

Experimental Studies

Метаболизм глутамата в структурах головного мозга при экспериментальном геморрагическом шокеВ. Н. Яковлев¹, П. Н. Савилов², Я. В. Булгакова¹¹ Воронежский государственный медицинский университет им. Н. Н. Бурденко, Россия, 394036, г. Воронеж, ул. Студенческая, д. 10² Тамбовская Центральная районная больница, Россия, 392524, Тамбовская область, Тамбовский р-н, с. Покрово-пригородное, ул. Полевая, д. 4**Glutamate Metabolism in Brain Structures in Experimental Hemorrhagic Shock**Viktor N. Jakovlev¹, Pavel N. Savilov², Yaroslava V. Bulgakova¹¹ N. N. Burdenko State Medical University, 10 Studencheskaya Str., Voronezh 394036, Russia² Tambov Central District Hospital, 4 Poleyaya Str., Pokrovo-prigorodnoe 392524, Tambov District, Tambov Region, Russia

Цель исследования — изучить особенности метаболизма глутамата в филогенетически различных отделах головного мозга млекопитающих при геморрагическом шоке (ГШ).

Материал и методы. В опытах на 76 кошках исследовали филогенетически различные отделы головного мозга (кора, лимбический, промежуточный и продолговатый мозг) при ГШ, вызванным дробным кровопусканием из бедренной артерии со скоростью 10 мл/кг • 10 мин в среднем объеме 24±0,8 мл/кг, которое прекращали при снижении артериального давления до уровня 60,0±1,5 мм рт. ст. Исследовали содержание аммиака, глутамата (Гт), α-кетоглутарата (α-КГ), активность глутаминсинтетазы (ГС), глутаминазы, глутаматдегидрогеназы (ГДГ).

Результаты. У интактных животных максимальную активность ГДГ обнаружили в продолговатом мозге (филогенетически самый древний отдел), ГС — в сенсомоторной коре (филогенетически самый молодой отдел), активность глутаминазы не зависела от степени филогенетической зрелости структур головного мозга. При ГШ изменения метаболизма Гт начинались в сенсомоторной коре и проявлялись снижением активности ГС, которое прогрессировало к 70-й минуте постгеморрагического периода (ППП) на фоне отсроченного увеличения активности ГДГ, глутаминазы и накопления Гт. В лимбическом и промежуточном мозге изменения метаболизма Гт (нарушение его вовлечения в синтез глутамина, стимуляция образования Гт при дезамидировании глутамина и аминирования α-КГ) развивались на 70-й минуте ППП и, как в сенсомоторной коре, сопровождалось накоплением Гт. При агонии во всех исследуемых отделах головного мозга развивался дефицит α-КГ из-за его повышенного вовлечения в образование Гт. Одновременно с этим в сенсомоторной коре, лимбическом и промежуточном мозге стимулировалось образование Гт из глутамина, но снижалось вовлечение Гт в образование глутамина. Накопление аммиака независимо от стадии ГШ обнаружили только в сенсомоторной коре, лимбическом и промежуточном мозге; в продолговатом мозге — только при агонии.

Заключение. Геморрагический шок, нарушая метаболизм глутамата в структурах головного мозга, создает условия для его накопления в нервных клетках. Характер и направленность этих нарушений зависят как от интенсивности метаболизма глутамата в филогенетически различных структурах головного мозга на момент острой кровопотери, так и от стадии развития геморрагического шока.

Ключевые слова: геморрагический шок; головной мозг; глутамат; азотистый обмен; глутаминсинтетаза; глутаминаза

Purpose. To study glutamate metabolism characteristics in phylogenetically different parts of the mammalian brain in experimentally induced hemorrhagic shock (HS) in cats.

Material and methods. Experiments were performed on 76 cats. HS was induced by intermittent bloodletting from femoral artery at a rate of 10 ml/kg • 10 minutes, with the average volume of 24±0.8 ml/kg. The bloodletting was discontinued after arterial pressure (BP) drop to 60.0±1.5 mmHg. We studied ammonia, glutamate (Gt), and α-ketoglutarate (α-KG) levels and glutaminase (GS) and glutamate dehydrogenase (GDG) activity in specimens harvested from phylogenetically different parts of the brain (cortex, limbic system, diencephalon, and medulla oblongata).

Results. In intact animals, the peak GDG activity was found in the medulla oblongata (phylogenetically the oldest part of the brain) and the peak GS activity was registered in the sensorimotor cortex (phylogenetically the

Адрес для корреспонденции:Павел Савилов
E-mail: p_savilov@rambler.ru**Correspondence to:**Pavel Savilov
E-mail: p_savilov@rambler.ru

youngest part of the brain); the glutaminase activity did not depend on the phylogenetic age of brain structures. In the case of HS, Gt metabolism changes began in the sensorimotor cortex manifested by decreased GS activity, which progresses by the 70th minute of the post-hemorrhagic period (PHP) accompanied by delayed increase in the GDG and glutaminase activity, as well as Gt accumulation. In the limbic system and diencephalon the Gt metabolism was changing (impaired glutamine synthesis, stimulated Gt synthesis with glutamine desamidization and α -KG amination) when developed by the 70th minute of the PHP. Similarly to sensorimotor cortex, changes were associated with Gt accumulation. During the agony, α -KG deficiency developed in all parts of the brain as a result of its increased contribution to Gt synthesis. At the same period of time, in the sensorimotor cortex, limbic system and diencephalon the Gt synthesis from glutamine was stimulated, however, the Gt contribution to the formation of glutamine was decreased. The accumulation of ammonia regardless of the HS stage was detected only in the sensorimotor cortex, limbic system and diencephalon; in the medulla oblongata ammonium increase was found only during the agony.

Conclusion. HS creates conditions for glutamate accumulation in nerve cells by impairing the metabolism of glutamate in the brain structures. The nature and scope of these disorders depend both on the intensity of glutamate metabolism in phylogenetically different brain structures in acute blood loss and HS.

Key words: hemorrhagic shock, brain; glutamate; nitrogen metabolism; glutamine synthetase; glutaminase

DOI:10.15360/1813-9779-2017-1-6-16

Введение

Биохимические процессы, протекающие в головном мозге, являются объектом пристального исследования в реаниматологии [1–5]. Наиболее распространенным возбуждающим нейротрансмиттером нервной системы позвоночных является глутамат [6], принимающий активное участие в формировании таких когнитивных функций, как обучение и память [7]. Глутамат участвует в классическом проведении нервного импульса от нейрона к нейрону и в объемной нейротрансмиссии [8]. Согласно современным данным [9], образование глутамата в головном мозге позвоночных происходит в результате дезамидирования глутамина, катализируемого глутаминазами, и аминирования α -кетоглутарата в присутствии фермента глутаматдегидрогеназы. Последняя реакция является обратимой. Нейтрализация избытка глутамата осуществляется его вовлечением в образование глутамина, происходящее в астроцитах при участии глутаминсинтетазы и сопровождается нейтрализацией аммиака. Таким образом, метаболизм глутамата в нейронах головного мозга позвоночных сопряжен с обезвреживанием аммиака, повышенная концентрация которого также оказывает нейротоксическое действие на нейроны [10–12].

