

8. Колпащиков Л.А. Олень северный // Фауна позвоночных животных плато Путоран. – М., 2004. – С. 369–377.
9. Подкорытов Ф.М. Содержание микроэлементов (Mn, Zn, Cu, Mo, Co, Ni, Pb) в почвах, кормовых растениях и в организме оленя в условиях Таймыра: автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Дубровицы, 1969. – 24 с.
10. Щелкунова Р.П. Растительность и кормовые ресурсы для оленеводства: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. – Новосибирск, 1980. – 43с.
11. Щелкунова Р.П. Растительность и кормовые ресурсы оленеводства Таймыра // Аграрная Россия. – М., 2000. – №3. – С.36–38.



УДК 577.359

К.В. Шадрин, В.Г. Пахомова,  
А.П. Рупенко, И.И. Моргулис

### МЕТАБОЛИЗМ АЗОТСОДЕРЖАЩИХ СОЕДИНЕНИЙ В ИЗОЛИРОВАННОЙ ПЕРФУЗИРУЕМОЙ ПЕЧЕНИ КРЫСЫ

*В статье представлены результаты исследований метаболизма азотсодержащих и углеводных соединений в изолированной перфузируемой печени крыс после гипоксии, имитированной введением хлорида кобальта.*

**Ключевые слова:** гипоксия, метаболизм углеводов, метаболизм аминов, перфузия изолированного органа.

K.V. Shadrin, V.G. Pakhomova,  
A.P. Rupenko, I.I. Morgulis

### METABOLISM OF NITROGEN-CONTAINING COMPOUNDS IN THE ISOLATED PERFUSED RAT LIVER

*The research results on estimation of nitrogen-containing and carbohydrate compounds metabolism in the isolated perfused rat liver undergoing the hypoxic conditions simulated by cobalt chloride are presented in the article.*

**Key words:** hypoxia, carbohydrate metabolism, nitrogen-containing metabolism, isolated organ perfusion.

**Введение.** Гипоксия является патологическим процессом, возникающим при недостаточном снабжении тканей организма кислородом или нарушении его утилизации в процессе биологического окисления. Она возникает в биологических системах вследствие широкого спектра причин, включая как нормальные физиологические отклонения (при снижении парциального давления кислорода во вдыхаемом воздухе), так и патологические состояния (дыхательная недостаточность [3, 16], анемия [7, 8], отравление токсичными веществами [10, 13]).

Одним из видов гипоксии, приводящих к воспалению мозга [11], повреждению почек и печени [10, 12, 13, 15], раку [6, 9], является гистотоксическая гипоксия. Она может быть следствием ишемии, как в случае инсульта [18], или воспаления, при нейро-воспалительных заболеваниях, таких как болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона и рассеянный склероз [1]. Такой вид гипоксии можно имитировать хлоридом кобальта (CoCl<sub>2</sub>). Хлорид кобальта является общепризнанным агентом, имитирующим состояние гипоксии как *in vivo*, так и *in vitro* [5].

Известно, что хлорид кобальта также оказывает влияние на метаболизм аминокислот: аланина, гистидина и аспарагиновой кислоты [2]. Последняя участвует в процессе синтеза мочевины – главного механизма детоксикации аммиака, который проходит преимущественно в печени. Аммиак является высокотоксичным продуктом, который сформирован эндогенно в процессе катаболизма аминокислот в клетках млекопитающих или в результате уреолитического действия кишечных бактерий. Если концентрация аммиака превышает потенциал синтеза мочевины, проявляются токсические симптомы, такие как печеночная энцефалопатия и гипераммониемия [14, 17]. Поэтому очень важно понимать особенности метаболизма печени, из-за интенсивного изменения окружающей среды часто находящейся в экстремальном состоянии.

**Цель исследования.** Выявить динамику параметров метаболизма азотсодержащих соединений в изолированной перфузируемой печени крысы в условиях гистотоксической гипоксии, имитируемой введением хлорида кобальта.

