

УДК 615.36-002.-008.-9.085.0835.3
©Савилов

ВЛИЯНИЕ ГИПЕРБАРИЧЕСКОЙ ОКСИГЕНАЦИИ НА МЕТАБОЛИЗМ ГЛУТАМИНА В ПЕЧЕНИ

П.Н. Савилов

Тамбовский государственный технический университет, 392000 Тамбов,
ул. Мичуринская, 112
Воронежская государственная медицинская академия им.Н.Н. Бурденко,
394000 Воронеж, ул. Студенческая, 10; эл. почта: p_savilov@rambler.ru

В опытах на 72 половозрелых белых крысах исследовали влияние трёхдневного курса ГБО (3 ата, 50 мин, 1 сеанс в сутки) на метаболизм глутамина в печени. Объектами исследования служили левая (ЛДП) и средняя (СДП) доли печени. В них изучали содержание аммиака, глутамата, глутамина, активность глутаминсинтетазы (ГС), фосфатзависимой глутаминазы (ФЗГ), глутаматдегидрогеназы (ГДГ). Применение ГБО в указанном режиме оказывало ингибирующее влияние на все изучаемые ферменты. Это проявлялось снижением их активности в первые сутки после окончания курса ГБО. Ингибирующее влияние гипероксии на активность ГДГ сохранялось к 11-м суткам после курса ГБО в обеих исследуемых долях печени на фоне нормализации в них к этому сроку сниженной концентрации глутамата. Сниженная концентрация глутамина нормализовалась на 4-е, а концентрация аммиака оставалась повышенной и на 11-е сутки после прекращения гипероксического воздействия. Ингибирующее влияние гипероксии на активность ГС в гепатоцитах ЛДП прекращалось к 4-м, а в СДП к 11-м суткам после окончания курса ГБО. Сниженная при ГБО в ЛДП и СДП активность ФЗГ гепатоцитов нормализовалась к 4-м суткам после оксигенации, однако на 11-е сутки она избирательно снижалась в гепатоцитах ЛДП, где одновременно наблюдалась стимуляция активности ГС. Полученные результаты показывают различную чувствительность ГС, ФЗГ и ГДГ гепатоцитов здоровой печени к ингибирующему влиянию ГБО. Различная динамика активности ГС и ФЗГ в гепатоцитах ЛДП и СДП оксигенированных крыс указывает на формирующуюся после ГБО функциональную неоднородность глутаминового цикла в гепатоцитах долей печени.

Ключевые слова: глутамин, метаболизм, печень, гипероксия.

ВВЕДЕНИЕ. Известно, что применение гипербарической оксигенации (ГБО) устраняет нарушения метаболизма глутамина в повреждённой печени [1, 2], нормализуя его поступление в кровоток [3]. Вместе с тем ГБО применяется и при заболеваниях, в которые печень не вовлечена, например, при патологии органов зрения [4] или рассеянном склерозе [5]. Имеются данные об успешном применении ГБО для улучшения качества пилотирования военных лётчиков и снижения утомляемости авиационных специалистов [6]. Вместе с тем неоднозначное влияние лечебных режимов ГБО на функциональную активность здоровых клеток [7], затрудняет разработку показаний к включению ГБО в терапию заболеваний, связанных с патологией конкретного органа, а также правильную трактовку клинико-лабораторных показателей оксигенированного организма.

Целью настоящей работы явилось изучение влияния трёхдневного курса ГБО в лечебном режиме на метаболизм глутамина в печени здоровых крыс.

