

## Кислородный режим и обмен аммиака в сенсомоторной коре головного мозга кошек при кровопотере и гипербарической оксигенации

В. Н. Яковлев<sup>1</sup>, П. Н. Савилов<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Воронежский государственный университет им. Н. Н. Бурденко  
Россия, 394036, г. Воронеж, ул. Студенческая, д.10

<sup>2</sup> Тамбовская Центральная районная больница,  
Россия, Тамбовская область, Тамбовский район, с. Покрово-Пригородное, ул. Полевая, д. 4

## Oxygen Regime and Exchange of Ammonia in the Sensomotor Cortex of Cats During Blood Loss and Hyperbaric Oxygenation

Viktor N. Yakovlev<sup>1</sup>, Pavel N. Savilov<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Burdenko Voronezh State University,  
10 Studentcheskaya Str., 394036 Voronezh, Russia

<sup>2</sup> 4 Polevaya Str., 392524 Pokrovo-Prigorodnoe, Tambov District, Tambov Region, Russia

### Резюме

**Цель исследования** — изучить влияние гипербарической оксигенации (ГБО) на кислородный режим и обмен аммиака в головного мозга кошек при геморрагическом шоке.

**Материал и методы.** В опытах на 164 кошках (самцы) исследовали влияние ГБО (3 ата, 50 мин) на кровоток (МКТ), напряжение кислорода (PO<sub>2</sub>), содержание аммиака (Ам), глутамина (Гн), глутамата (Гт), α-кетоглутарата (α-КГ), активность глутаматдегидрогеназы (ГДГ), глутаминсинтетазы (ГС), фосфатзависимой глутаминазы (ФЗГ) в сенсомоторной коре головного мозга (СКГМ); содержание Ам, Гн и показатели кислородного режима в артериальной крови и венозной крови сагиттального синуса при геморрагическом шоке, вызванном дробным кровопусканием (a.femoralis, 10 мл/кг/10 мин в среднем объеме 24±0,8 мл/кг). Кровопускание прекращали при снижении систолического артериального давления до 60,0±1,5 мм рт. ст. ГБО начинали на 10 минуте постгеморрагического периода и проводили в режиме 3 ата, 60 мин.

**Результаты.** Снижение МКТ и PO<sub>2</sub> в СКГМ развиваются уже на 10-й минуте, прогрессируя в стадию декомпенсации геморрагического шока (60±14 мин). Накопление Ам в СКГМ в стадию декомпенсации геморрагического шока происходит на фоне стимуляции активности ФЗГ и ГДГ, угнетения активности ГС и дефицита α-кетоглутарата. ГБО, не устраняя гипоксию в СКГМ, предотвращает: развитие стадии декомпенсации у животных с геморрагическим шоком, патологическое накопление Ам и снижение активности ГС в СКГМ, увеличивая инкрецию из нее в кровь глутамина. В условиях ГБО сохраняется стимулирующее влияние гипоксии на активность ГДГ, но концентрация глутамата остается в пределах нормы, как и активность ФЗГ.

**Заключение.** Гипербарическая оксигенация, не устраняя гипоксию в СКГМ, которая развивается при геморрагическом шоке, предотвращает нарушение обмена в ней аммиака, вызванное острой невозмещенной кровопотерей.

**Ключевые слова:** гипероксия; кровопотеря; головной мозг; кислород; аммиак; метаболизм

### Summary

**Purpose.** To study the effect of hyperbaric oxygenation (HBO) on the oxygen regime and ammonia metabolism in the neurons of cat cortex in hemorrhagic shock.

**Material and methods.** Experiments were performed on 164 cats (males). The effect of HBO (3 ATA, 50 min) on cerebral blood flow (CBF), oxygen tension (PO<sub>2</sub>), the content of ammonia (Am), glutamine (Gn), glutamate (Gt), α-ketoglutarate (α-KG), the activity of glutamate dehydrogenase (GDG), glutamine synthetase (GS), phosphate-dependent glutaminase (PDG) activity was studied in the sensorimotor cortex (SMC); the content of Am, GN and oxygen parameters in arterial (AB) blood and venous blood (VB) of the sagittal sinus in hemorrhagic shock caused by fractional bloodletting of their femoral artery at a rate of 10ml/kg/10 min in an average volume of 24±0.8 ml/kg, which was stopped with a decrease in systolic blood

Адрес для корреспонденции:

Павел Николаевич Савилов  
E-mail: p\_savilov@mail.ru

Correspondence to:

Pavel N. Savilov  
E-mail: p\_savilov@mail.ru

pressure to the level of  $60.0 \pm 1.5$  mm Hg. HBO was commenced on post-hemorrhagic minute 10 following the regimen of 3 ATA for 60 min.

**Results.** The decrease in CBF and  $PO_2$  in SMC develops as early as the 10th minute of hemorrhagic shock, progressing to the stage of hemorrhagic shock decompensation ( $60 \pm 14$  min). Accumulation of Am in the SMC at the stage of hemorrhagic shock decompensation associated with stimulation of PDG and GDG activity, inhibition of hemorrhagic shock activity and deficiency of  $\alpha$ -KG. HBO, without eliminating hypoxia in SMC, prevented the development of the decompensation stage in animals with GS, pathological accumulation of Am, and a decrease in the activity of hemorrhagic shock. HBO increases the Gn increment from the SMC, into the blood. Under HBO conditions, the stimulating effect of hypoxia on GDG activity remains, but the concentration of glutamate remains within the normal range, as does the activity of PDG.

**Conclusion.** Hyperbaric oxygenation, without eliminating hypoxia in SMC, which develops in hemorrhagic shock, prevents a violation of the exchange of ammonia in it, caused by acute non-compensated blood loss.

**Keywords:** hyperoxia; blood loss; brain; oxygen; ammonia; metabolism

DOI:10.15360/1813-9779-2020-2-64-76

## Введение

Несмотря на большое количество экспериментальных исследований и клинических наблюдений, механизмы развития геморрагического шока (ГШ) продолжают привлекать внимание исследователей. При этом открываются как не известные ранее механизмы адаптации организма к острой массивной кровопотере [1, 2], так и демонстрируется эффективность новых методов ее лечения [3, 4]. В тоже время многие вопросы остаются не изученными, например, метаболизм аммиака в структурах головного мозга на начальном этапе развития ГШ, когда происходит максимальная активация адаптационно-метаболических реакций организма в ответ на острую кровопотерю [5]. Одним из эффективных методов устранения нарушения обмена аммиака в организме при патологии печени является гипербарическая оксигенация (ГБО) [7, 8]. Между тем вопрос о влиянии лечебных режимов ГБО на обмен аммиака в головном мозге при критических состояниях организма остается открытым. Согласно одним исследованиям, гипероксия оказывает выраженный лечебный эффект у больных с патологией головного мозга [8, 9], тогда как по другим данным, определенные режимы гипероксии нарушают мозговой кровоток, провоцируя развитие судорожного синдрома [10].

Цель исследования — изучение влияния ГБО на кислородный режим и обмен аммиака в нейронах сенсомоторной коры головного мозга при геморрагическом шоке, вызванном острой невозмещенной кровопотерей.

## Материал и методы

Опыты провели на 164 кошках (самцы) массой  $3,5 \pm 0,07$  кг, наркотизированных тиопенталом натрия (20 мг/кг). Работу с экспериментальными животными проводили с учетом «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных», утвержденных Приказом МЗ СССР от 12.08.77 г.

## Introduction

Despite a large number of experimental studies and clinical observations, the mechanisms of development of hemorrhagic shock continue to attract the attention of researchers. At the same time, previously unknown mechanisms of adaptation of the body to acute massive blood loss are clarifying [1, 2], and the effectiveness of new methods of its treatment are demonstrating [3, 4]. At the same time, many questions remain unexplored, for example, the metabolism of ammonia in the brain structures at the initial stage of HSh development, when the maximum adaptive metabolic reactions of the body in response to acute blood loss are activated [5]. Hyperbaric oxygenation (HBO) is one of the most effective approaches to fight altered ammonia metabolism in the body in liver pathology [6, 7]. Meanwhile, the effects of treatment regimens of HBO ammonia exchange in the brain in critical conditions remain understudied. There are also many ambiguities on impact of hyperoxia on various brain areas in a critical illness. According to some studies, hyperoxia has a significant therapeutic effect in patients with brain pathology [8, 9]; according to other studies, certain modes of hyperoxia disrupt brain blood flow, provoking the development of convulsive syndrome [10].

The purpose of this study was to study the effect of HBO on the oxygen regime and ammonia exchange in neurons of the sensorimotor cortex of the brain in hemorrhagic shock caused by acute non-compensated blood loss.