Установлено, что нарушение метаболизма глутамата в результате его повышенного образования или пониженного связывания, в частности при ишемическом инсульте приводит к его накоплению в ткани головного мозга и гибели нейронов [13]. При геморрагическом шоке в нейронах сенсорной коры нарушение метаболизма глутамата было сопряжено с накоплением аммиака [14]. В патогенезе метаболических нарушений возникающих при нарушении мозгового кровообращения, в том числе и при геморрагическом шоке, ведущую роль играет гипоксия, при этом филогенетическое различие структур головного мозга

Introduction

The biochemical processes in the brain are the subject of intensive studies in resuscitation research area [1–5]. Glutamate is as the main excitatory neurotransmitter of vertebrates' nervous system [6] that contributes to formation of cognitive functions, the training and memory [7]. Glutamate participates both in classical conduction of nervous impulse from neuron to neuron and in volume neurotransmission [8]. According to recent data [9], the glutamate formation in the brain of vertebrates results from deamidation of glutamine catalyzed by glutaminases and amination of α -ketoglutarate with ammonia in the presence of glutamate dehydrogenase. The latter is reversible. Neutralization of glutamate excess occurs by its involving in glutamine formation in astrocytes with glutamine synthetase involvement and is accompanied by ammonia neutralization. Thus, the glutamate metabolism in brain neurons of vertebrates is associated with ammonia neutralization, whose increased concentration also produces the neurotoxic effect on neurons [10–12].

It was found out that impairment of glutamate metabolism as a result of its enhanced production or reduced binding, for example, at an ischemic stroke, leads to its accumulation in brain tissue and death of neurons [13]. In case of hemorrhagic shock, impairment of the glutamate metabolism in neurons of the sensorimotor cortex was associated with accumulation of ammonia [14]. In the pathogenesis of metabolic disorders occurred as a result of disorders of cerebral circulation, including hemorrhagic shock, hypoxia played the leading role [15]. At that, the phylogenetic difference between the structures of the mammalian brain determines their different sensitivity to oxygen deficiency [16], which, in turn, is determined by the metabolism in the neurons [15, 16]. However, there is no information about glutamate metabolism characteristics in phylogenetically

млекопитающих детерминирует их различную чувствительность к дефициту кислорода [15], что определяется особенностью метаболизма в их нейронах [15, 16]. Однако сведения об особенностях метаболизма глутамата в филогенетически разнородных структурах мозга как в норме, так и в условиях геморрагического шока отсутствуют.

Цель исследования — изучение метаболизма глутамата в структурах головного мозга, филогенетически различающихся между собой, при геморрагическом шоке (ГШ), вызванном острой невозмещенной кровопотерей.

Материал и методы

Опыты проведены на 76 кошках (средняя масса $3,2 \pm 0,07$ кг), наркотизированных тиопенталом (20 мг/кг). Геморрагический шок вызывали дробным кровопусканием из бедренной артерии со скоростью 10 мл/кг • 10 мин в среднем объеме $24 \pm 0,8$ мл/кг, которое прекращали при снижении артериального давления (АД) до уровня $60,0 \pm 1,5$ мм рт. ст. Животные были распределены на 4 серии опытов. 1 серия (контроль) — здоровые животные (АД = $154,5 \pm 3,0$ мм рт. ст.); 2 серия — животные через 10 мин после кровопускания и стабилизации АД на уровне $60,0 \pm 1,5$ мм рт. ст. (начальная фаза компенсации, 10 минута постгеморрагического периода); 3 серия — животные, жизнеспособные через 70 мин после кровопускания при АД = $54,7 \pm 2,3$ мм рт. ст. (продолженная фаза компенсации, 70-я мин постгеморрагического периода); 4 серия — животные, у которых в течение 60 ± 14 мин после кровопускания развилась агония на фоне АД = $9,8 \pm 1,5$ мм рт. ст. (фаза декомпенсации). Объектом изучения служила ткань сенсомоторной коры, лимбического мозга (гиппокамп + поясная извилина), промежуточного (таламус + гипоталамус) и продолговатого мозга. Мозг замораживали в жидком азоте, гомогенизировали одну минуту в 0,6 N растворе HClO_4 в соотношении 1:6. Гомогенат экстрагировали на холоду 10 мин и осаждали центрифугированием в центрифуге «ЦВР-1» ($t = 0 - (-4^\circ\text{C})$) при 22000 г в течение 15 мин. Для определения α -кетоглутарата и глутамата HClO_4 удаляли из экстракта в виде перхлората калия, аммиак определяли в кислом экстракте до нейтрализации HClO_4 . Содержание аммиака в ткани головного мозга определяли микродиффузионным методом [12], α -кетоглутарата и глутамата ферментативным методом с глутаматдегидрогеназой [13].

В митохондриальной фракции нервной ткани определяли активность глутаматдегидрогеназы (ГДГ) по скорости восстановительного аминирования α -кетоглутарата [14] и глутаминазы [15], в гомогенате — активность глутаминсинтетазы (ГС) [16]. Выделение митохондриальной фракции проводили методом дифференциального центрифугирования [17]. Содержание белка в гомогенате и митохондриях определяли по методу Лоури [18]. Результаты обработали статистически с применением критерия Вилкоксона-Манна-Уитни.

Результаты и обсуждение

Как видно из табл. 1, у интактных животных содержание глутамата в сенсомоторной коре,

diverse structures of the brain under normal conditions and in hemorrhagic shock.

The purpose of this investigation was to study glutamate metabolism characteristics in phylogenetically different parts of the mammalian brain in hemorrhagic shock (HS) experimentally induced by acute uncompensated blood loss in experimental animals (cats).

Materials and Methods

The experiments were performed in 76 cats (median weight: 3.2 ± 0.07 kg) anaesthetized with thiopental (20 mg/kg). HS was induced by intermittent bloodletting from femoral artery at a rate of 10 ml/kg • 10 min with the average volume of 24 ± 0.8 ml/kg. The bloodletting was discontinued after blood pressure (BP) drop to 60.0 ± 1.5 mmHg. The animals were divided into 4 experimental groups: group 1 (reference group), healthy animals (BP = 154.5 ± 3.0 mm Hg); group 2, animals 10 min after bloodletting and BP stabilization at a level of 60.0 ± 1.5 mm Hg (initial compensation phase, 10th minute of the posthemorrhagic period); group 3, animals who were still alive 70 min after bloodletting with BP = 54.7 ± 2.3 mm Hg (prolonged phase of compensation, 70th min of the posthemorrhagic period); group 4, animals with agony occurred 60 ± 14 min after bloodletting (BP = 9.8 ± 1.5 mm Hg, decompensation phase). Tissues of sensorimotor cortex, the limbic system (hippocampus + cingulate gyrus), diencephalon (thalamus + hypothalamus) and medulla oblongata were examined. The brain was frozen in liquid nitrogen, homogenized for 1 minute in 0.6N HClO_4 solution at a ratio of 1:6. The homogenate was cold extracted for 10 min and precipitated by centrifugation using the CVR-1 centrifuge ($t = 0 - (-4^\circ\text{C})$) at 22000 g for 15 minutes. In order to determine α -ketoglutarate and glutamate levels, HClO_4 was removed from the extract in the form of potassium perchlorate; the ammonia concentration was measured in an acidic extract before HClO_4 neutralization. The ammonia level in brain tissue was measured using the microdiffusion technique [17]; α -ketoglutarate and glutamate concentrations were determined by means of the enzymatic method with glutamate dehydrogenase [18].

The glutamate dehydrogenase (GDH) activity was determined based on the rate of reductive amination of α -ketoglutarate [19] and glutaminase [20] in the mitochondrial fraction of the nervous tissue; the glutamine synthetase (GS) activity was determined in the homogenate [21]. The mitochondrial fraction was isolated by differential centrifugation [22]. The protein content in the homogenate and mitochondria was measured by the Lowry assay [23]. Data were analyzed using the Wilcoxon-Mann-Whitney test.

Results and Discussion

Table 1 demonstrates that the glutamate level in the sensorimotor cortex, limbic system and diencephalon of intact animals was higher than that in medulla oblongata (phylogenetically the oldest part of the brain), by 41, 47 and 38%, respectively. No difference was found between ammonia and α -ketoglu-

Таблица 1. Содержание аммиака, α -кетоглутарата (α -КГ), глутамата, глутамина в отделах головного мозга кошек при геморрагическом шоке (ммоль/кг \cdot л влажной ткани, $M \pm m$).**Table 1.** Content of ammonia, α -ketoglutarat (α -KG), glutamate, glutamine in cats brain departments under hemorrhagic shock (mM/kg \cdot l of the native tissue, $M \pm m$).