МЕТОДИКА. Опыты проведены на 77 беспородных белых крысах самках массой 180-220 г. Трёхдневный курс ГБО проводили медицинским кислородом по одному сеансу в сутки, в утренние часы, в режиме 3 ата – 50 мин. Объектами исследования служили левая (ЛДП) и средняя (СДП) доли печени. Животные были разделены на две группы: контрольную и опытную. В контрольную группу вошли здоровые неоксигенированные животные. В опытную – оксигенированные крысы, исследованные, соответственно, на 1-е, 4-е и 11-е сутки после третьего (последнего) сеанса ГБО. Животных выводили из опыта декапитацией на фоне этиминалового наркоза (40 мг этиминал-натрия /кг массы). После лапаротомии проводили перфузию печени через портальную вену охлажденным 0,125 М раствором KCl. Исследуемые доли замораживали в жидком азоте и растирали до мелкого порошка, который использовался для приготовления 10% гомогената ткани в 30% растворе трихлоруксусной кислоты (ТХУ). Полученный гомогенат экстрагировали на холоде в течение 30 мин и центрифугировали в лабораторной центрифуге “ОПН-3.02” 10 мин при 1000 g. Надосадочную жидкость (супернатант) использовали для определения содержания азотистых метаболитов, которое выражали в ммоль /кг сырой ткани.

Концентрацию аммиака в ткани печени определяли изотермическим микродиффузионным методом [8]. Инкубационная смесь во флаконе для микродиффузии содержала кислый 10 % экстракт ткани (1 мл) и насыщенный раствор углекислого калия (1 мл). Флакон закрывался пробкой со стеклянной палочкой, смоченной в 1 М растворе H_2SO_4 , и вращался на роторе сконструированной в нашей лаборатории вертушки со скоростью 60 об/мин в течение 2 часов. (Данный приём существенно ускоряет извлечение аммиака из раствора и его “улавливание” серной кислотой). После этого палочка извлекалась и омывалась 4,5 мл бидистиллированной воды в пробирку, куда добавлялось 0,5 мл реактива Несслера. Пробирка встряхивалась и через 20 мин измерялась оптическая плотность раствора при 413 нм на спектрофотометре “Specol” (ГДР). Стандартные растворы обрабатывались в аналогичных условиях.

Концентрацию глутамина в ткани печени определяли методом кислотного гидролиза [9] в модификации [8]. Для этого в 1 мл кислого экстракта ткани добавляли 0,25 мл 5 М раствора H_2SO_4 и инкубировали в течение 10 мин при 100°C для кислотного гидролиза (дезамидирования) глутамина. Высвободившееся при этом количество аммиака (сернокислого аммония) эквивалентно содержанию глутамина в пробе. Количество аммиака в гидролизированном экстракте определяли модифицированным методом [8].

Для определения активности ферментов печень предварительно перфузировали через портальную вену охлажденным раствором KCl (0,125 N) и гомогенизировали в растворе сахарозы (0,25 M) в соотношении 1:9 с добавлением ЭДТА в конечной концентрации 1 mM. Субклеточные фракции гепатоцитов выделяли методом дифференциального центрифугирования [10] на центрифуге вакуумной рефрижераторной “ЦВР-1” при $t = +2-(+5)^{\circ}C$. Для этого первоначально надосадочную жидкость центрифугировали 10 мин при 1000 g. После этого вновь 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 двухкратным ресуспензированием в 5 мл 0,25 М раствора сахарозы (pH=7,4) и центрифугировали при 22000 g течение 10 мин.

В митохондриальной фракции гепатоцитов определяли активность фосфатзависимой глутаминазы (ФЗГ) фотометрически по отщепившемуся аммиаку [11]. Инкубационная смесь (объемом 2,0 мл) содержала в конечной концентрации (ммоль/л): трис-HCl буфер (pH=8,05) – 50; K_2HPO_4 (pH=8,05) – 100; 100 мкг белка митохондрий. Начало реакции вызывали добавлением 0,1 мл раствора глутамината с конечной концентрацией его в пробе 2,05 ммоль/л. Через 30 мин реакцию останавливали добавлением 0,1 мл 60% раствора ТХУ, которую в контрольном опыте добавляли раньше глутамината. В супернатанте определяли содержание аммиака изотермическим микродиффузионным методом [8].