## Materials and Methods

Experiments were carried out on 124 cats (males) weighing  $3.5 \pm 0.07$  kg, anesthetized with thiopental-Na (20 mg/kg). Work with experimental animals was carried out taking into account the «Rules of working with experimental animals», approved by the Order of the Ministry of Health of the USSR from 12.08.77 (No. 755). Hemorrhagic shock was caused by acute non-compensated blood loss. It was performed by fractional bloodletting from the right femoral artery (speed 10 ml/kg/10 min, av-

(№ 755). Геморрагический шок вызывали острой невозмещенной кровопотерей. Ее проводили дробным кровопусканием из правой бедренной артерии (скорость 10 мл/кг/10 мин, средний объем 24±0,8 мл/кг). Кровопотерю прекращали при снижении систолического артериального давления (сисАД) до уровня 60,0±1,5 мм рт. ст. ГБО (3 ата (303,6 кПа) — 60 мин) начинали на 10-й минуте после кровопускания. Артериальное давление измеряли прямым способом после катетеризации левой бедренной артерии. Животных распределили на 5 серий опытов. 1 серия (исходное состояние, контроль) — здоровые животные, сисАД=154,5±3,0 мм рт. ст.; 2 серия — животные, исследованные через 10 мин после кровопускания и стабилизации сисАД на уровне 60,0±1,5 мм рт. ст. (начальная фаза компенсации геморрагического шока); 3 серия — животные, жизнеспособные через 70 мин после кровопускания при сисАД=54,7±2,3 мм рт. ст. (продолженная фаза компенсации геморрагического шока); 4 серия- животные, у которых в течении 60±14 мин после кровопускания развилась фаза декомпенсации геморрагического шока (сисАД=9,8±1,5 мм рт. ст.); 5 серия — животные, которых через 10 мин после кровопускания (начальная фаза компенсации геморрагического шока) помещали в барокамеру и проводили сеанс ГБО. (После декомпрессии — сисАД=74,3±6,2 мм рт. ст.). Объектом исследования служили: ткань сенсомоторной коры головного мозга (СКГМ), артериальная кровь (бедренная артерия) и кровь сагиттального венозного синуса. В СКГМ исследовали мозговой кроток методом водородного клиренса [11], напряжение кислорода ( $mPO_2$ ) — полярографическим методом [12]. С помощью микроанализатора крови ВМС 3 Мк2 (Радиометр) в артериальной и венозной крови определяли напряжение кислорода ( $aPO_2$  и  $vPO_2$ ), содержание оксигемоглобина ( $aHbO_2$  и  $vHbO_2$ ), вычисляли содержание кислорода в крови ( $aO_2$  и  $vO_2$ ). Величину доставки кислорода ( $DO_2$ ) в мозг определяли, как произведение мозгового кровотока на  $aO_2$ . Экстракцию кислорода из крови мозгом ( $(a-v)O_2$  вычисляли как артерио-венозную разницу по его содержанию в притекающей (артериальной) и оттекающей (венозной) крови. Потребление кислорода мозгом ( $VO_2$ ) определяли как произведение мозгового кровотока на  $(a-v)O_2$ . Для определения содержания азотистых метаболитов, мозг замораживали в жидком азоте, гомогенизировали 1 минуту в 0,6N растворе  $HClO_4$  в соотношении 1:6. Гомогенат сенсомоторной коры головного мозга экстрагировали на холоду 10 мин и осаждали центрифугированием в центрифуге «ЦВР-1» ( $t=0-(-4^\circ)C$ ) при 22000 g в течение 15 мин. Содержание аммиака в ткани головного мозга определяли микродиффузионным методом [13], глутамина — методом кислотного гидролиза [14],  $\alpha$ -кетоглутарата и глутамата — ферментативным методом с глутаматдегидрогеназой [15]. Содержание аммиака в плазме крови определяли фенилгипохлоритным методом [16], глутамина — методом кислотного гидролиза [14]. Рассчитывали артерио-венозную разницу по аммиаку (АВРам) и глутамину (АВРгн). В митохондриальной фракции СКГМ определяли активность глутаматдегидрогеназы (ГДГ) [17] и фосфатзависимой глутаминазы (ФЗГ) [18], в гомогенате СКГМ — активность глутаминсинтетазы (ГС) [19]. Выделение митохондриальной фракции проводили

erage volume 24±0.8 ml/kg). Blood loss was stopped with a decrease in systolic blood pressure (sysBP) to the level of 60.0±1.5 mm Hg. HBO (3 ATA (303.6 kPa) — 60 min) began on the 10th minute after bloodletting. Arterial blood pressure was measured directly after catheterization of the left femoral artery. Animals are divided into 5 series of experiments: series 1 (original state, control) — healthy animals, sysBP=154.5±3.0 mm Hg; series 2 — animals studied 10 minutes after bloodletting and stabilization of the sysBP at the level of 60.0±1.5 mmHg (initial phase of hemorrhagic shock compensation); series 3 — animals viable 70 min after bleeding (prolonged phase of hemorrhagic shock compensation) when sysBP=54.7±2.3 mm Hg; series 4 — animals studied within 60±14 min after bloodletting during the developed phase of hemorrhagic shock and decompensation with sysBP value 9.8±1.5 mm Hg; series 5 — animals, which were evaluated after 10-min bloodletting (initial phase of hemorrhagic shock compensation) in a pressure chamber and subjected to the HBO session (after decompression, sysBP=74.3±6.2 mm Hg). The objects of the study included: the tissue of the sensorimotor cortex (SMC), arterial blood (femoral artery) and blood of the sagittal venous sinus. In SMC we studied cerebral blood flow (CBF) by the method of the hydrogen clearance [11], oxygen tension ( $cPO_2$ ) was evaluated by the polarographic method [12]. Using the microprobe of the blood of VMS 3 MK2 (Radiometer) in arterial and venous blood, we measured oxygen tension ( $aPO_2$  and  $vPO_2$ ), the content of oxyhemoglobin ( $aHbO_2$  and  $vHbO_2$ ), and calculated the oxygen content in the blood ( $aO_2$  and  $vO_2$ ). The amount of oxygen delivery ( $DO_2$ ) to the brain was determined as the product of  $\mu t$  per  $aO_2$ . Oxygen extraction —  $(a-v)O_2$ -from the blood by the brain was calculated as an arterio-venous difference in its content (concentration of oxyhemoglobin + content of oxygen physically dissolved in plasma) in the flowing in (arterial) and flowing out (venous) blood. The oxygen consumption of the brain ( $vO_2$ ) was determined as the product of the ILC by  $(a-v)O_2$ . For the determination of nitrogenous metabolites, the brain was frozen in liquid nitrogen, homogenized for 1 minute in 0.6 N  $HClO_4$  solution at a ratio of 1:6. Sensorimotor cortex homogenate was extracted in the cold for 10 min and deposited by centrifugation in CVR-1 centrifuge ( $t=0-(-4^\circ)C$ ) at 22000 g for 15 min. Ammonia content in brain tissue was determined by microdiffusion [13], glutamine — by acid hydrolysis [14],  $\alpha$ -ketoglutarate and glutamate — by the enzymatic method with glutamate dehydrogenase [15]. Plasma ammonia was determined by the phenylhypochlorite method [16], l-glutamine — by the method of acid hydrolysis [14]. The arterio-venous difference in ammonia (AVDam) and glutamine (AVDgn) was calculated. In mitochondrial fractions of the nervous tissue, the activity of glutamatdehydrogenase (GDG) [17] and phosphate-dependent glutaminase (PDG) [18], as well as the homogenate glutaminsinhetase activity (GS) were determined [19]. The mitochondrial fraction was isolated by differential centrifugation [20]. The protein content in the homogenate and mitochondria was determined by the Lowry method [21].

Statistical analysis was performed using a personal computer with the help of statistical software package «Statistica 5.5» and «Microsoft Exel XP». The research results (independent samples) were processed statistically using the Student's parametric *t*-test with preliminary

**Таблица 1. Кислородный режим в сенсомоторной коре головного мозга кошек в пролонгированную фазу компенсации геморрагического шока ( $M \pm m$ ).****Table 1. Oxygen regime in the sensorimotor cortex of cats in the prolonged phase of hemorrhagic shock compensation ( $M \pm m$ ).**

Parameters	Values of parameters in the study series		
	Original state, <i>n</i> =10	Phase of HSh compensation	
		The initial, 10 min after blood loss, <i>n</i> =10	Prolonged, 70 min after blood loss, <i>n</i> =10
	1	2	3
<b>Blood</b>			
aPO <sub>2</sub> , kPa	14.94±1.02	15.32±1.21	17.60±1.04
vPO <sub>2</sub> , kPa	7.05±0.72	6.43±0.82	5.68±0.73**
(a-v)PO <sub>2</sub> , kPa	7.89±1.18	8.90±1.48	11.92±1.41**
aHbO <sub>2</sub> , %	97.2±0.71	97.5±0.36	98.0±0.37
vHbO <sub>2</sub> , %	73.6±5.25	67.1±6.15	56.0±7.55**
(a-v)HbO <sub>2</sub> , %	23.6±6.48	30.4±6.20	42.0±7.34**
aO <sub>2</sub> , mmol/l	8.25±0.22	7.45±0.34	6.96±0.28*
vO <sub>2</sub> , mmol/l	6.17±0.45	5.02±0.46	3.58±0.49**
(a-v)O <sub>2</sub> , mmol/l	2.08±0.51	2.43±0.52	3.38±0.62**
<b>Sensomotor cortex</b>			
cPO <sub>2</sub> , %	100	61.3±7.70*	54.1±2.60*
CBF, ml/kg/s	15.8±2.37	10.8±2.44	7.63±1.52**
DO <sub>2</sub> , mkmol/kg/s	131.0±19.9	80.3±18.50	53.1±10.76*
VO <sub>2</sub> , mkmol/kg/s	32.8±9.41	26.2±8.17	25.8±6.94

**Note.** For tabl. 1–3: HSh — hemorrhagic shock; c — cortex; CBF — cerebral blood flow; DO<sub>2</sub> — oxygen delivery; VO<sub>2</sub> — oxygen consumption; aO<sub>2</sub> and vO<sub>2</sub> — oxygen content, respectively, in arterial and venous blood; aHbO<sub>2</sub> and vHbO<sub>2</sub> — the content of oxyhemoglobin, respectively, in arterial and venous blood; (a-v) — arterio-venous difference. \* —  $P < 0.05$ ; \*\* —  $P < 0.01$  — significance of differences in comparison with the original state;

**Примечание.** Для табл. 1–5: Parameters — параметры; Values of ... in the study series — значения... в сериях исследований; Original state — исходное состояние; Phase of — фаза; The initial — начальная; after blood loss — после кровопотери; Prolonged — пролонгированная. Для табл. 1–3: HSh — геморрагический шок; c — кортекс; CBF — мозговой кровоток; DO<sub>2</sub> — доставка кислорода; VO<sub>2</sub> — потребление кислорода; aO<sub>2</sub> и vO<sub>2</sub> — содержание кислорода, соответственно, в артериальной и венозной крови; aHbO<sub>2</sub> и vHbO<sub>2</sub> — содержание оксигемоглобина, соответственно в артериальной и венозной крови; (a-v) — артерио-венозная разница. \* —  $p < 0,05$ ; \*\* —  $p < 0,01$  — достоверность различий по сравнению с исходным состоянием.