Indexes	Values of indexes in the groups			
	1st (n=10)	2nd (n=10)	3rd (n=9)	4th (n=9)
Sensomotor cortex				
Ammonia	0.97 \pm 0.07	1.4 \pm 0.1*	1.45 \pm 0.1*#	1.7 \pm 0.12*
α -KG	59.7 \pm 8.54	50.0 \pm 9.87	51.3 \pm 7.75	28.9 \pm 5.42*
Glutamate	9.11 \pm 0.32?	10.7 \pm 0.55*#	10.5 \pm 0.51*#	9.55 \pm 0.35#
Limbic brain				
Ammonia	1.03 \pm 0.13	1.61 \pm 0.08#	1.53 \pm 0.13*#	1.58 \pm 0.17*
α -KG	51.1 \pm 9.72	49.3 \pm 9.66	55.9 \pm 8.26	27.3 \pm 5.1
Glutamate	9.41 \pm 0.5#	12.0 \pm 0.46*#	11.1 \pm 0.6*#	10.4 \pm 0.28#
Intermediate brain				
Ammonia	0.96 \pm 0.09	1.36 \pm 0.11*	1.35 \pm 0.11*	1.52 \pm 0.17*
α -KG	47.7 \pm 9.2	43.5 \pm 9.55	44.8 \pm 6.86	25.0 \pm 3.84*
Glutamate	8.82 \pm 0.39#	10.4 \pm 0.38*#	9.64 \pm 0.64#	8.43 \pm 0.46
Myelencephalon				
Ammonia	0.93 \pm 0.11	1.18 \pm 0.17	1.15 \pm 0.1	1.45 \pm 0.09*
α -KG	48.3 \pm 6.92	49.1 \pm 8.31	42.2 \pm 8.22	26.2 \pm 2.64*
Glutamate	6.44 \pm 0.23	7.87 \pm 0.5*	7.16 \pm 0.42	7.10 \pm 0.45

Note. Significance of differences at $P < 0.05$ – * – in comparison with norm; # – in comparison with a similar index of myelencephalon in the same experimental group; n – number of animals in the experimental group.

Примечание. Для табл. 1, 2: Indexes – показатели; Values of indexes in the groups – значения показателей в группах; Sensomotor cortex – сенсомоторная кора; Limbic brain – лимбическая система мозга; Intermediate brain – промежуточный мозг; Myelencephalon – продолговатый мозг; n – число животных в группах. Достоверность различий при $p < 0,05$ – * – по сравнению с нормой; # – по сравнению с аналогичным показателем продолговатого мозга данной серии опытов.

лимбическом мозге и промежуточном мозге, превышало аналогичный показатель в продолговатом мозге (филогенетически самый старый отдел головного мозга), соответственно, на 41, 47 и 38%. Между концентрациями аммиака и α -кетоглутарата в исследуемых структурах мозга интактных кошек различий не обнаружили (табл. 1). В свою очередь, активность ГДГ, в промежуточном мозге и сенсомоторной коре была ниже аналогичного показателя продолговатого мозга соответственно на 33 и 51% (табл. 2). В отличие от этого активность ГС в нейронах сенсомоторной коры мозга кошек достоверно превышала аналогичный показатель в клетках лимбического, промежуточного и продолговатого мозга на 32, 42 и 34% соответственно (табл. 2). Из этого следует, что по мере филогенетического развития головного мозга происходит снижение скорости образования глутамата при восстановительном аминировании α -кетоглутарата, но увеличивается скорость вовлечение глутамата в образование глутамина.

Поскольку целью восстановительного аминирования α -кетоглутарата и образования глутамина является нейтрализация аммиака в клетке [19], можно заключить, что в процессе филогенетического развития структур головного мозга изменяется удельный вес этих реакций в нейтрализации аммиака. Если в продолговатом мозге основной реакцией в нейтрализации аммиака является восстановительное аминирование α -кетоглутарата, то уже в промежуточном мозге, филогене-

тарат concentrations in the above brain structures of intact animals (Table 1). In turn, the GDG activity in the diencephalon and the sensorimotor cortex was lower than that in medulla oblongata by 33 and 51%, respectively (Table 2). On the contrary, the GS activity in neurons of cats' sensorimotor cortex was significantly higher than that in neurons of the limbic system, diencephalon, and medulla oblongata by 32, 42, and 34%, respectively (Table 2). It means that the rate of glutamate formation in the reductive amination of α -ketoglutarate decreased during phylogenetic development of the brain, but the rate of glutamate involvement in the glutamine formation increased.

Since the purpose of the reductive amination of α -ketoglutarate and production of glutamine is neutralization of ammonia in a cell [24], it can be concluded, that the contribution of these reactions in neutralization of ammonia changed during the phylogenetic development of brain structures. In the medulla oblongata, the reductive amination of α -ketoglutarate is the primary reaction of ammonia neutralization, whereas is in the medulla oblongata, a phylogenetically younger structure, its dominating role in the neutralization of ammonia begins to decline. It disappears in the sensorimotor cortex, where the evolution assigned it the role in glutamine formation. It is not a mere coincidence that the GS activity in the sensorimotor cortex of intact animals was higher than that in the limbic system, diencephalon and medulla oblongata (Table 2).

Experimental Studies

Таблица 2. Активность глутаминсинтетазы (ГС), фосфатзависимой глутаминазы (ФЗГ) и глутаматдегидрогеназы (ГДГ) в отделах головного мозга кошек при геморрагическом шоке (нмоль/мг белка, $M \pm m$).

Table 2. Activity (nM/mg of protein) of glutaminsynthetase (GS), phosphate-dependent glutaminase and glutamate dehydrogenase (GDG) in cats brain departments under hemorrhagic shock (nM/mg of protein, $M \pm m$).

Indexes	Values of indexes in the groups			
	1 st (n=10)	2 nd (n=8)	3 rd (n=10)	4 th (n=10)
Sensomotor cortex				
GDG	9.72±0.54 [#]	10.7±1.2 [#]	13.5±1.47 [*]	12.3±0.82 ^{**}
GS	1.02±0.04	0.93±0.12	0.74±0.12 [*]	0.65±0.15 [*]
Glutaminase	7.83±0.75	8.95 ±0.4 [#]	8.98±0.46	11.2±0.8 ^{**}
Limbic brain				
GDG	12.2±1.13	12.8±1.24 [#]	16.3±2.2	16.2±0.94 ^{**}
GS	0.77±0.06 ^{**}	0.70±0.16	0.7±0.09	0.61±0.09
Glutaminase	7.07±0.48	9.10 ±0.49 ^{**}	8.21±0.3	9.76±0.65 [*]
Intermediate brain				
GDG	10.7±0.88 [#]	12.2±1.1 [#]	16.0±1.84 [*]	14.7±1.05 ^{**}
GS	0.72±0.06 ^{**}	0.75±0.14	0.53±0.07 [*]	0.52±0.07 [*]
Glutaminase	7.54±0.5	8.33 ±0.4 [#]	8.66±0.49	9.93±0.9 ^{**}
Myelencephalon				
GDG	15.8±1.4	18.2±1.34	18.3±1.47	21.9±1.12 [*]
GS	0.76±0.10 ^{**}	0.74±0.16	0.47±0.06 [*]	0.59±0.09
Glutaminase	6.51±0.44	6.94 ±0.4	8.05±0.32 [*]	7.87±0.6

Note. $P < 0.05$ – * – significance of differences in comparison with norm; # – significance of differences in comparison with a similar index of myelencephalon in the same experimental group; n – number of animals in the experimental group; ** – significance of differences in comparison with a similar index of sensorimotor cortex in the same experimental group.