Активность глутаматдегидрогеназы (ГДГ) определяли спектрофотометрически в митохондриальной фракции гепатоцитов [12]. Инкубационная смесь (объем 2,0 мл) содержала в конечной концентрации следующие реактивы (ммоль/л): трис-HCl буфер (pH = 8,0) – 64,5; NH_4Cl – 12,9; ADP – 32,2; NADH – 6,45; Лактатдегидрогеназа – 65 Ед/мл. Старт реакции осуществлялась -кетоглутаратом в концентрации 2,17 ммоль/л, который добавлялся в термостатируемую при 37°C кювету с инкубационной смесью. Показатели регистрировали через каждые 60 с в течение 3 мин по убыванию оптической плотности.

В микросомальной фракции определяли активность глутаминсинтетазы (ГС) по отщепившемуся ортофосфату [13]. Инкубационная смесь (объемом 1,6 мл) содержала в конечной концентрации (ммоль/л): трис-HCl буфер (pH=7,2) – 133; NH_4Cl – 44; $MgCl_2$ – 44; цистеин – 2,5; АТФ – 6,25; 100 мкг белка микросомальной фракции. Реакцию начинали добавлением 0,1 мл раствора глутамата с конечной концентрацией его в пробе 110 ммоль/л. Через 20 мин инкубации при 37°C реакцию останавливали добавлением 0,1 мл 60% раствора ТХУ, затем добавляли 4 мл 1% раствора сернокислого железа в 0,3 М растворе H_2SO_4 . В контрольном опыте добавляли глутамат. Пробы центрифугировали в течение 5 мин в лабораторной центрифуге “ОПН-3.02” при 1000 g. К надосадочной жидкости добавляли 0,1 мл 6,6% раствора молибденовокислого аммония в 7,5 М серной кислоте. После чего измеряли оптическую плотность раствора при 720 нм. Определение белка в субклеточных фракциях гепатоцитов проводили по методу Лоури [14]. Активность ферментов выражали нмоль/мг белка·с. Результаты обработаны статистически с учётом параметрического t-критерия Стьюдента и U-критерия Вилкоксона-Манна-Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. Как видно из таблицы 1, в течение первых суток после окончания курса ГБО активность ГС в обеих исследуемых долях печени составляла 50% от контроля. Это указывает на торможение в условиях гипероксии образования гепатоцитами глутамината, концентрация которого в указанный период была ниже контроля в ЛДП и СДП, соответственно на 24% и 19% (табл. 2). Такое несоответствие позволяет говорить о запуске механизмов, направленных на предотвращение глутаминового дефицита в печени при нарушении его образования гепатоцитами. Одним из них следует рассматривать ингибирование гипероксией дезамидирования глутамината в гепатоцитах. На это указывает, обнаруженное в течение первых суток после окончания курса ГБО, снижение

ВЛИЯНИЕ ГИПЕРБАРИЧЕСКОЙ ОКСИГЕНАЦИИ НА МЕТАБОЛИЗМ ГЛУТАМИНА В ПЕЧЕНИ

активности ФЗГ, катализирующей данную метаболическую реакцию [15]. Её величина была ниже контроля в ЛДП на 50%, а в СДП на 40% (табл. 1). Однако данной реакции оказалось недостаточно для предотвращения развития в печени дефицита глутамин в указанный период. Можно полагать, что это вызвано снижением концентрации глутамин в притекающей к органу крови воротной вены. Неслучайно, перфузия изолированной печени раствором, не содержащим глутамин, приводила к подавлению глутаминазной активности гепатоцитов [16]. Что касается причин возможного формирования в условиях ГБО портальной гипоглутаминемии, то следует обратить внимание на стимуляцию гипероксией функциональной активности эндотелиоцитов тонкой кишки здорового организма [17], которая, как известно [18], сопряжена с потреблением глутамин.

Таблица 1. Активность ГС, ФЗГ и ГДГ (нмоль/мг белка·с) в печени здоровых крыс после трёх-дневного курса ГБО ($M \pm m$).