методом дифференциального центрифугирования [20]. Содержание белка в гомогенате и митохондриях определяли по методу Лоури [21].

Статистический анализ проводили с использованием пакета статистических программ «Statistica 5.5» и «Microsoft Exel XP». Результаты исследований (независимые выборки) обрабатывали статистически с использованием параметрического *t*-критерия Стьюдента с предварительным определением асимметрии, эксцесса и проверки гипотезы о нормальном выборочном распределении [22].

## Результаты и обсуждение

Как показали исследования (табл. 1), у одной части животных с острой невозмещенной кровопотерей на 10-й минуте развития геморрагического шока отметили снижение cPO<sub>2</sub> на 39% по сравнению с контролем (1 серия). При этом показатели кислородного режима в притекающей и оттекающей от СКГМ крови достоверно не менялись, как и мозговой кровоток и DO<sub>2</sub> (табл. 1). Если развивалась пролонгированная фаза компенсации геморрагического шока (3 серия) происходило снижение мозгового кровотока на 52% ниже контроля (1 серия). Величина cPO<sub>2</sub> достоверно не отличалась от аналогичного показателя начальной фазы компенсации ГШ (2 серия) и оставалась на 46% ниже исходного состояния (табл. 1). Одновременно с этим в крови, протекающей через мозг (табл. 1), vPO<sub>2</sub>

determination of asymmetry, excess, and verification of the hypothesis of a normal distribution of variables [22].

## Results and Discussion

As shown in table 1, one portion (44%) of animals with acute non-compensated blood loss at the 10th minute of hemorrhagic shock development showed a decrease in cPO<sub>2</sub> by 39% compared to the control (series 1). At the same time, the parameters of the oxygen regime in the blood flowing in and out of the SMC did not significantly change, as did the cerebral blood flow with DO<sub>2</sub> (table.1). If the extended phase of hemorrhagic shock compensation developed (series 3, 70 minutes of the post-hemorrhagic period), the cerebral blood flow decreased by 52% below the control (series 1).

The value of cPO<sub>2</sub> did not differ significantly from the same indicator of the initial phase of HSh (series 2) compensation and remained 46% lower than the initial state (table 1). Simultaneously, in the blood that flowed through the brain, vPO<sub>2</sub> decreased by 19%, so (a-v)PO<sub>2</sub> was 51% higher than the original state (series 1) (table 1). The value of vHbO<sub>2</sub> became 24% lower than the control (series 1), so (a-v)HbO<sub>2</sub> 78% higher than it (table 1). The values of aO<sub>2</sub> and vO<sub>2</sub> in the prolonged phase of hemorrhagic shock compensation (series 3) decreased relative to the initial state (series 1) by 16% and 42%, as a result (a-v)O<sub>2</sub> exceeded it by 63% (table 1).

**Таблица 2. Кислородной режим в сенсомоторной коре головного мозга кошек в фазу декомпенсации (агония) геморрагического шока ( $M \pm m$ ).****Table 2. Oxygen regime in the sensorimotor cortex of cats in the phase of decompensation (agony) of hemorrhagic shock ( $M \pm m$ ).**

Parameters	Values of parameters in the study series		
	Original state, <i>n</i> =9	The initial phase of HSh compensation, 10 min after blood loss, <i>n</i> =9	Phase of HSh decompensation 60±14 min after blood loss, <i>n</i> =9
	1	2	4
<b>Blood</b>			
aPO <sub>2</sub> , kPa	15.73±0.94	16.72±0.82	15.83±0.89
vPO <sub>2</sub> , kPa	5.69±0.22	4.56±0.32*	5.16±0.69
(a-v)PO <sub>2</sub> , kPa	10.04±0.88	12.16±0.92	10.67±0.69
aHbO <sub>2</sub> , %	97.3±0.41	97.8±0.23	93.8±0.85*
vHbO <sub>2</sub> , %	65.20±3.57	48.10±4.68*	36.6±6.70**
(a-v)HbO <sub>2</sub> , %	32.10±2.37	49.7±4.67*	57.20± 6.94**
aO <sub>2</sub> , mmol/l	8.00±0.22	7.00±0.31	6.60±0.22*
vO <sub>2</sub> , mmol/l	5.28±0.29	3.21±0.326*	2.32±0.43*
(a-v)O <sub>2</sub> , mmol/l	2.72±0.32	3.79±0.45	4.28±0.54*
<b>Sensomotor cortex</b>			
cPO <sub>2</sub> , %	100	67.10±4.36*	42.20±7.04*
CBF, ml/kg/s	16.20±1.85	8.22±0.89*	4.58±0.50*
DO <sub>2</sub> , mkmol/kg/s	129.0±15.2	57.60±6.78*	30.2±3.44**
VO <sub>2</sub> , mkmol/kg/s	44.00±7.41	31.10±5.17	19.6±3.26*

**Note.** \* —  $P < 0.05$ ; \*\* —  $P < 0.01$  — significance of differences in comparison with the original state;

**Примечание.** \* —  $p < 0,05$ ; \*\* —  $p < 0,01$  — достоверность различий по сравнению с исходным состоянием.

снижалось на 19%, результате чего (a-v)PO<sub>2</sub> становилась на 51% выше исходного состояния (1 серия). Величина vHbO<sub>2</sub> становилась на 24% ниже контроля (1 серия), поэтому (a-v)HbO<sub>2</sub> превышала его на 78% (табл. 1). В свою очередь величины aO<sub>2</sub> и vO<sub>2</sub> в пролонгированную фазу компенсации геморрагического шока (3 серия) снижались относительно исходного состояния (1 серия) на 16 и 42%, в результате (a-v)O<sub>2</sub> превышала его на 63% (табл. 1).

У другой части нелеченых животных с геморрагическим шоком (табл. 2) в начальную в фазу компенсации (2 серия) наблюдали снижение vPO<sub>2</sub> на 20% относительно контроля (1 серия), однако достоверного изменения (a-v)PO<sub>2</sub> не происходило. Вместе с тем, снижение величины vHbO<sub>2</sub> на 26% относительно 1 серии определяло увеличение (a-v)HbO<sub>2</sub> на 55% по сравнению с исходным состоянием (1 серия). Это сопровождалось (табл. 2) снижением в сенсомоторной коре головного мозга cPO<sub>2</sub>, мозгового кровотока и DO<sub>2</sub> на 40, 21 и 30%, соответственно, по сравнению с контролем (1 серия). У животных этой группы в течении 60±14 мин постгеморрагического периода развивалась стадия декомпенсации геморрагического шока (4 серия), которая характеризовалась 4-х кратным падением DO<sub>2</sub> в сенсомоторной коре головного мозга, 3-х кратным снижением мозгового кровотока, 2-х кратным снижением cPO<sub>2</sub> относительно контроля (1 серия). В крови при этом величина vPO<sub>2</sub> оставалась на 20% ниже исходного состояния (1 серия); aHbO<sub>2</sub> и vHbO<sub>2</sub> были снижены относительно него на 4% и 26%, в результате (a-v)HbO<sub>2</sub> повышалась на 78% (табл. 2). В свою очередь снижение vO<sub>2</sub> на

In another part of the untreated animals with hemorrhagic shock at the initial stage of the compensation phase (series 2), a 20% decrease of vPO<sub>2</sub> relative to the control (series 1) was observed, but there was no significant change of (a-b) HbO<sub>2</sub>. However, the decline of vHbO<sub>2</sub> by 26% relative to series 1 determined the increase in (a-v)HbO<sub>2</sub> by 55% compared to the initial value (series 1) (table 2). This was accompanied by a 40%, 21% and 30% decrease, vs. the control (series 1), in SMC values of cPO<sub>2</sub>, cerebral blood flow and DO<sub>2</sub>, respectively (table 2). The animals of this group developed the decompensated stage of hemorrhagic shock within 60±14 min of posthemorrhagic period (series 4). As can be seen from table 2, the phase of decompensation of hemorrhagic shock was characterized by a 4-fold drop in DO<sub>2</sub> in SMC, 3-fold decrease in cerebral blood flow, 2 — fold decrease in cPO<sub>2</sub> relative to the control (series 1), i.e. decompensated brain hypoxia developed. In the blood, the magnitude of the vPO<sub>2</sub> remained 20% below its initial state (series 1), aHbO<sub>2</sub> and vHbO<sub>2</sub> were reduced relative to it by 4% and 26%; therefore, (a-v)HbO<sub>2</sub> increased by 78% (table 2). A 56% decrease of vO<sub>2</sub> in the decompensation phase of hemorrhagic shock resulted in a 56% increase of (a-v)O<sub>2</sub> relative to the initial level (table 2).

Among the compensatory mechanisms triggered by acute blood loss, there are three «hemic» mechanisms for compensating oxygen deficiency in the body: arterial-hyperoxemic, venous-hypoxemic, and combined. The arterial-hyperoxemic mechanism of hypoxia compensation is associated with hyperventilation of the lungs and is typical for mild and moderate blood loss. It is characterized by

56% в фазу декомпенсации геморрагического шока приводило к увеличению на 57% (a-v) $O_2$  относительно исходного состояния (табл. 2).