Примечание. Достоверность различий при $p < 0,05$ – * – по сравнению с нормой; # – по сравнению с аналогичным показателем продолговатого мозга данной серии опытов; ** – по сравнению с аналогичным показателем сенсомоторной коры данной серии опытов.

нетически более молодым по сравнению с продолговатым мозгом, ее доминирующая роль в нейтрализации аммиака начинает снижаться, исчезая в сенсомоторной коре головного мозга. Не случайно активность ГС в сенсомоторной коре головного мозга интактных животных превышала аналогичный показатель в лимбическом, промежуточном и продолговатом мозге (табл. 2).

В отличие от активности ГС и ГДГ, у интактных кошек не обнаружили достоверных различий между активностями глутаминазы в нейронах филогенетически разнородных структур головного мозга (табл. 2). Это указывает на одинаковую скорость дезамидирования в них глутамин, катализируемую этим ферментом. Данное явление вызвано тем, что дезамидирование глутамин в головном мозге является основным источником глутамата как нейромедиатора [9]. Неслучайно активность глутаминазы в головном мозге существенно превышает аналогичный показатель в печени [14]. Нейтрализация глутамата, как и аммиака, происходит через образование глутамин [10].

Сопоставление полученных результатов позволяет говорить о том, что в процессе филогенеза восстановительное аминирование α -кетоглутарата в нейронах головного мозга из основного пути нейтрализации аммиака превращается в одного из «поставщиков» глутамата для нейтрализации аммиака через образование глутамин. Неслучайно, у интактных животных концентрация глутамата в сенсомоторной коре головного

мозга. Unlike the GS and GDG activity, there was no significant difference between the glutaminase activity in neurons of phylogenetically diverse structures of the brain (Table 2), thus indicating the same rate of glutamine deamidation, which is catalyzed by this enzyme. This phenomenon is caused by the fact that glutamine deamidation in the brain is the main source of glutamate as a neurotransmitter [9]. It is no coincidence that the glutaminase activity in the brain is significantly higher than that in liver [14]. The neutralization of glutamate and ammonia occurs through the glutamine formation [10].

A comparison of the results suggests that during phylogenesis the reductive amination of α -ketoglutarate in neurons of the brain turns from the main way of ammonia neutralization into one of the «suppliers» of glutamate required for neutralization of ammonia through the formation of glutamine. It is no coincidence that in intact animals the glutamate concentration in the sensorimotor cortex, the limbic system and diencephalon was higher than that in the medulla oblongata (Table 1).

Glutamate concentration in sensorimotor cortex, limbic system, diencephalon and medulla oblongata demonstrated a 18, 28, 18, and 22% increase, respectively, by the 10th minute of HS (initial compensation phase) (Table 1). At that, the prevalence of this metabolite in the sensorimotor cortex, limbic system, and diencephalon remained as compared to the medulla oblongata, which is typical for the normal state (Table 1). However, the GDG activity

мозга, лимбическом и промежуточном мозге превышала аналогичный показатель в продолговатом мозге (табл. 1).

На 10-й минуте развития ГШ (начальная фаза компенсации) обнаружили увеличение концентрации глутамата в сенсомоторной коре, лимбическом, промежуточном и продолговатом мозге на 18, 28, 18 и 22% соответственно (табл. 1). При этом сохранялось, характерное для нормы, преобладание содержания этого метаболита в сенсомоторной коре, лимбическом и промежуточном мозге над аналогичным показателем в продолговатом мозге (табл. 1). Однако, активность ГДГ в указанных отделах головного мозга оставалась в пределах нормы (табл. 2), как и содержание α -кетоглутарата (табл. 1). При этом сохранялось, характерное для нормы преобладание активности ГДГ в нейронах продолговатого мозга над аналогичным показателем в сенсомоторной коре, промежуточном мозге и проявлялось различие относительно лимбического мозга (табл. 2). Следовательно, накопление глутамата нейронами головного мозга в начальную фазу компенсации ГШ не связано с увеличением его образования в реакции восстановительного аминирования α -кетоглутарата. Неслучайно концентрация последнего в головном мозге на 10-й минуте ГШ оставалась в пределах нормы (табл. 1)

Активность ГС на 10-й минуте ГШ в исследуемых отделах головного мозга также не изменялась, но исчезало, характерное для нормы, различие между ее активностью в лимбическом, промежуточном и продолговатом мозге с аналогичным показателем сенсомоторной коры (табл. 2). Это указывает на высокую чувствительность ГС корковых нейронов к гипоксии вызванной острой кровопотерей, что приводит к снижению скорости образования в них глутамин до уровня характерного клеткам филогенетически более древних структур головного мозга.

В отличие от ГС, на 10-й минуте ГШ в сенсомоторной коре, лимбическом и промежуточном мозге обнаружено увеличение активности глутаминазы относительно аналогичного показателя в продолговатом мозге на 29, 31 и 20% (табл. 2) соответственно. При этом в лимбическом мозге активность глутаминазы на 29% превышала норму (табл. 2). Полученные результаты позволяют говорить об избирательном увеличении в указанный период скорости дезамидирования глутамин в филогенетически более молодых структурах головного мозга. Это следует рассматривать, как одну из причин накопления не только глутамата, но и аммиака. На 10-й минуте ГШ концентрация аммиака в сенсомоторной коре, лимбическом и промежуточном мозге превышала норму на 44, 56 и 42% соответственно (табл. 1).

Сопоставление полученных результатов позволяет говорить о различных механизмах на-

(Table 2) as well as the α -ketoglutarate content (Table 1) in the above brain structures remained within the normal limits. At that, the prevalence of the GDG activity in neurons of the medulla oblongata over the same parameter in the sensorimotor cortex and diencephalon remained, which is typical for the normal state; and this difference was observed with regard to the limbic system (Table 2). Therefore, the glutamate accumulation by neurons in the brain at the initial phase of the HS compensation is not associated with an increase in its formation as a result of reductive amination of α -ketoglutarate. It is no coincidence that the concentration of the latter remained within the normal range in the brain by the 10th minute of HS (Table 1).

The GS activity did not change in the above structures of the brain at the 10th minute of HS, but the difference between its activity in limbic system, diencephalon and medulla oblongata and the same parameter in the sensorimotor cortex which was typical for the normal state disappeared (Table 2). It indicates high sensitivity of GS cortical neurons to hypoxia caused by acute blood loss, which reduces the rate of glutamine formation to the level typical for cells of phylogenetically older structures of the brain.

Unlike GS, by the 10th minute of HS in the sensorimotor cortex, limbic system, and diencephalon, there was a 29, 31, and 20% increase in the glutaminase activity, respectively, vs. the same parameter in the medulla oblongata (Table 2). At that, the glutaminase activity in the limbic system exceeded the normal limits by 29% (Table 2). The obtained results allow to conclude on a selective increase in the glutamine deamidation rate in phylogenetically younger brain structures within the specified period of time. It should be considered one of the causes of accumulation of not only glutamate, but also ammonia. By the 10th minute of HS, the ammonia concentration in sensorimotor cortex, limbic system and diencephalon exceeded the normal limits by 44, 56 and 42%, respectively (Table 1).