Метаболиты	Доли печени	Контроль (норма) $n=10$	Сутки после окончания курса ГБО		
			1 $n=9$	4 $n=9$	11 $n=9$
ГС	ЛДП	1,14±0,09	0,57±0,08*	1,08±0,12 [▲]	1,89±0,3*●
	СДП	1,13±0,09	0,56±0,09*	0,88±0,09*	1,53±0,19●
ФЗГ	ЛДП	1,83±0,1 [△]	0,94±0,14*	2,05±0,24 ^{▲△}	1,38±0,16*●
	СДП	1,53±0,08	0,91±0,12*	1,45±0,12 [▲]	1,47±0,21
ГДГ	ЛДП	2,47±0,13	1,7±0,12*	1,45±0,07*	1,1±0,12*
	СДП	2,54±0,16	1,61±0,14*	1,31±0,29*	1,2±0,13*

Примечание. ЛДП - левая доля печени, СДП - средняя доля печени, ГС - глутаминсинтетаза, ФЗГ - фосфатзависимая глутаминидаза, ГДГ - глутаматдегидрогеназа; * - достоверность различий ($p<0,05$) по отношению к норме; Δ - достоверность различий ($p<0,05$) между показателем исследуемых долей животных одной серии; [▲] и ● - достоверность различий ($p<0,05$) по отношению к 1-м и 4-м суткам исследования, соответственно; n - число животных по сериям опытов.

Таблица 2. Содержание аммиака, глутамин, глутамата (ммоль/кг сырой ткани) в печени здоровых крыс после трёхдневного курса ГБО ($M \pm m$).

Метаболиты	Доли печени	Контроль (норма) $n=10$	Сутки после окончания курса ГБО		
			1 $n=10$	4 $n=10$	11 $n=10$
Аммиак	ЛДП	1,14 ±0,05	1,64±0,13*	1,87±0,2*	1,89±0,13*
	СДП	1,15±0,03	1,67±0,17*	2,5±0,13* ^{▲△}	1,99±0,2*●
Глутамин	ЛДП	5,7±0,28	4,48±0,35*	5,78±0,4 [▲]	5,39±0,39
	СДП	5,71±0,24	4,91±0,28*	5,57±0,7	5,54±0,31
Глутамат	ЛДП	2,39±0,08	1,69±0,06*	1,82±0,08*	2,22±0,1●
	СДП	2,33±0,11	1,62±0,12*	1,77±0,08*	2,13±0,11●

Примечание. ЛДП - левая доля печени, СДП - средняя доля печени; * - достоверность различий ($p<0,05$) по отношению к норме; Δ - достоверность различий ($p<0,05$) между показателем исследуемых долей животных одной серии; [▲] и ● - достоверность различий ($p<0,05$) по отношению к 1-м и 4-м суткам исследования, соответственно; n - число животных по сериям опытов.

Торможение активности ФЗГ гепатоцитов в течение первых суток после окончания курса ГБО (табл. 1) не только не предотвращало развитие глутаминового дефицита в печени, но и накопление в ней аммиака, являющегося, как известно [15], одним из продуктов глутаминазной реакции. В результате его концентрация в указанный период наблюдений была достоверно повышена в обеих исследуемых долях (табл. 2). Из этого следует, что в условиях гипероксии в гепатоцитах активируются другие реакции внутриклеточного аммонирования. Одной из них могло бы служить дезаминирование глутамата. Тем более, что в первые сутки после окончания курса ГБО обнаружено снижение его концентрации в ЛДП и СДП, соответственно, на 29% и 31% по сравнению с контролем (табл. 2). Однако, выявленное при этом угнетение активности ГДГ (табл. 1), катализирующей обратимую реакцию превращения глутамата в α -кетоглутарат [12], исключает данную возможность. Следовательно, в печени оксигенированных крыс активируются другие реакции внутриклеточного аммонирования, не сопряжённые с метаболизмом глутамата. Например, дезаминирование аланина, серина и цистеина, когда, помимо аммиака, образуется пируват, превращение которого в глюкозу является центральным звеном глюконеогенеза [19]. Функциональная активность последнего находится в прямой зависимости от состояния другого процесса, сопряжённого с обменом глюкозы – гликогенолиза [20]. Поскольку, многократные лечебные режимы ГБО тормозят гликогенолиз в печени здорового организма [21], то возможность компенсаторной активации в ней глюконеогенеза и, как следствие, дезаминирование глюконогенных аминокислот, представляется вполне оправданной реакцией адаптации. Нельзя исключить, что указанный механизм детерминирует сохранение повышенной концентрации аммиака в печени к 11-м суткам после окончания курса ГБО (табл. 2).