**Методика исследования.** В экспериментах использовали крыс-самцов Wistar массой тела 200–250 г. Операцию выделения печени проводили под общим тиопентал-натриевым наркозом (100 мг/кг массы животного). Стабилизацию гемостаза осуществляли внутривенным введением в бедренную вену гепарина (1000 ед/кг массы). Печень после канюлирования воротной вены инфузирова (под давлением 5–7 см вод. ст.) охлажденным до +10°С раствором Кребса-Хенселейта. После канюлирования грудного отдела полрой вены печень изолировали и помещали в камеру установки для перфузии изолированных органов. Перфузию проводили с использованием установки с разомкнутым контуром циркуляции среды.

Проведены 4 серии экспериментов:

- серия 1 – печень интактных животных перфузировали по стандартной схеме без дополнительных воздействий (контроль);
- серия 2 – печень интактных животных перфузировали раствором Кребса-Хенселейта с добавлением в перфузат аспарагиновой кислоты ([Asp]=0,2мМ) и хлористого аммония ([NH<sub>4</sub>Cl]=5мМ);
- серия 3 – печень животных, подвергшихся премедикации хлоридом кобальта ([CoCl<sub>2</sub>×6H<sub>2</sub>O]=25мМ) за сутки до операции, перфузировали по стандартной схеме раствором Кребса-Хенселейта;
- серия 4 – печень животных, подвергшихся премедикации хлоридом кобальта ([CoCl<sub>2</sub>×6H<sub>2</sub>O]=25мМ) за сутки до операции, перфузировали по схеме Кребса-Хенселейта с добавлением в перфузат аспарагиновой кислоты и хлористого аммония.

Хлорид кобальта вводили животному подкожно.

Всего в эксперименте использовали 24 животных: по 6 животных на каждую серию экспериментов.

Забор проб осуществляли каждые 10 минут первые 30 минут перфузии, далее – каждые 5 минут. Длительность перфузии – 120 минут, при общей длительности эксперимента (вместе с операцией) около 150 минут.

В ходе эксперимента измеряли следующие параметры: скорость выделения желчи, импеданс сосудов органа, потребление кислорода изолированным органом, продукция глюкозы, продукция мочевины.

**Результаты исследования.** Динамика импеданса сосудов изолированной печени представлена на рисунке 1. Из рисунка можно видеть, что после 70-й минуты в серии 1 импеданс сосудов возрастает, в то время как в сериях 2, 3, 4, т.е. тех, в которых орган подвергался какому-либо воздействию, значение импеданса было постоянным.

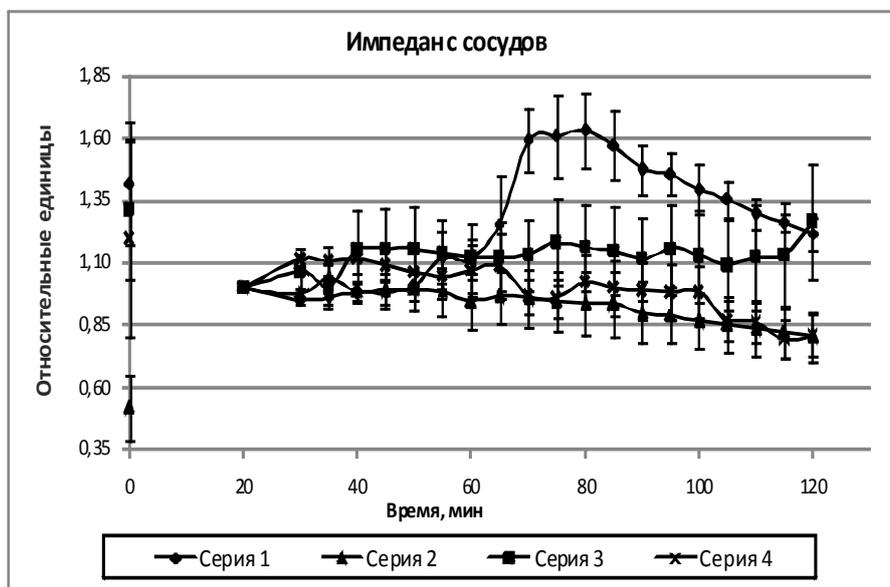


Рис. 1. Динамика импеданса сосудов в течение перфузии

На рисунке 2 представлена динамика скорости продукции желчи в ходе перфузии. График показывает, что орган живет и метаболизирует, выделяя желчь.