The comparison of obtained results allows to conclude on different mechanisms of the glutamate accumulation by brain structures by the 10th minute of HS. In medulla oblongata (a phylogenetically older structure), transamination reaction takes place, which unlike the glutamine formation does not require the ATP presence, whose concentration in the brain of anesthetized animals is reduced [25]. It is no coincidence that the glutamate accumulation in medulla by the 10th minute of HS occurred in the absence of changes in ammonia concentration, as well as in the GDG, GS and glutaminase activity. In phylogenetically younger brain structures, glutamate accumulation occurred as a result of increased rate of glutamine deamidation and its reduced utilization for glutamine formation. The latter is con-

копления глутамата структурами головного мозга к 10-й минуте ГШ. В продолговатом мозге (филогенетически более древнем) это реакции переамирирования, которые, в отличие от образования глутамата, не требуют присутствия АТФ, концентрация которого в головном мозге анемизированных животных снижается [25]. Накопление глутамата в продолговатом мозгу на 10-й минуте ГШ происходило на фоне отсутствия изменений концентрации аммиака, а также активности ГДГ, ГС и глутаминазы. В филогенетически более молодых структурах головного мозга накопление глутамата происходило в результате увеличения скорости деаминации глутамата, а также за счет снижения его использования для образования глутамата. На это указывает различие содержания аммиака и глутамата в сенсомоторной коре, лимбическом и промежуточном мозге на 10-й минуте ГШ.

На 70-й минуте развития ГШ в стадии компенсации в продолговатом мозге обнаружено увеличение активности глутаминазы на 24%. В результате она не отличалась от аналогичного показателя для сенсомоторной коры, лимбического и промежуточного мозга (табл. 2). Однако концентрация аммиака оставалась в пределах нормы, а концентрация глутамата, повышенная на 10-й минуте ГШ, к 70-й минуте нормализовалась (табл. 1). Активность ГДГ в продолговатом мозге на 70-й минуте ГШ в стадии компенсации не изменялись, тогда как активность ГС снижалась на 39% (табл. 2). Нельзя исключить, что отсроченное стимулирование глутаминазы в продолговатом мозге к 70-й минуте ГШ (как и торможение активности ГС) направлено на предупреждение развития дефицита глутамата из-за его активного вовлечения в другие сопряженные метаболические реакции, например переамирирование с пируватом. Отсутствие при этом накопления в продолговатом мозге аммиака следует рассматривать как результат его повышенного выделения в кровотоки, так и стимуляции амирирования карбоксильных групп тканевых белков. Последняя является одним из филогенетически древних механизмов устранения избытка аммиака в клетке [10].

Иная картина наблюдается в филогенетически более зрелых структурах головного мозга (сенсомоторной коре, лимбическом и продолговатом мозге) в стадии компенсации на 70-й минуте ГШ. В этот период происходило отсроченное увеличение активности ГДГ в сенсомоторной коре и промежуточном мозге, соответственно, на 39 и 50% относительно нормы (табл. 2), что указывает на активацию восстановительного амирирования α -кетоглутарата. Однако это не приводило к увеличению концентрации глутамата в указанных отделах головного мозга по сравнению с 10-й

минуте ГШ. В продолговатом мозге (филогенетически более древнем) это реакции переамирирования, которые, в отличие от образования глутамата, не требуют присутствия АТФ, концентрация которого в головном мозге анемизированных животных снижается [25].

By the 70th minute of HS at the stage of compensation, a 24% increase in the glutaminase activity in medulla oblongata was observed. As a result, it did not differ from the same parameter of the sensorimotor cortex, limbic system, and diencephalon (Table 2). However, the ammonia concentrations remained within the normal range, and the glutamate concentration increased at the 10th minute of HS was normalized by the 70th minute (Table 1). The GDG activity in the medulla oblongata did not change by the 70th minute of HS at the stage of compensation, whereas the GS activity was reduced by 39% (Table 2). It is possible that the delayed glutaminase stimulation in the medulla oblongata by the 70th minute of HS (as well as inhibition of GS activity) was intended to prevent the glutamate deficiency due to its active involvement in other associated metabolic reactions, such as transamination with pyruvate. The lack of ammonia accumulation in the medulla is a result of its increased release in the blood flow and stimulation of the tissue protein carboxyl group amidation. The latter is one of the phylogenetically ancient mechanisms of neutralization of ammonia excess in the cell [10].

The situation in phylogenetically older brain structures (sensorimotor cortex, limbic system and medulla oblongata) is quite different at the stage of compensation by the 70th minute of HS. During this period of time, there was a delayed increase in the GDG activity in the sensorimotor cortex and diencephalon by 39 and 50%, respectively, as compared to the reference group (Table 2), thus indicating the activation of the reductive amination of α -ketoglutarate. However, this did not lead to an increase in the glutamate concentration in these brain structures as compared to the 10th minute of the study. On the contrary, in the diencephalon, it was normalized, and in the sensorimotor cortex and limbic system it remained above the normal limits by 11 and 18%, respectively (Table 1). It should be noted that at the 70th minute of HS at the stage of compensation, the glutaminase activity in the sensorimotor cortex, limbic system and diencephalon remained within the normal limits (Table 2). Since glutamate penetrates through the cell membrane with difficulty [26], a comparison of the obtained results indicates a selective increase in the consumption of glutamate by neurons in the sensorimotor cortex and diencephalon in the inhibition of this process in cells of the limbic system.

Glutamine formation is one of biochemical reactions associated with the glutamate consumption. However, a decrease in the GS activity in the sensorimotor cortex and the diencephalon by 27 and 25%, respectively (Table 2) demonstrates the impair-

минутой исследования. Наоборот, в промежуточном мозге она нормализовалась, а в сенсомоторной коре и лимбическом мозге она оставалась выше нормы на 11 и 18% соответственно (табл. 1). Следует заметить, что на 70-й минуте ГШ в стадии компенсации активность глутаминазы в сенсомоторной коре, лимбическом и промежуточном мозге не отличалась от нормы (табл. 2). Поскольку глутамат с трудом проникает через клеточную мембрану [26], то сопоставление полученных результатов указывает на избирательное увеличение потребления глутамата нейронами сенсомоторной коры и промежуточного мозга при торможении данного процесса в клетках лимбического мозга.

Одной из биохимических реакций связанных с потреблением глутамата является образование глутамина. Однако, снижение активности ГС в сенсомоторной коре и промежуточном мозге на 27 и 25% соответственно (табл. 2), указывает на нарушение данной реакции в указанный период наблюдений и объясняет сохранение в них повышенной концентрации глутамата, но не причину несоответствия прироста концентрации глутамата и активности ГДГ. Последнее, скорее всего, вызвано повышенным вовлечением глутамата в реакции переаминирования.

Говоря о причине накопления глутамата в лимбическом мозге на 70-й минуте ГШ в стадии компенсации (табл. 1), следует заметить, что это происходит на фоне отсутствия изменений со стороны ГС, ГДГ и глутаминазы. Поскольку, в отличие от ГДГ и Глутаминазы, деятельность ГС сопряжена с расходом АТФ [10], то следует полагать нарушение вовлечения глутамата в образование глутамина из-за дефицита АТФ, обнаруженного в головном мозге при ГШ [25]. Нарушение образования глутамина следует рассматривать как одну из причин сохранения к 70-й минуте ГШ (стадия компенсации) повышенного содержания аммиака в сенсомоторной коре, лимбическом и промежуточном мозге (табл. 1).

Как видно из табл. 1, в стадии компенсации на 70-й минуте ГШ концентрация α -кетоглутарата в исследуемых структурах головного мозга сохранялась в пределах нормы. В условиях повышенной активности ГДГ (табл. 2), катализирующей его превращение в глутамат путем восстановительного аминирования, можно говорить о снижении в указанный период использования α -кетоглутарата в цикле трикарбоновых кислот.

Сопоставление полученных результатов показывает, что к 70-й минуте стадии компенсации ГШ прогрессируют нарушения метаболизма глутамата в филогенетически более молодых структурах головного мозга (сенсомоторная кора, лимбический и промежуточный мозг). При этом в сенсомоторной коре и промежуточном мозге сни-

ment of these reactions within the specified observation period and explains the maintenance of increased glutamate concentration, but not the reason for the incompletion of increasing glutamate concentrations with GDG activity. The latter may be caused by increased involvement of glutamate in transamination reactions.