Прекращение гипероксического воздействия показало, что нормализация сниженной активности ГС в ЛДП опережало аналогичный процесс в СДП, где восстановление активности фермента отмечалось только на 11-е сутки исследования. Мало того, она становилась на 67% выше контроля (табл. 1). Активность ГС находится в прямой зависимости от концентрации фермента в клетке, которая, в свою очередь, определяется соотношением реакций его образования и разрушения [22]. Исходя из этого, можно говорить о различной чувствительности реакций, определяющих поддержание нормальной концентрации ГС в гепатоцитах ЛДП и СДП здоровых крыс к выбранным режимам ГБО. Тем самым подтверждается одно из положений теории гипероксического саногенеза [7], о зависимости метаболического эффекта гипербарического кислорода от состояния ферментных систем клетки на момент оксигенации.

В отличие от ГС, нормализация сниженной активности ФЗГ гепатоцитов зафиксирована в обеих долях печени на 4-е сутки от последней оксигенации (табл. 1). Однако на 11-е сутки исследования выявлено избирательное (на 25%) снижение глутаминазной активности в клетках ЛДП (табл. 1). Известно, что ФЗГ гепатоцитов имеет локализацию на внутренней мембране их митохондрий [23]. Поэтому она, как любой другой мембраносвязанный фермент, способна менять свою активность в зависимости от структурно-функциональных изменений, протекающих на мембране. Многократные воздействия лечебных режимов ГБО вызывают динамические изменения в структуре митохондриальных мембран [7, 21]. Это делает возможным

повторное снижение активности ФЗГ в гепатоцитах ЛДП на 11-е сутки после окончания курса ГБО.

Локализация в различных отделах печёночной долики ГС и ФЗГ определяет существование в печени так называемого глутаминового цикла [16]. Его работа заключается в дезамидировании гепатоцитами перипортальной зоны глутамин, поступающего в печень с кровью. При этом высвободившийся в процессе дезамидирования глутамин аммиак вовлекается в орнитиновый цикл синтеза мочевины, осуществляемый в этих же гепатоцитах. Одновременно с этим в гепатоцитах перивенулярной зоны долики печени происходит вовлечение части аммиака, поступающего в печень с кровью воротной вены, в образование “печёночного” глутамин с его дальнейшей секрецией в кровоток.

Сопоставление изменений активности ГС и ФЗГ гепатоцитов после прекращения гипероксического воздействия на организм показало следующее. Если на 4-е сутки после окончания курса ГБО дезамидирование глутамин гепатоцитами преобладает над его образованием в них только в СДП, то на 11-е сутки исследования отмечается преобладание образования глутамин над его дезамидированием в гепатоцитах ЛДП. Из этого следует, что в процессе адаптации к гипероксии в долях печени здоровых крыс запускаются механизмы, детерминирующие различную интенсивность функционирования в их клетках глутаминового цикла. Между тем, несмотря на изменения активности ГС и ФЗГ в печени после прекращения применения ГБО (табл. 1), концентрация глутамин, нормализованная на 4-е сутки, к 11-м суткам исследования не изменялась (табл. 2). Это указывает на вовлечение в процесс адаптации к ГБО механизмов, стабилизирующих в пределах нормы, концентрацию глутамин в гепатоцитах, независимо от интенсивности и характера его метаболизма в них. Одним из них может являться, изменение его поступления из клеток других тканей в кровоток, обнаруженное при ГБО оперированного организма [3, 24].