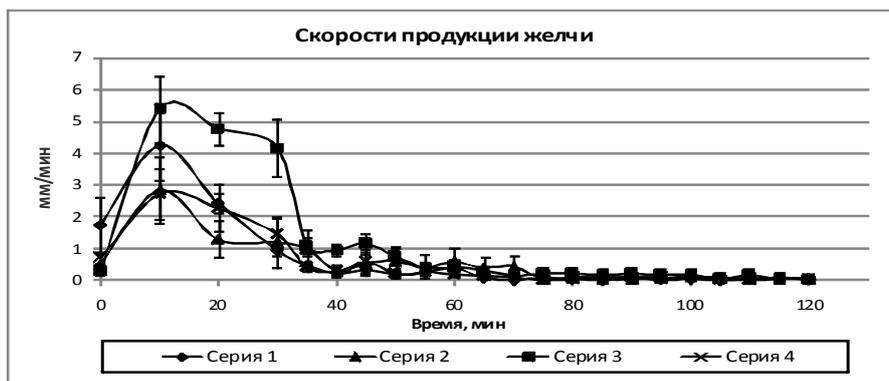


Рис. 2. Динамика скорости продукции желчи в течение перфузии

Для органов серии 1 потребление кислорода падает, что согласуется с увеличением импеданса сосудов, а хлорид кобальта и добавление в среду аспарагиновой кислоты стабилизируют потребление кислорода. Сочетание воздействия кобальтом и добавления в среду аспарагиновой кислоты дополнительно ничего не изменяет (рис. 3).

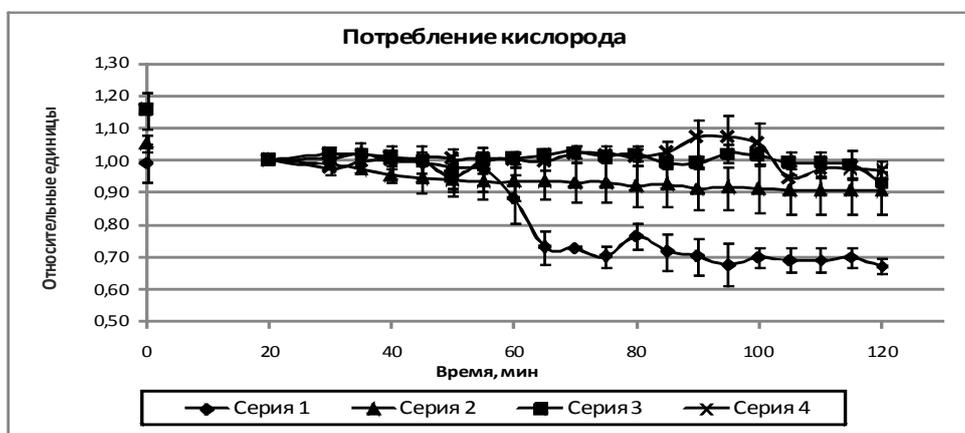


Рис. 3. Динамика потребления кислорода в течение перфузии

Динамика уровня глюкозы в течение перфузии представлена на рисунке 4. Содержание глюкозы в перфузате колеблется. В сериях 3 и 4 (животные подвергались предварительному воздействию кобальтом) колебания ярко выражены (и, если можно так выразиться, «синхронны»). Кроме того, в четвертой серии экспериментов на 95-й минуте наблюдается достаточно сильный выброс глюкозы.