As for the reason for the glutamate accumulation in the limbic system by the 70th minute of HS in the stage of compensation (Table 1), it should be noted that the accumulation occurs in absence of changes in GS, GDG, and glutaminase. Since, unlike GDG and glutaminase, the GS activity is associated with ATP consumption [10], it may be concluded that glutamate involvement in the glutamine formation is impaired due to the ATP deficiency detected in the brain during HS [25]. The impairment of the glutamine formation should be considered one of factors maintaining an increased ammonia concentration in the sensorimotor cortex, limbic system, and diencephalon by the 70th minute of HS (the stage of compensation) (Table 1).

Table 1 demonstrates that the α -ketoglutarate concentration in the examined brain structures remained within the normal range at a compensation stage by the 70th minute of HS. In case of increased GDG activity (Table 2) catalyzing its transformation into glutamate by reductive amination α -ketoglutarate consumption in the tricarboxylic acid cycle during the specified period was reduced.

A comparison of results demonstrates that by the 70th minute of the HS compensation stage, disorders of glutamate metabolism are most progressive in phylogenetically younger brain structures (sensorimotor cortex, limbic system and diencephalon). In sensorimotor cortex and diencephalon, the glutamate involvement in the glutamine formation was decreased following persistence of α -ketoglutarate reductive amination stimulated earlier. In the limbic system, the glutamate formation from α -ketoglutarate increased previously was normalized due to alteration of glutamate-to-glutamine formation. At the same time, in the medulla, glutamine this compartment. This was due to the glutamate involvement in coupled metabolic reactions such as transamination and ammonia involvement in the amidation of tissue protein carboxylic groups.

First of all, results show that in animals with the HS agonistic stage caused by acute uncompensated blood loss a decrease in the α -ketoglutarate concentration become evident in all investigated brain structures: by 52% in the sensorimotor cortex, by 47, 48 and 46% in the limbic system, diencephalon and medulla oblongata, respectively (Table 1). Since this metabolite is an important component of the tricarboxylic acid cycle and related metabolic reactions [24], its deficiency indicates severe metabolic disorders, which develop during the agony in the investi-

жается вовлечение глутамата в образование глутамина на фоне сохранения, стимулированного ранее, восстановительного аминирования α -кетоглутарата. В лимбическом мозге образование глутамата из α -кетоглутарата, повышенное ранее, нормализуется на фоне нарушения вовлечения глутамата в образование глутамина. Одновременно в продолговатом мозге стимулируется дезамидирование глутамина, не сопровождаясь накоплением в его клетках глутамата и аммиака. Это объясняется как вовлечением глутамата в сопряженные метаболические реакции, например переаминирования, так вовлечением аммиака в амидирование карбоксильных групп тканевых белков.

Первое, что бросается в глаза при анализе результатов исследования у животных в агональную стадию ГШ, вызванного острой невозмещенной кровопотерей, это снижение концентрации α -кетоглутарата во всех исследуемых структурах головного мозга: в сенсомоторной коре на 52%, в лимбическом, промежуточном и продолговатом мозге на 47, 48 и 46% соответственно (табл. 1). Поскольку данный метаболит является одним из важных компонентов цикла трикарбоновых кислот и сопряженных с ним метаболических реакций [24], то его дефицит указывает на глубокие метаболические нарушения, которые развиваются при агонии в исследуемых структурах головного мозга независимо от степени их филогенетической зрелости. Одной из причин этого следует рассматривать стимуляцию восстановительного аминирования α -кетоглутарата. Неслучайно у агонирующих животных активность ГДГ в сенсомоторной коре, лимбическом, промежуточном и продолговатом мозге превышала норму на 27, 33, 37 и 39% соответственно (табл. 2). Однако, это не предупреждало накопления аммиака, концентрация которого у агонирующих животных превышала норму в сенсомоторной коре, лимбическом, промежуточном и продолговатом мозге на 75, 53, 58 и 56% соответственно (табл. 1). В отличие от продолговатого мозга, в филогенетически более молодых отделах головного мозга одной из причин сохранения высокой концентрации аммиака в агональную стадию являлась стимуляция дезамидирования глутамина. На это указывает повышенная относительно нормы активность глутаминазы в сенсомоторной коре, лимбическом и промежуточном мозге на 43, 38 и 32% соответственно (табл. 2). При этом активность глутаминазы в сенсомоторной коре превышала аналогичный показатель для продолговатого мозга, тогда как активность ГДГ в продолговатом мозге превышала аналогичный показатель в сенсомоторной коре, лимбическом и промежуточном мозге (табл. 2).

В нейронах одновременная нейтрализация глутамата и аммиака связана с образованием глутамина, катализируемым ГС [9]. У агонирующих

gated brain structures irrespectively of their phylogenetic age. It may be explained by the stimulation of α -ketoglutarate reductive amination. It is no coincidence that in agonizing animals the GDG activity in the sensorimotor cortex, limbic system, diencephalon, and medulla oblongata exceeded the normal limits by 27, 33, 37% and 39%, respectively (Table 2). However, it did not prevent the accumulation of ammonia, which concentration in agonizing animals exceeded the normal limits in the sensorimotor cortex, limbic system, diencephalon and medulla oblongata by 75, 53, 58 and 56%, respectively (Table 1). Unlike medulla oblongata, stimulation of glutamine deamidation was one of factors maintaining high ammonia levels in the phylogenetically younger parts of the brain. It was confirmed by a 43, 38 and 32% increase in glutaminase activity in the sensorimotor cortex, limbic system and diencephalon, respectively (Table 2). At the same time, glutaminase activity in sensorimotor cortex exceeded that of medulla oblongata, whereas the GDG activity in the medulla was higher than that in the sensorimotor cortex, the limbic system and diencephalon (Table 2).

In neurons, simultaneous neutralization of glutamate and ammonia is associated with the glutamine formation of catalyzed by GS [9]. Agonizing animals demonstrated a 36 and 28% reduction in the GS activity in the sensorimotor cortex and the diencephalon, respectively (Table 2), thus confirming a reduction in the glutamine formation there. In the limbic system and medulla, the GS activity in the HS agonal stage remained within the normal range (Table 2). However, the latter does not exclude impairment of this metabolic reaction due to ATP deficiency found in the brain during the HS agonal stage [25].

The increased formation of glutamate during reductive α -ketoglutarate amination and glutamine deamidation, as well as impairment of glutamate involvement in the glutamine formation should increase the concentrations of this metabolite in tissue. However, its concentration in all investigated structures of the brain of agonizing animals did not differ from the normal one (Table 1). It demonstrates the increased involvement of glutamate in metabolic reactions associated with its exchange, retaining its high activity even at the agonal stage.

Conclusion

1. Phylogenetically diverse parts of the brain of mammals do not differ in the rate of glutamate formation from glutamine, whereas the rate of glutamate involvement in the glutamine synthesis in neurons of the sensorimotor cortex was higher than that in limbic system, diencephalon and medulla oblongata. The rate of glutamate formation in reductive amination of α -ketoglutarate is the highest in medulla

животных обнаружено снижение активности ГС в сенсомоторной коре и промежуточном мозге на 36 и 28% соответственно (табл. 2), что указывает на нарушение образования в них глутамата. В лимбическом мозге и продолговатом мозге активность ГС в агональную стадию ГШ оставалась в пределах нормы (табл. 2). Однако, это не исключает нарушения данной метаболической реакции из-за дефицита АТФ, что было обнаружено в головном мозге в агональную стадию геморрагического шока [25].

Увеличение образования глутамата в процессе восстановительного аминирования α -кетоглутарата и дезамидирования глутамата, а также нарушение вовлечения глутамата в образование глутамата должно приводить к повышению концентрации данного метаболита в клетке. Между тем, его концентрация во всех исследуемых отделах головного мозга агонирующих животных не отличалась от нормы (табл. 1). Это указывает на повышенное вовлечение глутамата в сопряженные с его обменом метаболические реакции, сохраняющие свою повышенную активность даже в агональную стадию.