Помимо глутамин и аммиака, сопряжённая работа ГС и ФЗГ в гепатоцитах оказывает влияние на содержание в печени глутамат – метаболита, способного в зависимости от обстоятельств выступать в качестве субстрата для образования глутамин или быть продуктом его дезамидирования [20]. Исследования показали, что преобладание дезамидирования глутамин над его образованием на 4-е сутки после окончания курса ГБО не восстанавливало концентрации глутамат в исследуемых долях, которая оставалась на 24% ниже нормы (табл. 2). Вместе с тем к 11-м суткам после исследования нормализация содержания глутамат в гепатоцитах (табл. 2), не соответствовала обнаруженным в этот период (табл. 1) признакам преобладания в гепатоцитах образования глутамин над его дезамидированием. Следовательно, после окончания гипероксического воздействия на организм в печени активируются иные механизмы, направленные на восстановление сниженной концентрации глутамат в гепатоцитах оксигенированных крыс. Одним из них могло бы служить стимулирование дезаминирования глутамат в реакции, катализируемой ГДГ. Однако, сохранение её сниженной активности к 11-м суткам после курса ГБО (табл. 1) исключает такую возможность. Скорее всего, здесь задействовано прекращение использования глутамат в других реакциях, активируемых в гепатоцитах при адаптации к гипероксии. Например, синтезе глутатиона, потребность в котором возрастает при гипероксии, но снижается после её прекращения [25].

ВЫВОДЫ:

1. Применение трёхдневного курса ГБО (3 ата, 50 мин, 1 сеанс в сутки) нарушает работу глутаминового цикла в печени здорового организма, что проявляется торможением образования и дезамидирования глутамина в гепатоцитах. Это сопровождается снижением концентрации глутамина в печени на фоне накопления в ней аммиака.

2. Прекращение гипероксического воздействия на организм, восстанавливая содержание в печени глутамина, не нормализует повышенное содержание аммиака к 11-м суткам исследования и не приводит к восстановлению метаболизма глутамата в реакции, катализируемой ГДГ.

3. Различия в динамике активности ГС и ФЗГ в гепатоцитах после прекращения курса ГБО свидетельствует о способности гипербарического кислорода к формированию междолевой функциональной гетерогенности глутаминового цикла гепатоцитов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Савилов П.Н. (2004) Биомед. химия, **50**, 164-171.
2. Савилов П.Н. (2009) Биомед. химия, **55**, 500-509.
3. Савилов П.Н. (2007) Общая реаниматология, **3**(4), 37-41.
4. Ченцова О.Б., Рябцева АА, Югай М.П., Комисарова С.А. (2002) Бюлл. гипербар. биол. и медицины, **10**, (1-4), 110-111.
5. Васильев М.В., Подшивалкин Е.Н., Родосская Н.К., Стёпкина И.А., Савилов П.Н. (1995) Бюлл. гипербар. биол. и медицины, **3**(1-2), 18-27.
6. Плиса М.Н., Евдокимов В.М., Филиппенков С.Н. (2002) Бюлл. гипербар. биол. и медицины, **10**(1-4), 88-89.
7. Леонов А.Н. (2006) Гипероксия. Адаптация. Саногенез, ВГМА, Воронеж.
8. Силакова А.И., Трубин Г.П., Явликова А.И. (1962) Вопр. мед. химии, **8**, 538-544.
9. Harris M. (1943) J. Clin. Invest., **22** (4), 569-576.
10. Jonson D., Lardy I. (1967) Methods Enzymol., **10**, 94-102.
11. Beaton J.R., Ozava G. (1955) J. Biol. Chem., **214**, 685-691.
12. Schmidt E., Schmidt F.W. (1983) in: Methoden der enzym. Analyse-Herausg (Bergmeyer H.U., ed.) Weinheim Bergs Verlag. Chemie, Weinheim, **3**, 216-227.
13. Пушкин А.В., Евстигнеева З.Г., Кретович В.Л. (1972) Прикл. биохим. и микробиол., **3**(1), 96-90.
14. Hartree E.F. (1972) Anal. Biochem., **43**, 422-427.
15. Козлов Б.А., Коваленко Н.А. (1972) Глутаминазы. Успехи биол. химии, **13**, 40-79.
16. Häussinger D., Sies H., Gerok W. (1984) Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft für innere Medizin, **90**, 1165-1167.
17. Попова Э.Ф., Адрианова А.К., Шлыкова Л.Н. (1978) в кн: Экстремальные состояния и проблемы адаптации (Ястребов А.П., ред), СГМИ, Свердловск, сс. 29-30.
18. Петров Д.В., Бобовник С.В., Каменская Е.Н., Щербакова Е.А. (2011) Общая реаниматология, **7**(1), 77-81.
19. Косенко Е.А., Каминский Ю.Г. (2007) Клеточные механизмы токсичности аммиака. ЛКИ, Пушино.
20. Ленинджер А. (1986) Основы биохимии (пер. с англ.). Мир, М.