Среди компенсаторных механизмов, запускаемых при острой кровопотере, различают три «гемических» механизма компенсации дефицита кислорода в организме: артериально-гипероксемический, венозно-гипоксемический и сочетанный. Артериально-гипероксемический тип связан с гипервентиляцией легких, характерен для легкой и средней тяжести кровопотери и характеризуется повышением a $PO_2$  и aHb $O_2$ . Венозно-гипоксемический механизм обеспечивается сдвигом кривой диссоциации оксигемоглобина вправо в результате снижения pH крови и накопления 2,3-дифосфоглицерата в эритроцитах. Он проявляется снижением v $PO_2$  и vHb $O_2$ . Патфизиологический смысл этих реакций заключается в увеличении количества кислорода, поступающего из крови в ткани. Сопоставление полученных результатов показывает, что повышение диффузии кислорода из артериальной крови в нейроны СКГМ, развивающееся в ответ на ишемию головного мозга, не предотвращает развитие в них гипоксии на 10-й минуте развития геморрагического шока. Иными словами, синдром централизации кровообращения при острой невозмещенной кровопотере не предупреждает развитие гипоксии СКГМ при снижении сисАД до 60,0±1,5 мм рт. ст. При этом обнаружили следующую особенность ранней адаптации СКГМ к массивной кровопотере. Если у животных на 10-й мин постгеморрагического периода увеличение (a-v) $PO_2$  не сопровождалось изменением концентрации Hb $O_2$  при прохождении крови через мозговые сосуды, то на 70-й минуте постгеморрагического периода поддержание в пределах нормы v $O_2$  у этих животных обеспечивалось попыткой сформировать артериально-гипероксемическую (тенденция к повышению a $PO_2$  и aHb $O_2$ ) компенсаторную реакцию, на фоне развития венозно-гипоксемической (снижение v $PO_2$  и vHb $O_2$ ) компенсаторной реакции. В результате к 70-й минуте геморрагического шока развивалась пролонгированная фаза компенсации. Она характеризовалась увеличением экстракции мозгом кислорода из крови, на что указывает увеличение (a-v) $PO_2$ , (a-v)Hb $O_2$  и (a-v) $O_2$  (табл. 1). Однако, сочетанный тип компенсаторных механизмов адаптации к гипоксии является крайней степенью их напряжения и отличается неустойчивостью [23]. Поэтому животные с пролонгированной фазой компенсации геморрагического шока после острой невозмещенной кровопотери все равно погибали в течении 1,5–4 часов.

Если же у животных с геморрагическим шоком включение венозно-гипоксемической реакции (снижение v $PO_2$  и vHb $O_2$ , увеличение (a-v)Hb $O_2$ ) компенсации начиналось на 10-й

increased a $PO_2$  and aHb $O_2$ . The venous-hypoxemic mechanism is provided by the shift of the dissociation curve of oxyhemoglobin to the right as a result of a decrease in blood pH and the accumulation of 2,3-diphosphoglycerate in erythrocytes. It is characterized by a decrease of v $PO_2$  and vHb $O_2$ . The pathophysiological meaning of these reactions is to increase the amount of oxygen coming from the blood into the tissue. Comparison of the results shows that increased diffusion of oxygen from the arterial blood into the neurons of SMC, developing in response to cerebral ischemia, does not prevent the development of hypoxia in them at the 10th minute into hemorrhagic shock development. In other words, the syndrome of blood circulation centralization, developing in acute blood loss, does not prevent the development of hypoxia of SMC with a decrease in systolic BP to 60.0±1.5 mm Hg. The following feature of early adaptation of SMC to massive blood loss was found. If in the animals at the 10<sup>th</sup> min of the post-hemorrhagic period, increased (a-v) $PO_2$  was not accompanied by a change in the concentration of Hb $O_2$  during the passage of blood through the cerebral vessels, then at the 70<sup>th</sup> minute of the post-hemorrhagic period, the maintenance of normal  $VO_2$  in these animals was provided by an attempt to form an arterial-hyperoxemic (a tendency to increase a $PO_2$  and aHb $O_2$ ) compensatory reaction following the venous-hypoxemic (decrease in v $PO_2$  and vHb $O_2$ ) one. As a result, a prolonged compensation phase was developed by the 70<sup>th</sup> minute of hemorrhagic shock. It was characterized by an increase in extraction of oxygen from the blood by brain, as indicated by an increase in (a-b) $PO_2$ , (a-v)Hb $O_2$ , and (a-v) $O_2$  (table 1). However, the combined type of compensatory mechanisms of adaptation to hypoxia is an extreme degree of their stress and is characterized by instability [23]. Therefore, in our studies, animals with a prolonged phase of compensation for hemorrhagic shock after acute non-compensated blood loss still developed agony and died within 1.5–4.0 hours.

If in animals with hemorrhagic shock, the activation of venous-hypoxemic reaction (decrease in v $PO_2$  and vHb $O_2$ , increase in (a-v)Hb $O_2$ ) of compensation began at the 10<sup>th</sup> min of the post-hemorrhagic period, they, as it turned out, had low resistance to blood loss. They had a decompensation phase at 60±14 minutes of the post-hemorrhagic period and died. During this period, the venous-hypoxemic reaction was maintained as a result of a significant increase in (a-b) $O_2$  (table 1), but it was not enough to preserve the life-compatible  $VO_2$  of the brain tissue.

The use of HBO at the 10th minute of hemorrhagic shock development stimulated the development of arterial-hyperoxemic reaction of the body to blood loss (table 3). Therefore, despite the rapid desaturation of oxygen from the brain tissue and blood in the early (5–10 min) posthyperoxic period,

**Таблица 3. Влияние гипербарической оксигенации (ГБО) на кислородный режим в сенсомоторной коре головного мозга кошек при геморрагическом шоке ( $M \pm m$ )****Table 3. Effect of hyperbaric oxyguation (HBO) on oxygen regime in the sensomotor cortex of cats in hemorrhagic shock ( $M \pm m$ )**

Parameters	Values of parameters in the study series		
	Original state, $n=10$	The initial phase of HSh compensation, 10 min after blood loss, $n=10$	HSh+HBO 70 min after blood loss, $n=10$
	1	2	5
<b>Blood</b>			
aPO <sub>2</sub> , kPa	13.82±0.82	16.80±0.67*	18.47±0.92**
vPO <sub>2</sub> , kPa	5.71±0.28	5.52±0.41	5.31±0.41
(a-v)PO <sub>2</sub> , kPa	8.11±0.67	11.88±0.81*	13.16±1.17*
aHbO <sub>2</sub> , %	96.6±0.52	98.3±0.11*	98.3±0.22*
vHbO <sub>2</sub> , %	69.2±3.77	65.3±2.52	60.1±4.64
(a-v)HbO <sub>2</sub> , %	26.4±3.21	33.0±2.58	38.2±4.69*
aO <sub>2</sub> , mmol/l	7.63±0.22	6.65±0.18*	6.34±0.23*
vO <sub>2</sub> , mmol/l	5.50±0.28	4.28±0.18*	3.75±0.30*
(a-v)O <sub>2</sub> , mmol/l	2.13±0.20	2.37±0.19	2.59±0.30
<b>Sensomotor cortex</b>			
cPO <sub>2</sub> , %	100	58.8±6.71*	57.8±12.7*
CBF, ml/kg/s	14.4±0.90	9.30±0.70*	8.70±1.00*
DO <sub>2</sub> , mkmol/kg/s	110.0±7.76	61.6±4.95*	55.3±6.74*
VO <sub>2</sub> , mkmol/kg/s	30.7±3.53	21.9±2.41	22.5±3.66

**Note.** \* —  $P < 0.05$ ; \*\* —  $P < 0.01$  — significance of differences in comparison with the original state.

**Примечание.** \* —  $p < 0,05$ ; \*\* —  $p < 0,01$  — достоверность различий по сравнению с исходным состоянием.

мин постгеморрагического периода, то они, как оказалось, имели низкую резистентность к кровопотере. У них наступала фаза декомпенсации на  $60 \pm 14$  мин постгеморрагического периода и они погибали. Сохранения к этому сроку венозно-гипоксемической реакция в результате значительного увеличения (a-v)O<sub>2</sub> (табл. 1) оказалось недостаточно для сохранения совместимого с жизнью потребления кислорода (VO<sub>2</sub>) мозговой тканью.

Применение ГБО на 10-й минуте развития геморрагического шока стимулировала развитие артериально-гипероксемической реакции организма на кровопотерю (табл. 3). Поэтому, несмотря на быструю десатурацию кислорода из ткани мозга и крови в раннем (5–10 мин) постдекомпрессионном периоде, величины aPO<sub>2</sub>, aHbO<sub>2</sub> и (a-v)O<sub>2</sub> у оксигенированных кошек на 70-й минуте развития геморрагического шока превышали исходное состояние (1 серия), соответственно, на 34, 2 и 62% (табл. 3). Однако, на фоне сниженного (на 40%) мозгового кровотока это оказалось недостаточным, чтобы нормализовать доставку кислорода к нейронам СКГМ. PO<sub>2</sub> в ней оставалось ниже контроля (1 серия) на 50%, свидетельствуя о развитии постгипероксической гипоксии (табл. 3). Между тем, в отличие от нелеченых животных с геморрагическим шоком, у которых 2-х кратное снижение DO<sub>2</sub> в мозге служило пусковым фактором развития венозно-гипоксемической реакции, у оксигенированных животных в постгипероксическом периоде эта реакция отсутствовала: vPO<sub>2</sub> и vHbO<sub>2</sub> достоверно не отличались от исходного состояния (табл. 3). Можно предположить, что гипернасыщение

the values of aPO<sub>2</sub>, aHbO<sub>2</sub> and (a-v)O<sub>2</sub> in oxygenated cats at the 70<sup>th</sup> minute of hemorrhagic shock development (series 5) exceeded the initial state (series 1), respectively, by 34%, 2%, and 62% (table 3). However, on the basis of reduced (40%) cerebral blood flow, it was not enough to normalize the delivery of oxygen to the brain, where PO<sub>2</sub> remained below the norm (series 1) by 50%. This indicates the development of posthyperoxic hypoxia (table 3). Meanwhile, unlike untreated animals with hemorrhagic shock, in which a 2-fold decrease in DO<sub>2</sub> in the brain served as a trigger for the development of venous-hypoxemic reaction, in oxygenated animals with hemorrhagic shock in the posthyperoxic period, this reaction was absent: vPO<sub>2</sub> and vHbO<sub>2</sub> did not differ significantly from the norm (table 3). We can assume that prior (during the session), over-oxygenation of the brain had made the engagement of the venous-hypoxemic compensation mechanism of hypoxia immediately after decompression unnecessary. It should be noted that the reaction of compensation of oxygen deficit in the brain of oxygenating animals with hemorrhagic shock was characterized by stability during the posthyperoxic period. It is no coincidence that 100% daily survival of oxygenated animals with acute non-compensated blood loss was observed in that group after decompression.

