTION OF GLUTAMINE METABOLISM IMPAIRMENTS IN THE OPERATED LIVER WITH CHRONIC HEPATITIS BY HYPERBARIC OXYGEN**

*P.N. Savilov*

Voronezh State Medical Academy, Studencheskaya st., 10, Voronezh, 394000 Russia;  
fax: (8073)-53-00-05; e-mail: p\_savilov@rambler.ru

Application of hyperbaric oxygenation (HBO, 3 ata, 1 session for 50 min per day) during the first three days after liver resection (LR, 15-20% from the organ mass) in animals with chronic toxic hepatitis (CCl<sub>4</sub>, 50%, 0,1 ml / per 100 g of body mass, subcutaneously, once in 2 days, 65 days) eliminates a deficit of glutamine and glutamate in an operated liver and prevents accumulation of the endogenic toxin, ammonia, caused by combined effects of CCl<sub>4</sub> and LR. Thus hyperbaric oxygen modulates the effect of the LR on the activity of key enzymes of the glutamine metabolism in liver: glutamine synthetases (GS) and phosphate-dependent glutaminases (PDG). HBO enhanced and prolonged the LR effect of the GS activity and restricted analogous changes in PDG during an early (3 day) postoperative period and promoted a delayed transient stimulation in the late (7 day) postoperative period. In contrast to non-oxygenated animals with LR this was not accompanied by accumulation of ammonia and the decrease in glutamine concentration in the liver.

**Key words:** hyperoxia, liver, resection, hepatitis, glutamine, metabolism.