21. *Капуба Э.А.* (1980) в кн: Метаболические механизмы гипербарической оксигенации (Леонов А.Н., ред), ВГМИ, Воронеж, сс.110-112.
22. *Wong B.S., Chenoweth M.E., Dunn A.* (1980) *Endocrinology*, **106**(1), 268-274.
23. *Mc Givan J.D., Lacy J.H., Joseph S.H.* (1980) *Biochem. J.*, **192**(2), 537-542.
24. *Молчанов Д.В.* (2007) Бюлл. гипербар. биол. и мед., **15**(1-4), 67-73.
25. *Шепелева Я.В.* (2004) Влияние гипербарической оксигенации в клинических режимах на перекисное окисление липидов и антиоксидатную защиту головного мозга здорового организма. Дисс. канд. наук, ВГМА Воронеж.

Поступила: 12. 11. 2012.

**EFFECT OF HYPERBARIC OXYGENATION ON METABOLISM
OF GLUTAMINE IN THE LIVER**

P.N. Savilov

Tambov State Technical University, ul. Michurinskaya, 112, Tambov, 392000 Russia
Burdenko Voronezh State Medical Academy, ul. Studencheskaya, 10, Voronezh, 394000 Russia;
email: p_savilov@rambler.ru

The effect of three-day course of hyperbaric oxygenation (HBO; 3 atm, 50 min, 1 session per day) on glutamine metabolism in the liver has been investigated in 72 adult albino rats. The content of ammonia, glutamate, glutamine, activity of glutamine synthetase (GS), phosphate-dependent glutaminase (PDG), and glutamate dehydrogenase (GDH) were studied in left (LLL) and median (MLL) lobes of the liver. The course of HBO had an inhibitory effect on all the enzymes studied. Inhibitory effect of hyperoxia on GDH activity persisted up to day 11 after the course of HBO in both lobes of the liver, while decreased glutamate normalized in both lobes.

Reduced glutamine concentration normalized to day 4, and the concentration of ammonia and remained elevated for 11 days after the end of hyperoxic exposure. Inhibitory effect of hyperoxia on GS activity in LLL and MLL disappeared on day 4 and day 11 day after the end of the HBO course. PDG activity reduced by HBO in both lobes normalized to the day 4 day after oxygenation; however, on day 11 it selectively decreased in LLL, where simultaneous stimulation of GS activity was also observed. The results demonstrate different sensitivity of liver GS, PDG and GDH of normal rats to the inhibitory effect of HBO. Different dynamics of GS and PDG activity in LLL and MLL of oxygenated rats suggests functional heterogeneity of the glutamine cycle in hepatocytes of liver lobes after HBO.

Key words: glutamine metabolism, liver, hyperoxia.