Studies of ammonia metabolism in SMC of cats in hemorrhagic shock have shown (table 4) that at the initial stage (10<sup>th</sup> min) of the formation of the extended phase of hemorrhagic shock compensation AVDam remained unreliable, although the concentration of ammonia in the SMC neurons was increased by 44% (table 5). However, by the 70<sup>th</sup> minute, in the animals of this series negative

**Таблица 4. Влияние гипербарической оксигенации (ГБО) на содержание аммиака и глутамина (ммоль/л) в артериальной и венозной крови сагитального синуса головного мозга кошек при геморрагическом шоке ( $M \pm m$ )**

**Table 4. Effect of hyperbaric oxygenation (HBO) on ammonia and glutamine (mmol/l) in arterial and venous blood of the sagittal sinus of the cat brain in hemorrhagic shock ( $M \pm m$ )**

Parameters	Values of parameters in the study series		
	Original state, <i>n</i> =10	The initial phase of HSh compensation, 10 min after blood loss, <i>n</i> =10	Prolonged compensation phase of HSh, 70 min after blood loss, <i>n</i> =10
	1	2	3
a-ammonium	0.142±0.016	0.138±0.017	0.142±0.013
v-ammonium	0.138±0.021	0.138±0.018	0.162±0.030
AVDam	nd	nd	-0.021±0.006
a-glutamine	0.388 ±0.039	0.405±0.069	0.560±0.057*
v-glutamine	0.424±0.061	0.470±0.066	0.488±0.050
AVDgn	nd	-0.065±0.015	0.072±0.026
Indicators	Original state, <i>n</i> =10	The initial phase of HSh compensation, 10 min after blood loss, <i>n</i> =10	HSh decompensation phase (60±14 min), <i>n</i> =10
	1	2	4
	1	2	4
a-ammonium	0.145±0.016	0.166±0.015	0.271±0.027**
v-ammonium	0.149±0.018	0.135±0.017	0.221±0.021
AVDam	nd	0.031±0.010	0.050±0.013
a-glutamine	0.296 ±0.033	0.263±0.037	0.329±0.045
v-glutamine	0.288±0.026	0.288±0.032	0.355±0.033
AVDgn	nd	nd	nd
Indicators	Original state, <i>n</i> =10	The initial phase of HSh compensation, 10 min after blood loss, <i>n</i> =10	HSh +HBO 70 min after blood loss, <i>n</i> =10
	1	2	5
	1	2	5
a-ammonium	0.167±0.010	0.171±0.023	0.183±0.025
v-ammonium	0.181±0.025	0.164±0.026	0.197±0.026
AVDam	nd	nd	nd
a-glutamine	0.430 ±0.052	0.447±0.026	0.430±0.074
v-glutamine	0.460±0.044	0.474±0.065	0.489±0.066
AVDgn	nd	nd	-0.059±0.028

**Note.** AVDam, AVDgn — accordingly, the arterio-venous difference in ammonia and glutamine; nd — the difference is unreliable. \* —  $P < 0.05$  — significance of differences in comparison with the original state.

**Примечание.** AVDam и AVDgn — соответственно артерио-венозная разница по аммиаку и глутамину; nd — разница недостоверна. \* —  $p < 0,05$  — достоверность различий относительно исходного состояния.

мозга кислородом во время сеанса делало излишним включение сразу после декомпрессии венозно-гипоксемического механизма компенсации гипоксии. У оксигенированных животных с геморрагическим шоком реакции компенсации дефицита кислорода в СКГМ отличались стабильностью в постдекомпрессионном периоде. Не случайно в этой группе после декомпрессии отметили 100% суточная выживаемость.

Исследования обмена аммиака в СКГМ кошек при геморрагическом шоке показали (табл. 4), что на начальном этапе (2 серия) формирования пролонгированной фазы компенсации геморрагического шока сохранялась недостоверная АВРам, хотя концентрация аммиака в нейронах СКГМ при этом увеличивалась на 44% относительно исходного состояния (табл. 5). Однако, к 70-й минуте развития геморрагического шока (3 серия) у животных формировалась отрицательная АРВам (табл. 4), что указывает на повышенную инкрецию аммиака из нейронов коры в кровь. Благодаря этому концентрация аммиака в СКГМ стабилизировалась, продолжая

AVDam formed (table 4). This indicates an increased increment of ammonia from the neurons of the cortex into the bloodstream. As a result, the concentration of ammonia in SMC stabilized at the level of the initial stage of hemorrhagic shock compensation, exceeding the norm by 49% (table 5).

If animals with acute blood loss at 60±14 min of hemorrhagic shock developed agony (series 4), then they had positive AVDam formed as early as 10 minutes into the post-hemorrhagic period that remained until agony (table 4). This indicates a pathological retention of ammonia in the SMC neurons (table 5). Therefore, positive AVDam and venous-hypoxic response, emerging in the 10<sup>th</sup> minute of the hemorrhagic shock development, can be regarded as a poor prognostic marker.

The arterial hyperammonemia (table 4) discovered in this study should be considered as an additional reason for the pathological accumulation of ammonia by SMC neurons in cats during the agonal stage of hemorrhagic shock (series 4, table 5). One of the reasons for its development is a violation of ammonia-free liver function in this pathology



**Таблица 5. Содержание азотистых метаболитов (ммоль/кг влажной ткани) и активность ферментов азотистого метаболизма (нмоль/мг белка·с) в сенсомоторной коре головного мозга кошек при геморрагическом шоке и гипербарической оксигенации ( $M \pm m$ ).**

**Table 5. The content of nitrogenous metabolites (mmol/kg of wet tissue) and the activity of nitrogenous metabolism enzymes (nmol/mg protein·s) in the sensorimotor cortex of cats hemorrhagic shock and hyperbaric oxygenation ( $M \pm m$ ).**

Parameters	Values of parameters in the study series				
	Norm. <i>n</i> =10	The initial phase of HSh compensation, 10 min after blood loss, <i>n</i> =9	Prolonged compensation phase of HSh. 70 min after blood loss, <i>n</i> =9	HSh decompensation phase 60±14 min, after blood loss, <i>n</i> =9	Blood loss+ HBO, <i>n</i> =10
	1	2	3	4	5
Ammonium	0.97±0.074	1.40±0.10**	1.45±0.09**	1.70±0.12**	1.23±0.14
Glutamine	5.22±0.35	6.27±0.22*	5.97±0.49	5.59±0.44	6.85±0.52*
Glutamate	9.11±0.32	10.72±0.55*	10.51±0.51*	9.55±0.35	9.24±0.55
$\alpha$ -kG	59.70±8.54	50.00±9.87	51.30±7.75	28.9±5.42**	44.8±9.53
	<i>n</i> =10	<i>n</i> =10	<i>n</i> =10	<i>n</i> =10	<i>n</i> =9
GS	1.02±0.04	0.93±0.12	0.74±0.12*	0.65±0.15*	1.12±0.16
GDH	9.72±0.54	10.72±0.55	13.50±1.47*	12.30±0.82*	11.60±0.76*
PDG	7.83±0.75	8.95±0.40	8.98±0.46	11.17±0.80*	7.71±0.86

**Note.** \* —  $P < 0,05$ ; \*\* —  $P < 0,01$  — significance of differences with respect to the norm; HSh — hemorrhagic shock; ABL — acute blood loss;  $\alpha$ -KG —  $\alpha$ -ketoglutarate, GS — glutamine synthetase, GDG — glutamate dehydrogenase, PDG — phosphate dependent glutaminase.

**Примечание.** \* —  $p < 0,05$ ; \*\* —  $p < 0,01$  — достоверность различий относительно нормы; HSh — геморрагический шок; ABL — острая кровопотеря;  $\alpha$ -KG —  $\alpha$ -кетоглутарат; GS — глутаминсинтетаза; GDG — глутаматдегидрогеназа; PDG — фосфат-зависимая глутаминаза.

превышать исходные значения на 49% (табл. 5). Если же у животных с острой кровопотерей на 60±14 мин геморрагического шока развивалась стадия декомпенсации (4 серия), то у них уже на 10-й минуте постгеморрагического периода (2 серия) формировалась положительная АВРам (табл. 4). Это указывает на патологическую ретенцию аммиака в нейронах СКГМ (табл. 5), поэтому, положительную АВРам, на 10-й минуте развития геморрагического шока, как и венозно-гипоксемическую реакцию организма на острую кровопотерю, можно рассматривать как прогностически неблагоприятные признаки.

Другой причиной патологического накопления аммиака нейронами СКГМ кошек в стадию декомпенсации геморрагического шока (4 серия, табл. 5) следует рассматривать как артериальную гипераммониемию (табл. 4), одной из причин которой является нарушение аммиакобезвреживающей функции печени [23]. Известно, что высокие концентрации аммиака могут оказывать токсическое влияние на нервные клетки [24], вызывая развитие дефицита  $\alpha$ -кетоглутарата в результате его восстановительного аминирования с образованием глутамата, который в повышенных концентрациях приобретает эксайтотоксичность [26].

На 10-й и 70-й минутах постгеморрагического периода содержание глутамата в СКГМ превышало контроль (1 серия), соответственно, на 17 и 15% (табл. 5). При этом активность ГДГ, катализирующей аминирование  $\alpha$ -кетоглутарата, на 10-й минуте (2 серия) достоверно не менялась, а на 70-й минуте геморрагического шока (3 серия) превышала контроль на 38% (табл. 5).

