

© Коллектив авторов, 2018  
УДК 6616.36-002.-072.7-092.9

Савилов П.Н.<sup>1,3</sup>, Молчанов Д.В.<sup>2,3</sup>

## Резекция печени изменяет механизмы выведения аммиака почками крыс с хроническим тетрахлорметановым гепатитом

<sup>1</sup> ТОГБУЗ «Тамбовская центральная районная больница»,

392524, Россия, Тамбовская обл., Тамбовский р-н, с. Покрово-Пригородное, ул. Полевая, д. 4

<sup>2</sup> АО «Страховая компания «СОГАЗ-Мед», 117556, г. Москва, Россия, Варшавское ш., д. 95

<sup>3</sup> ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко»,  
394000, г. Воронеж, Россия, ул. Студенческая, д. 1

Цель исследования — изучение влияния резекции печени (РП) на аммиакэкскретирующую функцию почек при хроническом тетрахлорметановом гепатите. **Методика.** Опыты выполнены на 265 беспородных белых крысах (самках) массой 180—220 г. Хронический гепатит воспроизводили подкожным введением 50% раствора тетрахлорметана (CCl<sub>4</sub>) на оливковом масле (0,1 мл/100 г массы тела, через сутки, с двумя двухнедельными перерывами между 6, 7 и 13—14 инъекциями). На 65-е сут. (последние) введения тетрахлорметана, удаляли часть левой доли печени (15—20% массы органа). На 3-и, 7-е и 14-е сут. после РП или лапаротомии («ложнооперированные» животные) в почках, артериальной и венозной крови, моче исследовали содержание аммиака, глутамина и мочевины. **Результаты.** Прогрессирование эндогенной аммиачной интоксикации после РП на фоне тетрахлорметанового гепатита сопровождается повышенной экскрецией аммиака почками. Однако это не устраняет артериальную гипераммониемию и не предотвращает накопление почками аммиака. Инкреция глутамина из почек в кровоток прекращается. К 14-м сут. послеоперационного периода возрастает потребление глутамина из артериальной крови, что приводит к его накоплению в почках. Стимулируя выведение мочевины из организма с мочой, РП одновременно активирует её образование в почках, с дальнейшим поступлением как в кровоток, так и в мочу. В зависимости от сроков послеоперационного периода это сопровождается изменением скорости реабсорбции мочевины в почках. **Заключение.** Полученные результаты свидетельствуют, что при РП на фоне тетрахлорметанового гепатита почки не предотвращают прогрессирование эндогенной аммиачной интоксикации, патологическое накопление аммиака и глутамина её клетками, но сохраняют способность принимать участие в регуляции повышенного содержания мочевины в артериальной крови.

**Ключевые слова:** гепатит, резекция печени, почки, аммиак, глутамин, мочевина, механизмы выделения.

**Для цитирования:** Савилов П.Н., Молчанов Д.В. Резекция печени изменяет механизмы выведения аммиака почками крыс с хроническим тетрахлорметановым гепатитом *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2018; 62(3): 72—79.

DOI: 10.25557/0031-2991.2018.03.72-79

**Для корреспонденции:** Савилов Павел Николаевич, доктор мед. наук, проф., врач анестезиолог-реаниматолог отд. «Операционный блок с палатой реаниматологии и интенсивной терапии» ТОГБУЗ Тамбовская ЦРБ, e-mail: p\_savilov@rambler.ru

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Благодарность.** Авторы выражают благодарность Заслуженному работнику Высшей школы РФ, профессору Яковлеву В.Н. за возможность проведения исследований, описанных в данной статье, в лаборатории руководимой им кафедры нормальной физиологии Воронежской государственной медицинской академии им. Н.Н. Бурденко, а также ценные советы при обсуждении полученных результатов.

Поступила 13.08.2017

Savilov P.N.<sup>1,3</sup>, Molchanov D.V.<sup>2,3</sup>

## Liver resection transforms mechanisms of renal ammonia excretion in rats with chronic tetrachloromethane-induced hepatitis

<sup>1</sup> Tambov Central District Hospital, Polevaya Str. 4, P.-Prigorodnoye VLG 392524, Tambov Region, Russia

<sup>2</sup> JSC Health Insurance Company SOGAZ-Med, 95, Varshavskoye Shosse, 117556, Moscow, Russia

<sup>3</sup> N.N. Burdenko Voronezh State Medical University, 10, Studencheskaya Str., 394000, Voronezh, Russia