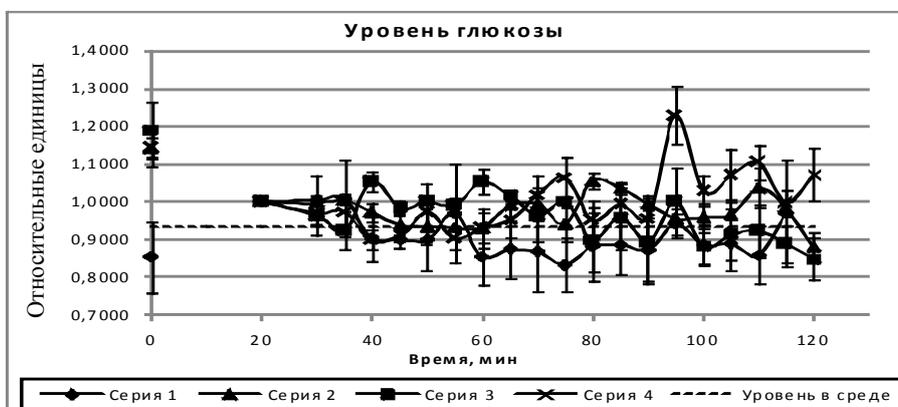


Рис. 4. Динамика уровня глюкозы в течение перфузии

На рисунке 5 представлена динамика уровня мочевины в перфузате, оттекающем от изолированной печени. Как свидетельствуют данные рисунка, в целом уровень мочевины в перфузате, оттекающем от печени крыс, предварительно обработанных хлоридом кобальта, ниже, чем для органов животных, которые хлорида кобальта не получали.

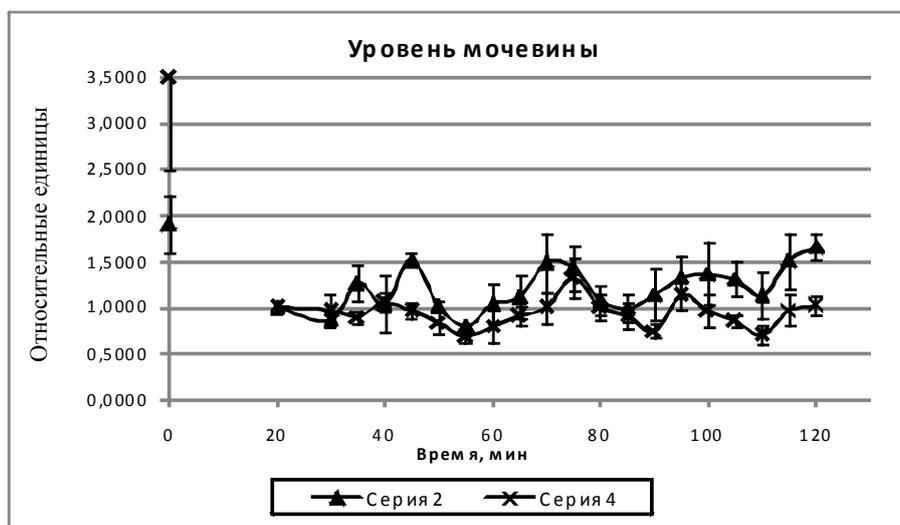


Рис. 5. Динамика уровня мочевины в течение перфузии

### Выводы

В результате проделанной работы оценены параметры жизнедеятельности и метаболизма (импеданс сосудов, скорость продукции желчи, потребление кислорода, концентрации глюкозы и мочевины в перфузионной среде) в изолированной перфузируемой печени крыс, как интактных, так и подвергшихся премедикации хлоридом кобальта.

Представленные результаты указывают на то, что, возможно, за сутки, в течение которых на животное воздействовал кобальт, в клетках печени произошли адаптивные метаболические сдвиги и орган приспособился к условиям недостатка кислорода.

При этом, вероятно, кобальт, стимулируя активность транскрипционного фактора чувствительности к гипоксии (HIF), запускает синтез ферментов гликолиза, что может являться причиной концентрационных осцилляций глюкозы, наблюдаемых в ходе эксперимента. Высокое содержание глюкозы на 95-й минуте перфузии может быть вызвано добавлением аспарагиновой кислоты, входящей в перечень гликогенных аминокислот [19].

Более низкий уровень мочевины в 4-й серии может быть объяснен тем, что хлорид кобальта вызывает повышение активности фермента орнитин декарбоксилазы в печени крыс на 2 порядка [4]. Присутствие хлорида кобальта может приводить к активизации процесса декарбоксилирования орнитина и выведению орнитина из цикла Кребса-Хенселейта, что и выражается в снижении уровня мочевины в перфузате.

Можно заметить, что при воздействии хлоридом кобальта снижается уровень продукции мочевины в печени (как мы полагаем, в результате снижения мощности орнитинового цикла, к которому приводит введение хлорида кобальта), а выброс глюкозы, наблюдаемый на 95-й минуте перфузии, особенно велик. Можно предположить, что в условиях изолированной перфузии хлорид кобальта вызывает относительное изменение мощностей орнитинового цикла и цикла трикарбоновых кислот, что приводит к переключению метаболических путей между обменами аминов и углеводов.

