УДК 616.36-02-089
©Савилов

ОБРАЗОВАНИЕ МОЧЕВИНЫ В ОПЕРИРОВАННОЙ ПЕЧЕНИ

***П.Н. Савилов*[1,2]**

[1]Тамбовская ЦРБ,
Тамбовская обл., Тамбовский р-н., с. Покрово-Пригородное; эл. почта: p_savilov@rambler.ru
[2]Воронежская государственная медицинская академия имени Н.Н. Бурденко,
394000, Воронеж, ул. Студенческая, 10

В опытах на 84 половозрелых белых крысах исследовали влияние резекции части левой доли печени (РП, 15-20% от массы органа) на образование и мочевины в печени. Объектами исследования служили оперируемая левая (ЛДП), неоперируемая средняя (СДП) доли печени, кровь (аорта, *v. hepatica*, *v. porta*) и желчь общего желчного протока. В них изучали содержание мочевины. Активность аргиназы (АЗ) исследовали в гомогенате печени. На 3-и и 7-е сутки после РП выявлено снижение активности АЗ. РП вызывает снижение содержания мочевины в крови *v. hepatica*, но увеличивает её содержание в артериальной крови и крови *v. porta*. Увеличение содержания мочевины в желчи на 7-е сутки сменялось её снижением на 14-е сутки послеоперационного периода. При этом концентрация мочевины в печени на 3-и сутки после РП была ниже нормы, а на 7-е и 14-е сутки находилась в её пределах. Полученные результаты указывают на нарушение образования мочевины гепатоцитами оперированной печени и активацию внепечёночных механизмов образования мочевины из аргинина.

Ключевые слова: резекция печени, мочевина, аргиназа

DOI: 10.18097/PBMC20166201079

ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на обширное количество исследований по влиянию резекции печени (РП) на организм, остаются спорными многие вопросы по состоянию отдельных метаболических процессов в оперированном органе. Например, способность гепатоцитов оперированной печени к синтезу мочевины в орнитиновом цикле Кребса-Хенселяйта. Изучению данной проблемы посвящены единичные исследования, в которых получены противоречивые результаты. Впервые предположение о нарушении функции образования гепатоцитами мочевины после РП высказал в 1894 году русский учёный В.А. Мейстер, обнаружив значительное снижение содержания мочевины в моче прооперированных им собак [1]. Однако, увеличение её концентрации в крови больных с РП [2] говорило об обратном. В одних исследованиях было обнаружено повышение концентрации мочевины в крови при пересчёте на живую клетку после РП [3], тогда как в других работах РП вызывала снижение включения радиоактивной метки в азот мочевины [4] и торможение активности печёночной аргиназы [5]. Такая неоднозначность оценки состояния мочевинсинтетической функции гепатоцитов после РП, на наш взгляд, объясняется неадекватностью методических подходов к изучению данного раздела азотистого метаболизма гепатоцитов. Прежде всего, это оценка синтеза мочевины по изменению активности только одного фермента цикла Кребса-Хенселяйта [5, 6]. При этом не учитывается, что аргиназа обнаружена и в других органах и клетках млекопитающих [7] а, следовательно, мочевина может образовываться и вне печени. Понять это можно лишь при сравнительном изучении содержания метаболита в притекающей и оттекающей от печени крови и сопоставлении полученных изменений с аргиназной активностью клеток исследованного органа.

Целью настоящего исследования явилось изучения влияния РП на активность аргиназы в гомогенате и цитозольной фракции гепатоцитов, а также концентрацию мочевины в артериальной, венозной (*v .porta*, *v. hepanica*) крови и в желчи общего желчного протока.

МЕТОДИКА

Опыты проведены на 84 беспородных белых крысах-самках массой 180-220 г. Резекцию печени (РП) осуществляли под эфирным наркозом, удаляя часть левой доли, что составляло 15-20% от массы органа. Объектами исследования служили левая (ЛДП), средняя (СДП) доли печени, артериальная кровь (АК, аорта), кровь печёночных вен (КПВ), кровь воротной вены (КВВ) и желчь. Кровь печёночных вен получали по разработанной нами методике [8].