Заключение

1. Филогенетически разные отделы головного мозга млекопитающих не различаются между собой по скорости образования глутамата из глутамата, тогда как скорость вовлечения глутамата в синтез глутамата в сенсомоторной коре выше, чем в лимбическом, промежуточном и продолговатом мозге. Скорость образования глутамата при восстановительном аминировании α -кетоглутарата максимальна в продолговатом мозге, минимальна в промежуточном мозге и сенсомоторной коре.

2. При геморрагическом шоке ранние изменения метаболизма глутамата начинаются в нейронах сенсомоторной коры и проявляются снижением вовлечения глутамата в образование глутамата до уровня, характерного филогенетически более старым структурам головного мозга (лимбический, промежуточный и продолговатый мозг). Одновременно с этим в сенсомоторной коре, лимбическом и промежуточном мозге активируется образование глутамата при дезамидировании глутамата. Это вызывает накопление глутамата и аммиака.

3. В пролонгированную фазу компенсации ГШ нарушения метаболизма глутамата в сенсомоторной коре и промежуточном мозге нарастают: наблюдается торможение вовлечения глутамата в образование глутамата из-за снижения активности ГС на фоне стимуляции восстановительного аминирования α -кетоглутарата. В продолговатом мозге отсроченная стимуляция дезамидирования

oblongata and the lowest in the diencephalon and the sensorimotor cortex.

2. In case of hemorrhagic shock, early changes in glutamate metabolism begin in neurons of the sensorimotor cortex and are manifested by decreased glutamate involvement in the glutamine formation to the level typical for phylogenetically older brain structures (limbic system, diencephalon, and medulla oblongata). At the same time, in sensorimotor cortex, limbic system and diencephalon, glutamate production is activated during glutamine deamidation as compared to similar process in medulla oblongata, causing the accumulation of glutamate and ammonia.

3. In prolonged HS compensation phase, disorders of glutamate metabolism in the sensorimotor cortex and diencephalon keep worsening: the glutamate involvement in the glutamine formation is inhibited due to decreased GS activity on the background of stimulation of the reductive amination of α -ketoglutarate. In medulla oblongata, the delayed stimulation of glutamine deamidation is accompanied by the inhibition of its formation that does not result in accumulation of glutamate and ammonia, unlike in other parts of the brain.

4. During the agonal state in animals with HS, the reductive amination of α -ketoglutarate is stimulated in all brain structures irrespective of their phylogenetic maturity and accompanied by a decrease in an α -ketoglutarate concentration with no alterations of glutamate concentrations. At the same time, in phylogenetically younger brain structures (sensorimotor cortex, limbic system and diencephalon) the formation of glutamate by glutamine deamidation reaction is activated due to selective inhibition of glutamate involvement in glutamine formation in neurons in sensorimotor cortex and diencephalon compartments.

глутамата сопровождается торможением его образования, что не приводит, в отличие от других отделов головного мозга, к накоплению глутамата и аммиака.

4. При развитии агонального состояния у животных с ГШ восстановительное аминирование α -кетоглутарата стимулируется во всех исследуемых отделах головного мозга независимо от степени их филогенетической зрелости, сопровождаясь снижением содержания в них α -кетоглутарата при отсутствии изменений концентрации глутамата. Одновременно в филогенетически более молодых отделах головного мозга (сенсомоторная кора, лимбический и промежуточный мозг) активируется образование глутамата при дезамидировании глутамата на фоне избирательного торможения включения глутамата в образование глутамата нейронами сенсомоторной коры и промежуточного мозга.

Литература

1. *Аврущенко М.Ш., Острова И.В., Волков А.В.* Постреанимационные изменения экспрессии глимального нейротрофического фактора (GDNF): взаимосвязь с повреждением клеток Пуркиньи мозжечка (экспериментальное исследование). *Общая реаниматология*. 2014; 10 (5): 59–68. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2014-5-59-68>
2. *Заржецкий Ю.В., Мороз В.В., Волков А.В.* Влияния иммуноактивных препаратов на функциональное восстановление мозга и стероидные гормоны в постреанимационном периоде. *Общая реаниматология*. 2014; 10 (1): 5–11. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2014-1-5-11>
3. *Сергеев А.В., Степанов С.С., Акулинин В.А., Мыщик А.В.* Естественные механизмы защиты головного мозга человека при хронической ишемии. *Общая реаниматология*. 2015; 11 (1): 22–32. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2015-1-22-32>
4. *Острова И.В., Аврущенко М.Ш.* Экспрессия мозгового нейротрофического фактора (BDNF) повышает устойчивость нейронов к гибели в постреанимационном периоде. *Общая реаниматология*. 2015; 11 (3): 45–53. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2015-3-45-53>
5. *Острова И.В., Аврущенко М.Ш.* Нейропротективная роль основного фактора роста фибробластов BFGF при ишемическом повреждении головного мозга (обзор). *Общая реаниматология*. 2015; 11 (6): 48–60. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2015-6-48-60>
6. *Meldrum B.S.* Glutamate as a neurotransmitter in the brain: review of physiology and pathology. *J. Nutr.* 2000; 130 (4S Suppl): 1007S–1015S. PMID: 10736372
7. *McEntee W.J., Crook T.H.* Glutamate: its role in learning, memory, and the aging brain. *Psychopharmacology*. 1993; 111 (4): 391–401. <http://dx.doi.org/10.1007/BF02253527>. PMID: 7870979
8. *Okubo Y., Sekiya H., Namiki S., Sakamoto H., Iinuma S., Yamasaki M., Watanabe M., Hirose K., Iino M.* Imaging extrasynaptic glutamate dynamics in the brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2010; 107 (14): 6526–6531. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0913154107>. PMID: 20308566
9. *Ашмарин И.П., Ещенко Н.Д., Каразеева Е.П.* Нейрохимия в таблицах и схемах. М.: Экзамен; 144: 2010.
10. *Косенко Е.А., Каминский Ю.Г.* Клеточные механизмы токсичности аммиака. М.: ЛКИ; 2008: 288.
11. *Решетняк В.И.* Печёночно-клеточная недостаточность. *Общая реаниматология*. 2005; 1 (3): 68–79. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2005-3-68-79>
12. *Савилов П.Н.* Роль и место гипербарической оксигенации при печёночной недостаточности. *Общая реаниматология*. 2009; 5 (5): 72–79. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2009-5-72>
13. *Hynd M., Scott H.L., Dodd P.R.* Glutamate-mediated excitotoxicity and neurodegeneration in Alzheimer's disease. *Neurochem. Int.* 2004; 45 (5): 583–595. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuint.2004.03.007>. PMID: 15234100
14. *Савилов П.Н., Яковлев В.Н., Малютин В.Э.* Особенности метаболизма глутамина в головном мозге и печени при критических состояниях. *Анестезиология и реаниматология*. 2002; 6: 66–70. PMID: 12611164
15. *Неговский В.А. (ред.)*. Основы реаниматологии. 3-е изд. Ташкент: Медицина; 1977: 600.
16. *Николс Дж.Г., Мартин А.Р., Валлас Б.Дж., Фукс П.А.* От нейрона к мозгу. М.: ЛИБРОКОМ; 2012: 672.
17. *Силакова А.И., Труш Г.П., Явильякова А.И.* Микрометод определения аммиака и глутамина в тканевых трихлоруксусных экстрактах. *Вопросы мед. химии*. 1962; 8 (5): 538–544. PMID: 13992815
18. *Bernd E., Bergmeyer H.U.* L-glutamatbestimmung mit GDH und NAD In: *Bergmeyer H.U. Methoden der enzym. Analyse-Herausg.* Weinheim/Bergs Verlag. Chemie. 1974; 2: 1749–1752.
19. *Schmidt E., Schmidt F.W.* Glutamate dehydrogenase In: *Bergmeyer H.U. Methoden der enzym. Analyse-Herausg.* Weinheim/Bergs Verlag. Chemie. 1983; 3: 216–227.
20. *Beaton J.R., Ozava G.* Activity of liver glutaminases in vitamin B6-deficient rats. *J. Biol. Chem.* 1955; 214 (2): 685–691. PMID: 14381406
21. *Пушкин А.В., Евстигнеева З.Г., Кретович В.Л.* Определение активности глутаминсинтетазы в экстрактах из семян гороха по образованию ортофосфата. *Прикл. биохим. микробиол.* 1972; 3 (1): 96–90.
22. *Jonson D., Lardy I.* Method in enzymology. New York: Acad. Press; 1972: 10, 94–102.
23. *Hartree E.F.* Determination of protein: a modification of the Lowry method that gives a linear photometric response. *Anal. Biochem.* 1972; 48 (2): 422–427. [http://dx.doi.org/10.1016/0003-2697\(72\)90094-2](http://dx.doi.org/10.1016/0003-2697(72)90094-2). PMID: 4115981
24. *Северин Е.С., Алейникова Т.Л., Осипов Е.В., Силаева С.А.* Биологическая химия. М.: МИА; 368: 2008.
25. *Леонов А.Н.* Гипероксия. Адаптация. Саногенез. Воронеж: ВГМА; 2006: 190.
26. *Савилов П.Н., Молчанов Д.В., Яковлев В.Н.* Влияние гипербарической оксигенации на кинетику глутамина в организме при печёночной недостаточности. *Общая реаниматология*. 2012; 8 (2): 20–27. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2012-2-20>