[23]. It is known that high concentrations of ammonia may provide a toxic effect on nerve cells [24], causing deficiency of  $\alpha$ -ketoglutarate as a result of its reductive amination to form glutamate, which in elevated concentrations becomes excitotoxic [26].

In our studies, at minutes 10 and 70 of the post-hemorrhagic period, the content of glutamate in SMC was higher than normal (series 1), respectively, by 17% and 15% (table 5). At the same time, the activity of GDG, catalyzing the amination of  $\alpha$ -ketoglutarate, did not change significantly at the 10th minute (series 2), while at the 70<sup>th</sup> minute of hemorrhagic shock (prolonged compensation phase, series 3), it exceeded the norm by 38% (table 5). During the stage of hemorrhagic shock decompensation, the increased (by 27%) activity of GDG in the SMC neurons was not accompanied by reliable changes in the concentration of glutamate, whereas the concentration of  $\alpha$ -ketoglutarate in SMC was reduced by 52% (table 5). Comparison of the results suggests that the pathological accumulation of ammonia in the brain tissue in hemorrhagic shock activates one of the intracellular reactions of its neutralization: restorative amination of  $\alpha$ -ketoglutarate, the decrease in the concentration of which in the neurons of the sensorimotor cortex accompanies the development of agony. Absence of an increase in the concentration of glutamate in SMC demonstrates its involvement in conjugated metabolic reactions, for example, transamination with pyruvate.

One of the ways to neutralize ammonia in the cell is the formation of glutamine, catalyzed by GS. From table 4, we can see that a part of animals with blood loss in the initial phase of hemorrhagic shock compensation (series 2) formed negative AVDgn indicating

В стадию декомпенсации геморрагического шока (4 серия) увеличение активности ГДГ в нейронах СКГМ (на 27%) относительно контроля не сопровождалось достоверными изменениями концентрации глутамата, тогда как концентрация  $\alpha$ -кетоглутарата в СКГМ становилась на 52% ниже (табл. 5). Сопоставление полученных результатов позволяет говорить о том, что патологическое накопление аммиака в мозговой ткани активирует одну из внутриклеточных реакций его нейтрализации: восстановительное аминирование  $\alpha$ -кетоглутарата. Снижение концентрации последнего в нейронах сенсомоторной коры сопровождается развитием агонии. Отсутствие при этом увеличения концентрации глутамата в СКГМ указывает на его вовлечение в сопряженные метаболические реакции, например — переаминирование с пируватом.

Одним из путей нейтрализации аммиака в клетке является образование глутамина, катализируемое ГС. Как видно из табл. 4, у части животных в начальную фазу компенсации геморрагического шока (2 серия) формировалась отрицательная АВРгн. Это указывает на повышенный выход глутамина из нейронов СКГМ в кровь. При этом концентрация глутамина в СКГМ превышала норму на 20% (табл. 4). Если на 70-й минуте постгеморрагического периода формировалась пролонгированная фаза компенсации геморрагического шока (3 серия), это сопровождалось формированием положительной АВРгн (табл. 4). При этом содержание глутамина в СКГМ достоверно не отличалось от контроля (1 серия), несмотря на снижение (на 27%) в этот период активности ГС (табл. 5).

Сопоставление полученных результатов позволяет говорить о том, что в начальную фазу компенсации геморрагического шока в нейронах СКГМ увеличивается сродство аммиака и глутамата к ГС на фоне рефрактерности ФЗГ к гипоксии. Это не устраняет накопления в нейронах СКГМ аммиака, но предотвращает развитие в них дефицита глутамина на фоне его повышенной инкреции из нейронов коры в кровотока. С переходом в пролонгированную фазу компенсации геморрагического шока (3 серия) торможение образования глутамина в результате снижения на 27% активности ГС происходит на фоне сохранения его дезамидирования, в реакции, катализируемой ФЗГ. Однако, относительное преобладание дезамидирования глутамина над его образованием в нейронах СКГМ не приводит к накоплению в них аммиака и снижению концентрации глутамина. Первое достигается повышенной инкрецией аммиака из нейронов в кровь, второе — ретенционной задержкой глутамина в нейронах.

Если у животных на  $60 \pm 14$  мин постгеморрагического периода развивалась стадия деком-

an increased release of glutamine from cortical neurons into the blood. The concentration of glutamine in SMC exceeded the norm by 20% (table 4). If 70 minutes into the post-hemorrhagic period, the prolonged phase of hemorrhagic shock compensation formed (series 3), it was accompanied by the formation of a positive AVDgn (table 4). At the same time, the content of glutamine in SMC did not differ significantly from the norm (series 1), despite a decrease (by 27%) of GS activity during this period (table 5).

Comparison of the results obtained suggests that during the initial phase of hemorrhagic shock compensation, in SMC neurons the affinity of ammonia and glutamate for GS increases due to PDG refractoriness to hypoxia. This does not eliminate the accumulation of ammonia in the SMC neurons, but prevents the development of glutamine deficiency in them due to its increased increment from cortex neurons into the bloodstream. During transition to the long-term phase of hemorrhagic shock compensation (series 3), inhibition of glutamine formation due to 27% decrease of GS activity is not accompanied by a change in the rate of its deamidation in the reaction catalyzed by PDG. However, the relative predominance of glutamine deamidation over its formation in SMC neurons does not lead to accumulation of ammonia in them or a decrease in the concentration of glutamine. The first is achieved by increased increment of ammonia from neurons into the blood, the second — by retention of glutamine in them.

If animals developed the hemorrhagic shock decompensation phase by  $60 \pm 14$  min of the post-hemorrhagic period (series 4), they had no changes in AVDgn at the 10<sup>th</sup> minute into the post-hemorrhagic period (table 4). The concentration of glutamine in SMC neurons in the decompensated stage of hemorrhagic shock (series 4) did not differ significantly from the norm, but against the background of reduced (by 36%) GS activity there was a 43% increase of PDG activity in the brain (table 5). In other words, the development of agony in hemorrhagic shock was accompanied by an absolute predominance of glutamine desamidation over its formation in SMC neurons. The former presumably is a result of accumulation of inorganic phosphate in bloodless brain [23], which is a stimulator of PDG activity. The latter may be explained by the accumulation of alanine, which is an allosteric inhibitor of GS, by SMC neurons during hemorrhagic shock [23]. Being one of the reasons for the progressive accumulation of ammonia by SMC neurons during the decompensated stage of hemorrhagic shock (series 4), the predominance of glutamine deamidation over its formation in them was not accompanied by a decrease in the concentration of glutamine (table 5). Data show the alteration of its inclusion in other reactions associated with metabolism of glutamine, for example, the formation of glutathione.

пенсации (4 серия), то у них на 10-й минуте постгеморрагического периода изменения АВРгн отсутствовали (табл. 4). Концентрация глутамин в нейронах СКГМ в стадию декомпенсации геморрагического шока (4 серия) достоверно не отличалась от исходного состояния, но при этом, на фоне сниженной (на 36%) активности ГС, имело место увеличение на 43% активности ФЗГ мозговой ткани (табл. 5). Иными словами, развитие стадии декомпенсации сопровождалось абсолютным преобладанием в нейронах СКГМ дезамидирования глутамин над его образованием. Первое можно рассматривать, как результат накопления в анемизированном головном мозге неорганического фосфата [23], являющегося, стимулятором активности ФЗГ. Причиной второго может служить накопление при геморрагическом шоке нейронами СКГМ аланина, являющегося аллостерическим ингибитором ГС [23]. Будучи одной из причин прогрессирующего накопления аммиака нейронами СКГМ в стадию декомпенсации геморрагического шока (4 серия), преобладание дезамидирования глутамин над его образованием в них не сопровождалось снижением концентрации в них глутамин (табл. 5). Это указывает на нарушение его включения в реакции, сопряженные с метаболизмом глутамин, например — образованием глутатиона.

Если животные подвергались воздействию ГБО (5 серия), то содержание аммиака в нейронах СКГМ достоверно не отличалось от нормы (табл. 4), как и его содержание в протекающей через мозг крови. АВРам оставалась недостоверной (табл. 3). Вместе с тем, у оксигенированных кошек (5 серия) происходило увеличение концентрации глутамин в нейронах СКГМ на 31%, несмотря на формирование отрицательной АВРгн (табл. 3). При этом активность ГС и ФЗГ находилась в пределах нормы (табл. 4). Можно предположить, что в процессе гипероксического влияния на анемизированный организм в СКГМ создаются условия для активной нейтрализации аммиака через образование глутамин с дальнейшей инкрецией последнего в кровоток. К таким условиям следует отнести устранение гипербарическим кислородом накопления в головном мозге анемизированного организма аллостерического ингибитора ГС — аланина и стимулирующее влияние ГБО на образование АТФ в нервной ткани [23]. Известно, что АТФ необходим для образования глутамин [24]. В свою очередь, стимулируя образование АТФ в нейронах анемизированного мозга, гипербарический кислород предотвращает накопление в них неорганического фосфата [23], являющегося стимулятором активности ФЗГ.

Предотвращая накопление нейронами коры головного мозга НАДН [23], ГБО устраняет, тем

If animals with hemorrhagic shock were exposed to hyperoxic effects (series 5), the ammonia content in SMC neurons did not differ significantly from the norm (table 4), as well as its content in the blood flowing through the brain. AVDam remained unreliable (table 3). However, oxygenated cats with hemorrhagic shock formed negative AVDgn (table 4) while the glutamine concentration in the SMC neurons increased by 31%, whereas the activity of GS and PDG in them was within the norm (table 4). It can be surmised that during hyperoxia in the anemic body, conditions for active neutralization of ammonia through the formation of glutamine with further in-cresion of the latter into the bloodstream are developing in SMS. Such conditions include the elimination by hyperbaric oxygen of accumulation of allosteric inhibitor GS — alanine — in the brain of a bloodless body and the stimulating effect of HBO on the formation of ATP in nervous tissue in blood loss [23]. Glutamine formation is related to ATP-dependent metabolic reactions [24]. Hyperbaric oxygen, stimulating the formation of ATP in the neurons of the anemic brain, prevents the accumulation of inorganic phosphate [23], which is a stimulant of PDG activity.