Животных забивали декапитацией на фоне этаминалового наркоза (40 мг/кг массы) на 3-и, 7-е и 14-е сутки после РП. Печень перфузировали через портальную вену охлаждённым 0,125 М раствором KCl. Исследуемые доли замораживали в жидком азоте и растирали до мелкого порошка, который использовался для приготовления 10% гомогената ткани в 30% растворе трихлоруксусной кислоты (ТХУ). Полученный гомогенат экстрагировали на холоду в течение 30 мин и центрифугировали 10 мин при 1000 g. Надосадочную жидкость использовали для определения содержания мочевины. Забор крови и желчи (из общего желчного протока) для исследования

содержания мочевины производили в предварительно гепаринизированные инсулиновые шприцы в следующей последовательности: общий желчный проток → междольковый синус → портальная вена → аорта. Кровь центрифугировали в течение 10 мин при 1000 g. Содержание мочевины определяли диацетилмоноксимовым методом [9]. Содержание мочевины в печени выражали в ммоль/кг сырой ткани, в биологических жидкостях – в ммоль/л. Одновременно рассчитывали: артерио-венозную (АВР) разницу (между артериальной кровью и кровью печёночных вен), вено-венозную (ВВР) разницу (между кровью воротной вены и печёночных вен) и артерио-портальную (АПР) разницу (между артериальной кровью и кровью воротной вены) по мочевине.

Для определения аргиназной активности печень предварительно перфузировали охлаждённым раствором KCl и гомогенизировали в растворе сахарозы (0,25 М), содержащей 1 мМ ЭДТА (соотношение ткань:среда 1:9). Активность аргиназы (АЗ) определяли в гомогенате печени по количеству образовавшейся мочевины [10]. Инкубационная смесь (1,0 мл) содержала: глицин-NaOH буфер (pH 9,5); 10 мМ $MnCl_2$; белок гомогената печени (100 мкг). Реакцию запускали 25 мМ аргинином. Определение белка проводили по методу Лоури [11]. Активность АЗ выражали в нмоль/с·мг белка. Результаты обработаны статистически с учётом параметрического t-критерия Стьюдента и U-критерия Вилкоксона-Манна-Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

У здоровых животных не было обнаружено достоверного отличия активности АЗ в ЛДП (210±23,1 нмоль/с·мг белка) и СДП (203±17,8 нмоль/с·мг белка), как это установлено для фосфатзависимой глутаминазы гепатоцитов [12]. Содержание мочевины в исследуемых долях интактной печени достоверно не различалось, но имело место достоверное различие её концентраций в притекающей и оттекающей от печени крови (таблица). При этом отрицательные печёночные АВР и ВВР по мочевине подтверждают представление о печени как основном “поставщике” мочевины в кровоток.

В желчи концентрация мочевины не отличалась от аналогичного показателя в КВВ, но была ниже её концентрации в АК и КПВ, соответственно на 18% и 35% (таблица). При этом, выявленная в норме отрицательная корреляция ($r=-0,92$, $p<0,05$) между концентрациями мочевины в желчи и КПВ позволяет рассматривать желчные капилляры как резервную систему, направленную на предотвращение поступления избытка мочевины из печени в кровоток, в случае стимуляции орнитинового цикла в гепатоцитах. В свою очередь, положительная корреляция ($r=0,95$, $p<0,05$) между содержанием мочевины в желчи и КВВ у здоровых животных есть ещё одно из свидетельств, установленного ранее [13], существования у млекопитающих печёночно-кишечного кругооборота мочевины.