Поступила 06.06.2016

References

1. *Avrushchenko M.Sh., Ostrova I.V., Volkov A.V.* Postresuscitation changes in the expression of glial derived neurotrophic factor (GDNF): association with cerebellar Purkinje cell damage (an experimental study). *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2014; 10 (5): 59–68. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2014-5-59-68>. [In Russ., In Engl.]
2. *Zarzhetsky Y.V., Moroz V.V., Volkov A.V.* Effect of immunoactive drugs on postresuscitation processes in the brain and steroid hormones. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2014; 10 (1): 5–11. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2014-1-5-11>. [In Russ., In Engl.]
3. *Sergeyev A.V., Stepanov S.S., Akulinin V.A., Mytsik A.V.* Natural defense mechanisms of the human brain against chronic ischemia. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2015; 11 (1): 22–32. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2015-1-22-32>. [In Russ., In Engl.]
4. *Ostrova I.V., Avrushchenko M.Sh.* Expression of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) increases the resistance of neurons to death in the postresuscitation period. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2015; 11 (3): 45–53. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2015-3-45-53>. [In Russ., In Engl.]
5. *Ostrova I.V., Avrushchenko M.Sh.* Neuroprotective role of basic fibroblast growth factor in ischemic brain lesion: a review. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2015; 11 (6): 48–60. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2015-6-48-60>. [In Russ., In Engl.]
6. *Meldrum B.S.* Glutamate as a neurotransmitter in the brain: review of physiology and pathology. *J. Nutr.* 2000; 130 (4S Suppl): 1007S–1015S. PMID: 10736372
7. *McEntee W.J., Crook T.H.* Glutamate: its role in learning, memory, and the aging brain. *Psychopharmacology*. 1993; 111 (4): 391–401. <http://dx.doi.org/10.1007/BF02253527>. PMID: 7870979
8. *Okubo Y., Sekiya H., Namiki S., Sakamoto H., Iinuma S., Yamasaki M., Watanabe M., Hirose K., Iino M.* Imaging extrasynaptic glutamate dynamics in the brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2010; 107 (14): 6526–6531. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0913154107>. PMID: 20308566
9. *Ashmarin I.P., Eshchenko N.D., Karazeyeva E.P.* Neurochemistry in tables and diagrams. Moscow: Ekzamen; 144: 2010. [In Russ.]
10. *Kosenko E.A., Kaminsky Yu.G.* Cellular mechanisms of ammonia toxicity. Moscow: LKI; 2008: 288. [In Russ.]
11. *Reshetnyak V.I.* Hepatocytic insufficiency. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2005; 1 (3): 68–79. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2005-3-68-79>. [In Russ., In Engl.]
12. *Savilov P.N.* Role and place of hyperbaric oxygenation in hepatic failure. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2009; 5 (5): 72–79. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2009-5-72>. [In Russ., In Engl.]
13. *Hynd M., Scott H.L., Dodd P.R.* Glutamate-mediated excitotoxicity and neurodegeneration in Alzheimer's disease. *Neurochem. Int.* 2004; 45 (5): 583–595. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuint.2004.03.007>. PMID: 15234100
14. *Savilov P.N., Yakovlev V.N., Malyutin V.E.* Glutamine metabolism in the brain and in the liver in critical conditions. *Anesteziologiya i Reanimatologiya*. 2002; 6: 66–70. PMID: 12611164. [In Russ.]
15. *Negovskiy V.A. (red.)*. Basics of reanimatology. 3-rd ed. Tashkent: Meditsina Publishers; 1977: 600. [In Russ.]
16. *Nicholls J.G., Martin A.R., Wallace B.J., Fuchs P.A.* From neuron to the brain. Moscow: LIBROKOM; 2011: 672. [In Russ.]
17. *Silakova A.I., Trush G.P., Yavilyakova A.I.* Micromethod determination of ammonia and glutamine in the tissue trichloroacetic extracts. *Voprosy Meditsinskoj Khimii*. 1962; 8 (5): 538–544. PMID: 13992815. [In Russ.]
18. *Bernd E., Bergmeyer H.U.* L-glutamatbestimmung mit GDH und NAD In: *Bergmeyer H.U. Methoden der enzym. Analyse-Herausg.* Weinheim/Bergs Verlag. Chemie. 1974; 2: 1749–1752.
19. *Schmidt E., Schmidt F.W.* Glutamate dehydrogenase In: *Bergmeyer H.U. Methoden der enzym. Analyse-Herausg.* Weinheim/Bergs Verlag. Chemie. 1983; 3: 216–227.
20. *Beaton J.R., Ozava G.* Activity of liver glutaminases in vitamin B6-deficient rats. *J. Biol. Chem.* 1955; 214 (2): 685–691. PMID: 14381406
21. *Пушкин А.В., Евстигнеева З.Г., Кретович В.Л.* Определение активности глутаминсинтетазы в экстрактах из семян гороха по образованию ортофосфата. *Прикл. биохим. микробиол.* 1972; 3 (1): 96–90.
22. *Jonson D., Lardy I.* Method in enzymology. New York: Acad. Press; 1972: 10, 94–102.
23. *Hartree E.F.* Determination of protein: a modification of the Lowry method that gives a linear photometric response. *Anal. Biochem.* 1972; 48 (2): 422–427. [http://dx.doi.org/10.1016/0003-2697\(72\)90094-2](http://dx.doi.org/10.1016/0003-2697(72)90094-2). PMID: 4115981
24. *Severin E.S., Aleinikova T.L., Osipov E.V., Silaeva S.A.* Biological chemistry. Moscow: Meditsinskoe Informatsionnoe Agentstvo; 368: 2008. [In Russ.]
25. *Leonov A.N.* Hyperoxia. Adaptation. Sanogenesis. Voronezh: VGMA; 2006: 190. [In Russ.]
26. *Savilov P.N., Molchanov D.V., Yakovlev V.N.* Impact of hyperbaric oxygenation on body glutamine kinetics in hepatic failure. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2012; 8 (2): 20–27. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2012-2-20>. [In Russ., In Engl.]

Received 06.06.2016