Preventing the accumulation of NADH by neurons of the cerebral cortex [23], HBO eliminates the shift of the GDG reaction towards the reductive amination of  $\alpha$ -ketoglutarate, which is observed with an increase in the concentration of this metabolite in the cell [23]. This explains the absence of changes in the concentration of  $\alpha$ -ketoglutarate in the SMC neurons of oxygenated cats with GSH against the background of an increased (by 19%) activity of GDG (table 4). The lack of significant differences between the high activity of GDG in posthyperoxic (series 5) and prehyperoxic (series 2) periods (table 4) indicates the morbid type of refractoriness of a given enzyme to hyperoxia. This is the case when the enzyme, which changed its activity during adaptation of the cell to the action of an emergency (pathogenic) stimulus, retains this change both in hyperoxic conditions and after it [26]. Increased activity of GDG in the SMC neurons of oxygenated cats with GS was not accompanied by the accumulation of glutamate (table 4), which indicates its active involvement in metabolic reactions like formation of glutamine.

## Conclusion

Alterations in oxygen regime and ammonia exchange in the cats' SMC in hemorrhagic shock start from the 10<sup>th</sup> minute of the post-hemorrhagic period and progresses depending on the individual resistance of animals to acute non-compensated blood loss. The predictors of development of fast (60±14 min. of the post-hemorrhagic period) decompensation of hemorrhagic shock include: the formation on minute 10 post-hemorrhage of only venous-hypoxic compensatory reaction of the body to the blood loss and appearance of a positive difference in am-

самым, сдвиг ГДГ-реакции в сторону восстановительного аминирования  $\alpha$ -кетоглутарата, которое может наблюдаться при увеличении концентрации этого метаболита в клетке [23]. Это объясняет отсутствие у оксигенированных кошек изменения концентрации  $\alpha$ -кетоглутарата в нейронах СКГМ на фоне повышенной (на 19%) активности ГДГ (табл. 4). Отсутствие достоверного различия между повышенной активностью ГДГ в постгипероксическом (5 серия) и предгипероксическом (2 серия) периодах (табл. 4), позволяет говорить о морбическом типе рефрактерности данного энзима к гипероксии. Это случай, когда фермент, изменивший свою активность при адаптации клетки к действию чрезвычайного (патогенного) раздражителя, сохраняет это изменение как в условиях гипероксического воздействия, так и после него [26]. Повышение активности ГДГ в нейронах СКГМ оксигенированных кошек с ГШ не сопровождалось накоплением глутамата (табл. 4), что позволяет говорить о его активном вовлечении в сопряженные метаболические реакции, в частности — образование глутамина.

### Заключение

Нарушение кислородного режима и обмена аммиака в СКГМ кошек при геморрагическом шоке начинаются на 10-й минуте постгеморрагического периода и прогрессируют в зависимости от индивидуальной устойчивости животных к острой невозмещенной кровопотере. Предикторами развития быстрой стадии декомпенсации геморрагического шока ( $60 \pm 14$  мин постгеморрагического периода) являются: формирование на 10-й минуте постгеморрагического периода только венозно-гипоксемической компенсаторной реакции организма на кровопотерю и появление положительной разницы по аммиаку между артериальной кровью и кровью венозного сагиттального синуса. Для стадии декомпенсации геморрагического шока при острой невозмещенной кровопотере характерно: подавление компенсаторной артериально-гипероксемической реакции организма, прогрессирование гипоксии нейронов СКГ с формированием в них дефицита  $\alpha$ -кетоглутарата на фоне патологического накопления аммиака. Причинами накопления аммиака являются: стимуляция образования аммиака при дезамидировании глутамина, нарушение нейтрализации аммиака через образование глутамина; ретенция аммиака в нейронах СКГМ в условиях артериальной гипераммониемии.

Применение ГБО в режиме 3 ата, 60 мин на 10-й минуте развития геморрагического шока, стимулируя артериально-гипероксемическую реакцию адаптации организма к острой невозмещенной кровопотере, не устраняет гипоксию

monia concentration between arterial blood and venous blood of the sagittal sinus. The stage of hemorrhagic shock decompensation in acute non-compensated blood loss is characterized by suppression of compensatory arterial-hyperoxemic reaction of the body, progression of SCG neurons' hypoxia with the formation of  $\alpha$ -ketoglutarate deficiency following pathological accumulation of ammonia. The reasons for the latter include stimulation of ammonia formation during glutamine desamidation, alteration of ammonia neutralization through the formation of glutamine; retention of ammonia in SMC neurons in the arterial hyperammonemia environment.

The use of HBO in the mode of 3 ATA, for 60 min starting from the 10<sup>th</sup> minute of the of hemorrhagic shock development, stimulating the arterial-hyperoxemic reaction of the body's adaptation to acute non-compensated blood loss, does not abrogate hypoxia in SMC neurons. Despite this, hyperbaric oxygen prevents both the stimulating effect of hypoxia on glutamine deamidation and its inhibitory effect on glutamine formation in SMC neurons. This is accompanied by hyperoxic stimulation of glutamine increment from SMC neurons into the blood. Preservation of the stimulating effect of hypoxia on GDH activity in the post-hyperoxic period, in contrast to non-oxygenated animals, is not accompanied by the development of  $\alpha$ -ketoglutarate deficiency in SMC neurons and their accumulation of glutamate. The results obtained refute the idea of hyperbaric oxygen as an exclusively antihypoxic therapeutic factor [27], and allow us to consider it as universal adaptogenic regulator of metabolic processes in the cell [28], which increases the sanogenic potential of the body under the conditions of hemorrhagic shock developed due to acute non-compensated blood loss.

нейронов СКГМ. Несмотря на это, гипербарический кислород предотвращает как стимулирующее влияние гипоксии на дезамидирование глутамина, так и ее ингибирующее влияние на образование глутамина в нейронах СКГМ. Это сопровождается гипероксической стимуляцией инкреции глутамина из нейронов СКГМ в кровь. Сохранение в постгипероксическом периоде стимулирующего влияния гипоксии на активность ГДГ не сопровождается развитием в нейронах СКГМ дефицита  $\alpha$ -кетоглутарата и накоплением ими глутамата. Полученные результаты опровергают представление о гипербарическом кислороде, как исключительно антигипоксическом лечебном факторе [27], и позволяют говорить о нем как об универсальном адаптогенном регуляторе метаболических процессов в клетке [28], повышающем саногенный потенциал организма в условиях геморрагического шока, развивающегося на фоне острой невозмещенной кровопотери.

## Литература

1. Мороз В.В., Рыжков И.А. Острая кровопотеря: региональный кровоток и микроциркуляция (Обзор часть I). *Общая реаниматология*. 2016; 12 (2): 66–89. DOI: 10.15360/1813-9779-2016-2-66-89
2. Яковлев В.Н., Савилов П.Н., Булгакова Я.В. Метаболизм глутамата в структурах головного мозга при экспериментальном геморрагическом шоке. *Общая реаниматология*. 2017; 13 (1): 6–16. DOI: 10.15360/1813-9779-2017-1-6-16
3. Бояринов Г.А., Симутич И.С., Никольский В.О., Дерюгина А.В., Бояринова Л.Я., Гордеев А.С., Кузнецов А.Б. Роль трансфузии озонированной эритроцитарной массы в восстановлении морфологических изменений миокарда при кровопотере (экспериментальное исследование). *Общая реаниматология*. 2018; 14 (3): 27–35. DOI: 10.15360/1813-9779-2018-3-27-35.
4. Рыжков И.А., Зарзхетский Ю.В., Новодержкина И.С. Влияние перфлорана на регуляцию кожного кровотока при острой кровопотере (экспериментальное исследование). *Общая реаниматология*. 2015; 14 (6): 19–27. DOI: 10.15360/1813-9779-2015-6-19-27.
5. Иовенко И.А., Кобеляцкий Ю.Ю., Царев А.В., Кузьминова Е.А., Клименко К.А., Дубовская Л.Л., Селезнева У.В. Интенсивная терапия кровопотери, коагулопатии и гиповолемического шока при политравме *Медицина неотложных состояний*. 2016; 75 (4): 64–71.
6. Савилов П.Н. Влияние гипербарической оксигенации на азотистый метаболизм в селезенке при резекции печени на фоне хронического тетрахлорметанового гепатита. *Биологический журнал Армении* 2017; 69 (1): 39–46
7. Савилов П.Н. Влияние гипербарической оксигенации на образование мочевины оперированной печенью *Медицина Кыргызстана* 2018; 1: 92–97.
8. Лебедева Е.А., Беляевский С.А., Каминский М.Ю., Скобло М.Л., Хан Е.А. Эффективность и безопасность целевого применения эпоэтина альфа, цитофлавина и гипербарической оксигенации в интенсивном лечении тяжелой сочетанной травмы *Анестезиология и реаниматология*. 2015; 4: 73.
9. Звягин Г.В., Зезикова Е.И., Ромасенко М.В. Организация и принципы работы отделения ГБО в структуре многопрофильного стационара скорой медицинской помощи *Многопрофильный стационар*. 2019; 6; 1 (9): 23–26.
10. Лучаков Ю.И., Москвин А.Н., Шабанов П.Д. Влияние кровотока на насыщение ткани мозга кислородом при гипербарической оксигенации *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. 2015; 13 (4): 37–41.
11. Гречин В.В. Изучение локального кровотока в глубоких структурах и коре головного мозга. Методы клинической нейрофизиологии — Л.: Наука, 1977: 163–176.
12. Березовский В.А. Напряжение кислорода в тканях животных и человека. Киев: Наукова думка, 1975.
13. Силакова А.И., Трубин Г.П., Явличкова А.И. Микрометод определения аммиака и глутамина в тканевых трихлороуксусных экстрактах. *Вопросы медицинской химии*. 1962; 8 (5): 538–544.
14. Harris M. Studies regenerating a glutamine-like substance in blood and spinal fluid, including a method for its quantitative determination. *J. Clin. Invest.* 1943; 22 (4): 569–576.
15. Bernt E., Bergmeyer H.U. L-glutamatabestimmung mit GDH und NAD Methoden der enzym. Analyse-Herausg. H.U. Bergmeyer-Weinheim/Bergs Verlag. Chemie 1974; 2: 1749–1752.
16. Keller H., Muller-Beisenritz M., Neumann E. Eine Methode zur Ammoniakbestimmung in Capillarblut. *Klin. Wsch.*: 1967; 15: 314–319.
17. Schmidt E., Schmidt F.W. Glutamate dehydrogenase Methoden der enzym. Analyse-Herausg. H.U. Bergmeyer-Weinheim/Bergs Verlag. Chemie 1983; 3: 216–227.
18. Beaton J.R., Ozava G. Activity of liver glutaminases in vitamin B6-deficient rats *J. Biol. Chem.* 1955; 214 (2): 685–691. PMID: 14381406
19. Пушкин А.В., Евстигнеева З.Г., Кретович В. Л. Определение активности глутаминсинтетазы в экстрактах из семян гороха по образованию ортофосфата *Прикладная биохимия и микробиология* 1972; 3 (1): 96–90.
20. Jonson D., Lardy I. Method in Enzimology — N.Y. 1972; 10: 94–102.
21. Hartree E.F. Determination of protein a modification of the Lorry method that gives a linear photometric respons *Anal. Biochem.* 1972; 43 (2): 422–427. PMID: 4115981.
22. Glantz St. A. Primer of Biostatistics N.Y.: McGraw-Hill Inc, 1994. ISBN 0-07-024268-2
23. Леонов А.Н. Гипероксия. Адаптация. Саногенез Воронеж: ВГМА: 2006: 190. ISBN5-91132-003-7.
24. Косенко Е.А., Каминский Ю.Г. Клеточные механизмы токсичности аммиака М.: ЛКИ, 2007. ISBN 978-5-382-00524-9
25. Лопачев А.В., Лопачева О.М., Аккуратов Е.Е., Стволинский С.Л., Федорова Т.Н. Карнозин защищает первичную культуру клеток мозжечка от острой токсичности NMDA. *Нейрохимия* 2017; 34 (1): 49–53.
26. Ssavilov P. Der Arginaseaktivitätszustand von hepatocyten bei verschiedenen Arten der Leberschädigung und Hyperoxia *Österreichisches Multiscience Journal* 2019; 1 (20): 37–42.
27. Орлов Ю.П. О токсичности кислорода и роли сукцинатов, как природного фактора защиты СПб: Тактик-Студио, 2017. ISBN: 978-5-91644-123-129.
28. Ssavilov P. Some aspects of Leonov's teachings on the hyperoxic sanogenesis *Norwegian Journal of development of the International Science* 2019; 1 (33): 22–31.