Как показали исследования (таблица), снижение концентрации мочевины в КПВ на 3-и и 14-е сутки (на 28% и 22% соответственно) послеоперационного периода не отражалось на её содержании в АК, которое находилось в пределах нормы. Концентрация мочевины в КВВ в указанные сроки исследования превышало норму, соответственно, на 45% и 41% (таблица). В результате выявленных изменений, отрицательная в норме, печёночная АВР по мочевине становилась недостоверной, а печёночная ВВР по мочевине из отрицательной становилось положительной величиной (таблица).

Таблица. Содержание мочевины в печени (ммоль/кг сырой ткани), крови и желчи (ммоль/л) и активность аргиназ гомогенатов печени крыс после резекции печени.

Объект исследования	Интактные животные (контроль)	Сутки после резекции печени		
		3	7	14
	(15)	(10)	(10)	(10)
ЛДП	4,83±0,14	4,34±0,2*	5,01±0,19[в]	4,63±0,24
СДП	4,64±0,16	3,91±0,2*	4,49±0,24	4,75±0,24
АК	3,4±0,12	3,55±0,37	4,06±0,19*	3,04±0,21
КВВ	2,7±0,13[а]	3,91±0,23*	3,37±0,27*	3,81±0,26*
КПВ	4,25±0,15[а]	3,07±0,13*	4,19±0,24[в]	3,34±0,21*
Желчь	2,78±0,1[а]	2,92±0,11[а,б]	3,21±0,1*,[а]	2,47±0,11*,[а,б]
АВР	-0,83±0,11	нд	нд	нд
ВВР	-1,22±0,38	0,92±0,23	нд	0,64±0,18
АПР	0,74±0,14	-0,42±0,12	0,88±0,15	-0,85±0,21
АЗ ЛДП	210,5±10,5	124,0±16,9*	152,9±15,1*	170,3±20,8
АЗ СДП	203,2±9,68	135,9±17,3*	201,0±14,8	178,4±17,4

Примечание: ЛДП и СДП- левая и средняя доли печени, АК- артериальная кровь, КВВ- кровь вороной вены, КПВ- кровь печёночных вен, АВР, ПВР, АПР - соответственно артерио-венозная, порто-венозная, артерио-портальная разницы по мочевине; * - ($p<0,05$) - достоверность различий по сравнению с контролем; а - по сравнению с АК соответствующей серии; б - по сравнению с КВВ соответствующей серии; в - по сравнению с 3-ми сутками послеоперационного периода; нд - артерио-венозная разница не достоверна. В скобках число животных.

Полученные результаты позволяют говорить о существенном нарушении в указанные сроки образования гепатоцитами мочевины и ретенции в оперированном органе поступающей с кровью мочевины.

Анализ уровня мочевины в печени, крови и желчи свидетельствует о частичном восстановлении на 7-е сутки послеоперационного периода образования мочевины гепатоцитами нарушенного при РП.

Обнаруженное нами снижение активности АЗ совпадало по срокам с периодом максимальной митотической активности гепатоцитов оперированной печени [5]. В свою очередь, формирование воспалительного процесса в месте механического повреждения печени [14] удлиняет период повышенной митотической активности в результате вовлечения в митоз непаренхиматозных клеток [15]. Этим можно объяснить сохранение сниженной активности АЗ к 7-м суткам послеоперационного только в оставшейся после резекции части ЛДП.

Как видно из таблицы, снижение выделения мочевины из оперированной печени в кровоток не вызывало снижения её концентрации в АК. Это указывает на активацию внепечёночных компенсаторных механизмов, сопряжённых с образованием мочевины и её поступлением из органа в кровоток в ответ на нарушение мочевинсинтетической функции гепатоцитов. Так, отрицательная АВР по мочевине, выявленная на 3-и и 14-е сутки после РП (таблица) согласуется с результатами исследований, выявивших после РП стимуляцию образования мочевины органами желудочно-кишечного тракта [16] и селезёнкой [17] с её дальнейшим выделением в портальный кровоток. Другие механизмы запускаются в почках, где увеличение после РП реабсорбции мочевины из почечных канальцев сменяется её повышенным образованием нефроцитами с дальнейшим выделением из них в кровоток [18].