## Литература

1. *Aboul-Enein F., Lassmann H.* Mitochondrial damage and histotoxic hypoxia: a pathway of tissue injury in inflammatory brain disease? // *Acta Neuropathol.* – 2005. – Vol. 109. – № 1. – P. 49–55.
2. *Bar-Or D., Curtis G., Rao N., Bampos N.* Characterization of the Co<sup>2+</sup> and Ni<sup>2+</sup> binding amino-acid residues of the N-terminus of human albumin // *Eur J Biochem.* – 2001. – Vol. 268. – № 1. – P. 42–48.
3. *Benditt J.O.* Initiating noninvasive management of respiratory insufficiency in neuromuscular disease // *Pediatrics.* – 2009. – Vol. 123. – № 4. – P. S236–S238.
4. *Furihata C., Yoshida S., Sato Y.* Inductions of ornithine decarboxylase and DNA synthesis in rat stomach mucosa by glandular stomach carcinogens // *Jpn J Cancer Res.* – 1987. – Vol 78. – № 12. – P. 1363–1369.
5. *Goel R.K., Bagga P.* Cobalt chloride induced histotoxic cerebral hypoxia: A new experimental model to study neuroprotective effect // *J Pharm Educ Res.* – 2010. – Vol. 1. – № 2. – P. 88–95.
6. *Harris A.L.* Hypoxia – a key regulatory factor in tumor growth // *Nature Rev Cancer.* – 2002. – Vol. 2. – № 1. – P. 38–47.
7. Hepatic HIF-2 regulates erythropoietic responses to hypoxia in renal anemia / *P.P. Kapitsinou [et al.] // Blood.* – 2010. – Vol. 116. – № 16. – P. 3039–3048.
8. Anemia is associated with metabolic distress and brain tissue hypoxia after subarachnoid hemorrhage / *P. Kurtz [et al.] // Neurocrit Care.* – 2010. – Vol. 13. – № 1. – P. 10–16.
9. *Lee K., Roth R.A., LaPres J.J.* Hypoxia, drug therapy and toxicity // *Pharmacology & Therapeutics.* – 2007. – Vol. 113. – № 2. – P. 229–246.
10. *Leuschner J., Winkler A., Leushner F.* Toxicokinetic aspects of chronic cyanide exposure in the rat // *Toxicol Lett.* – 1991. – Vol. 57. – № 2. – P. 195–201.
11. Reducing the gray zone: imaging spectrum of hypoperfusion and hypoxic brain injury in adults / *M.J. Moore [et al.] // Emerg Radiol.* – 2010. – Vol. 17. – № 2. – P. 123–130.
12. *Okolie N.P., Osagie A.U.* Liver and kidney lesions and associated enzyme changes induced in rabbits by chronic cyanide exposure // *Food Chem Toxicol.* – 1999. – Vol. 37. – № 7. – P. 745–750.
13. Effects of prolonged cyanide and thiocyanate feeding in rats / *D.J. Philbrick [et al.] // J Toxicol Environ Health.* – 1979. – Vol. 5. – № 4. – P. 579–592.
14. *Roberge A., Charbonneau R.* Metabolism of ammonia. I. Biochemical aspect of ammonia intoxication // *Rev Can Biol.* – 1968. – Vol. 27. – № 4. – P. 321–331.
15. Effect of sub-acute oral cyanide administration in rats: Protective efficacy of alpha-ketoglutarate and sodium thiosulfate / *R.K. Tulsawani [et al.] // Chem Biol Int.* – 2005. – Vol. 156. – № 1. – P. 1–12.
16. Prediction of Respiratory Insufficiency in Guillain-Barre Syndrome / *C. Walgaard [et al.] // Ann Neurol.* – 2010. – Vol. 67. – № 6. – P. 781–787.
17. Interorgan ammonia metabolism in liver failure: the basis of current and future therapies / *G. Wright [et al.] // Liver International.* – 2011. – Vol. 31. – № 2. – P. 163–175.
18. *Zhao Z.-Q., Vinten-Johansen J.* Postconditioning: Reduction of reperfusion-induced injury // *Cardiovasc Res.* – 2006. – Vol. 70. – № 2. – P. 200–211.
19. *Северин Е.С.* Биохимия. – М.: ГЭОТАР-МЕД, 2004. – 784 с.