Поступила 29.07.19

## References

1. Moroz V.V., Ryzhkov I.A. Acute Blood Loss: Regional Blood Flow and Microcirculation (Review, Part I). *Obshchaya Reanimatologiya—General Reanimatology*. 2016; 12 (2): 66–89. [In Russ.] DOI: 10.15360/1813-9779-2016-2-66-89
2. Jakovlev V.N., Savilov P.N., Bulgakova Y.V. Glutamate Metabolism in Brain Structures in Experimental Hemorrhagic Shock. *Obshchaya Reanimatologiya—General Reanimatology*. 2017; 13 (1): 6–16. [In Russ.] DOI: 10.15360/1813-9779-2017-1-6-16
3. Boyarinov G.A., Simutis I.S., Nikolsky V.O., Deryugina A.V., Boyarinova L.V., Gordetsov A.S., Kuznetsov A.B. The Role of Ozonized Erythrocytic Mass Transfusion in the Restoration of Myocardial Morphological Changes during Blood Loss (Experimental Study). *Obshchaya Reanimatologiya—General Reanimatology*. 2018; 14 (3): 27–35. [In Russ.] DOI: 10.15360/1813-9779-2018-3-27-35
4. Ryzhkov I.A., Zarzhetsky Y.V., Novodержкина I.S. Effect of perflorane on the regulation of skin blood flow in acute blood loss: experimental study. *Obshchaya Reanimatologiya—General Reanimatology*. 2015; 11 (6): 19–27. [In Russ.] DOI: 10.15360/1813-9779-2015-6-19-27
5. Jovenko I.A., Kobelyackiy Yu. Yu., Caryov A.V., Kuz'miova E.A., Klimentko K.A., Dubovskaya L.L., Seleznyova U.V. Intensive therapy of blood loss, coagulopathy and hypovolemic shock in polytrauma *Meditsina neotlozhnyh sostoyaniy*. 2016; 75 (4): 64–71 [In Russ.]
6. Savilov P.N. The effect of hyperbaric oxygenation on nitrogen metabolism in the spleen during liver resection against chronic tetrachloromethane hepatitis. *Biologicheskij zhurnal Armenii*. 2017; 69 (1): 39–46 [In Russ.]
7. Savilov P.N. The effect of hyperbaric oxygenation on the formation of urea by the operated liver. *Medicina Kyrgyzstana*. 2018; 1: 92–97 [In Russ.]
8. Lebedeva E.A., Belyaevskij S.A., Kaminskij M.Yu., Skoblo M.L., Khan E.A. Efficiency and safety of the targeted use of epoetin alpha, cytoflavin and hyperbaric oxygenation in the intensive treatment of severe concomitant injury. *Anesteziol. i reanimatol.* 2015; 4: 73 [In Russ.]
9. Zvyagin G.V., Zezikova E.I., Romasenko M.V. Organization and principles of work of the hyperbaric oxygenation department in the structure of a multidisciplinary emergency hospital. *Mnogoprofilnyj stacionar*. 2019; 6; 1 (9): 23–26 [In Russ.]
10. Luchakov Yu.I., Moskvina A.N., Shabanov P.D. The effect of blood flow on the saturation of brain tissue with oxygen during hyperbaric oxygenation. *Obzory po klinicheskoy farmakologii i lekarstvennoj terapii*. 2015; 13 (4): 37–41 [In Russ.]
11. Grechin V.V. Study of local blood flow in deep structures and cerebral cortex. *Methods of clinical neurophysiology*. — L.: Nauka (Science), 1977: 163–176 [In Russ.]
12. Berezoyskij V.A. Oxygen tension in the tissues of animals and humans. Kiev: Naukova Dumka, 1975 [In Russ., In Ukr.]
13. Silakova A.I., Trubin G.P., Yavlichkova A.I. Micromethod for determination of ammonia and glutamine in tissue trichloroacetic extracts. *Voprosy meditsinskoj khimii*. 1962; 8 (5): 538–544 [In Russ.]
14. Harris M. Studies regenerating a glutamine-like substance in blood and spinal fluid, including a method for its quantitative determination. *J. Clin. Invest.* 1943; 22 (4): 569–576.
15. Bernt E., Bergmeyer H.U. L-glutamatabestimmung mit GDH und NAD Methoden der enzym. Analyse-Herausg. H.U. Bergmeyer-Weinheim/Bergs Verlag. Chemie 1974; 2: 1749–1752.
16. Keller H., Muller-Beisenritz M., Neumann E. Eine Methode zur Ammoniakbestimmung in Capillarblut. *Klin. Wsch.*: 1967; 15: 314–319.
17. Schmidt E., Schmidt F.W. Glutamate dehydrogenase Methoden der enzym. Analyse-Herausg. H.U. Bergmeyer-Weinheim/Bergs Verlag. Chemie 1983; 3: 216–227.
18. Beaton J.R., Ozava G. Activity of liver glutaminases in vitamin B6-deficient rats *J. Biol. Chem.* 1955; 214 (2): 685–691. PMID: 14381406
19. Pushkin A.V., Evstigneeva Z.G., Kretovich V.L. Determination of glutamine synthetase activity in extracts from pea seeds by the formation of orthophosphate. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya* 1972; 3 (1): 96–90 [In Russ.]
20. Jonson D., Lardy I. Method in Enzimology — N.Y. 1972; 10: 94–102.
21. Hartree E.F. Determination of protein a modification of the Lorry method that gives a linear photometric respons *Anal. Biochem.* 1972; 43 (2): 422–427. PMID: 4115981.
22. Glantz St. A. Primer of Biostatistics. N.Y.: McGraw-Hill Inc, 1994. ISBN 0-07-024268-2
23. Leonov A.N. Hyperoxia Adaptation. Sanogenesis Voronezh: Voronezh State Medical Academy: 2006: 190 [In Russ.] ISBN5-91132-003-7.
24. Kosenko E.A., Kaminskij Yu.G. Cellular mechanisms of ammonia toxicity M.: LCI. 2007 [In Russ.] ISBN 978-5-382-00524-9
25. Lopachyov A.V., Lopachyova O.M., Akkuratov E.E., Stvolinskij S.L., Fyodorova T.N. Carnosine Protects Primary Cerebellar Cell Culture From Acute Toxicity NMDA. *Nejrokhimiya*. 2017; 34 (1): 49–53 [In Russ.]
26. Ssavilov P. Der Arginaseaktivitätszustand von hepatocyten bei verschiedenen Arten der Leberschädigung und Hyperoxia *Österreichisches Multiscience Journal* 2019; 1 (20): 37–42.
27. Orlov Yu.P. On the toxicity of oxygen and the role of succinates as a natural defense factor. StPb: Tactic-Syudio, 2017 [In Russ.] ISBN: 978-5-91644-123-129.
28. Ssavilov P. Some aspects of Leonov's teachings on the hyperoxic sanogenesis *Norwegian Journal of development of the International Science* 2019; 1 (33): 22–31.

Received 29.07.19