ЛИТЕРАТУРА

1. *Мейстер В.А.* (1894) Биохимические исследования над печёночной тканью. Дисс. докт. наук. Киев.
2. *Банайтис С.И.* (1930) Новый хирургический архив, **21**, 494-516.
3. *Fausto N., Brandt J.J.T., Kesner L.* (1975) Liver regeneration after experimental injury. Srtatton, Inertcontenintal Medical Book Corp., 78-93
4. *Perkinson J.D., Iwing C.C.* (1956) Cancer Res., **10**, 496-499.
5. Нормальная и патологическая цитология паренхимы печени (1960) ред. Е.М. Хейсин, Наука, Л.,165 с.
6. *Маслов А.Ю.* (1996) Ранние изменения показателей метаболизма ткани в ответ на стимуляцию факторами – регуляторами пролиферативной активности. Дисс. канд. наук, ВГУ, Воронеж.
7. *Мансурова И.Д., Калетина Л.Г.* (1971) Успехи гепатологии, **3**, 80-90.
8. *Савилов П.Н.* (2007) Механизмы лечебного действия гипербарической оксигенации при резекции печени (экспериментальное исследование). Дисс. докт. наук ВГМА, Воронеж.
9. *Richterrich D.* (1962) Clinical Chemistry. Academia Press, N.Y., 326 p.
10. *Трапезникова С.С., Навасардянц А.Г., Давтян М.А.* (1982) Биохимия, **47**, 2022-2027.
11. *Hartree E.F.* (1972) Anal. Biochem., **43**, 422-427.
12. *Савилов П.Н.* (2014) Биомед. химия, **60**, 364-367.
13. *Детьен П.* (2010). Физиология человека (ред. Р. Шмидт, Г. Тевс) Пер. с англ. Мир, М., **3**, 785-812.
14. *Григорьев Н.И.* (1975) Строение и регенерация печени после её местного повреждения, М.: Медицина, 1975.
15. *Маянский Д.Н., Щербаков В.И., Мираханов Ю.М.* (1978) Бюлл. эксперим. биол. мед., **5**, 598-599.
16. *Савилов П.Н.* (2007) Общая реаниматология, **3**, 37-41.
17. *Савилов П.Н.* (2014) Биологический журнал Армении, **66**, 6-17.
18. *Молчанов Д.В., Савилов П.Н.* (2013) Российский вестник детской хирургии, анестезиологии и реаниматологии, **3**, 64-68.

Поступила: 08. 03. 2015.
Принята к печати: 15. 01. 2016.

UREA FORMATION IN THE AFTER OPERATIONAL LIVER

***P.N. Savilov*[1,2]**

[1]Tambov Regional Hospital,
4 Polevaya str., Tambov region, S. Pokrovo-Prigorodnoe, Russia; e-mail: p_savilov@rambler.ru
[2]Burdenko Voronezh State Medical Academy, 10 Studencheskaya str., Voronezh, 394000 Russia

The effect of resection of the left lobe of the liver (LR, 15-20% og the organ weight) on hepatic urea formation was investigated in 84 albino rats. The objects of study were the surgery left (LLP), inoperable middle (MLP) lobe of the liver, blood (aorta, *v. hepatica*, *v. porta*) and choledochal bile. They studied the urea content. Arginase activity was examined in liver homogenate. On the day 3 and day 7 after resection reduced arginase activity was detected. LR caused a decrease of urea in v. hepatica, but increased urea content in the arterial blood and *v. porta*. Increase in bile urea on day 7 it was replaced by a decrease observed on day 14 of the postsurgery period. The concentration of urea in the liver on the 3rd day after LR was below the norm, and on the 7th and 14th day was within it. The results indicate a violation of urea operated by hepatocytes of the liver and extrahepatic activation mechanisms of the formation of urea.

Key words: liver resection, urea, arginase