Mechanical (resection) or toxic (hepatitis) liver damage alone has an ambiguous effect on renal ammonia excretion during development of endogenous ammonia intoxication. **The aim.** The study investigated the effect of liver resection (LR) on renal ammonia excretion in chronic tetrachlorocarbon (CCl<sub>4</sub>)-induced hepatitis. **Methods.** Experiments were conducted on 240 mongrel white rats (females) weighing 180—220 g. Chronic hepatitis was induced by subcutaneous injection of 50% solution of carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>) in olive oil (0.1 ml/100g body weight per day with two two-week breaks between injections 6—7 and 13—14). LR with removal of a part of the left lobe (15—20% of body weight) was performed on the 65th (last) day of CCl<sub>4</sub> injections. The animals were examined on the 3rd, 7th and 14th day after LR or laparotomy (sham operation). Contents of ammonia (AM), glutamine (GN), and urea were measured in the kidney, arterial (AB) and venous (*v.renalis*) blood, and urine. **Results.** Progression of endogenous ammonia intoxication after LR associated with CCl<sub>4</sub>-induced hepatitis and increased renal excretion of Am involves three mechanisms: 1) excretion of Am that is delivered to kidneys in the free form with AB; 2) stimulation of renal tubule secretion of Am that had formed in kidneys by deamidation of «arterial» Gn; and 3) contrary to rules, partial reabsorption of Am from collecting tubules into the blood. However, this does not eliminate arterial hyperammonemia or prevent accumulation of Am in kidneys. The stimulatory effect of LR in CCl<sub>4</sub>-induced hepatitis on Gn increment from kidneys to the circulation stops by the 14<sup>th</sup> day after surgery, and the accompanying increased consumption of Gn from AB results in Gn accumulation in kidneys. LR stimulates urea excretion with urine and simultaneously activates kidney formation of urea, which further enters the bloodstream and urine. Depending on the postoperative period this is associated with changes in the rate of urea reabsorption in kidneys. **Conclusions.** In RP associated with CCl<sub>4</sub>-induced hepatitis, kidneys cannot prevent progression of endogenous ammonia intoxication and pathological accumulation of ammonia and glutamine in kidney cells but retain the ability to participate in the regulation of the increased urea level in AB.

**Keywords.** hepatitis, liver resection, kidneys, ammonia, glutamine, urea, excretion mechanisms.

**For citation:** Savilov P.N., Molchanov D.V. Liver resection transform mechanisms of excretion of ammonia by the kidneys of rats with tetrachloromethane chronic hepatitis *Patologicheskaya Fisiologiya I Eksperimentalnaya Terapiya (Patological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2018; 62(3): 72—79. (in Russian). DOI: 10.25557/0031-2991.2018.03.72-79

**For correspondence:** Pavel N. Savilov Doctor of medical Sciences, Professor, anesthesiologist, Department of the «Operating unit with the chamber of resuscitation and intensive therapy», Tambov Regional State Institution «Tambovskaya CRH», 4 ul. Polevaya, v. P.-Prigorodnoye, Tambov region, 393524, Russia, e-mail: p\_savilov@rambler.ru

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Funding.** The study had no sponsorship.

#### Information about authors:

Savilov P.N., <http://orcid.org/0000-0003-0506-8939>

Molchanov D.V., <http://orcid.org/0000-0002-7233-032X>

Received 13.08.2016

## Введение

Известно, что хроническое диффузное поражение печени (гепатит, цирроз), нарушая аммиакобезреживающую функцию гепатоцитов [1, 2], приводит к формированию эндогенной аммиачной интоксикации [3, 4], ведущим симптомом которой является артериальная гипераммониемия [5, 6]. Увеличение концентрации аммиака в артериальной крови активирует внепечёночные механизмы, направленные на его нейтрализацию [7—9] и выведение из организма [5, 10]. Среди них особое место занимают почки, которые в условиях хронического гепатита помимо экскреции аммиака, поступающего в свободной форме, выводят аммиак, доставляемый в составе глутамина (обратимая форма связывания аммиака) и мочевины (необратимая форма связывания аммиака) [11]. При этом в почках стимулируется образование глутамина клетками почечных канальцев и его инкреция в кро-

воток [11]. Не имея возможности (отсутствует полный набор ферментов орнитинового цикла) нейтрализовать аммиак через его вовлечение в синтез мочевины [4], почки, тем не менее, принимают активное участие в регуляции её содержания в артериальной крови при нарушении мочевиносинтетической функции гепатоцитов [10, 11].

Одним из хирургических методов лечения хронических гепатитов и циррозов печени является резекция части поражённого органа [12]. Её применение основано на активации в послеоперационном периоде пролиферации здоровых гепатоцитов при одновременной резорбции, образовавшейся в печени, патологической соединительной ткани [13]. Однако при этом снижается аммиакобезреживающая функция гепатоцитов [14], что проявляется прогрессированием артериальной гипераммониемии [5]. Вовлечение на этом фоне некоторых висцеральных органов [15, 16]

в компенсацию нарушения аммиакобезвреживающей функции гепатоцитов не в состоянии обеспечить быструю элиминацию избытка аммиака из артериальной крови. Что касается участия в этом процессе почек, то в настоящее время данный вопрос остаётся открытым.

*Цель работы* — изучение аммиакэскретирующей функции почек после резекции печени на фоне хронического тетрахлорметанового гепатита.

### Методика

Опыты проведены на 265 беспородных белых крысах (самках) массой 180—220 г, разводимых в виварии Воронежской государственной медицинской академии от потомства, привезённого из питомника лабораторных животных РАМН «Белый Мох» (Московская обл., Павло-Посадский район. г. Электрогорск). Все животные находились в одинаковых условиях клеточного содержания вивария при температуре 17—24°C и относительной влажности 50—70%. Питание проводили 2 раза в сутки натуральным кормом в соответствии с нормами для лабораторных животных (Приказ МЗ СССР N 163 от 10.03.1966 «О нормах кормления лабораторных животных и продуцентов»). Состояние здоровья животных оценивали путём ежедневного наблюдения за пищевой и питьевой активностью, осмотра кожных покровов и слизистых. Для эксперимента отбирали животных, прошедших в условиях кафедрального вивария 10-дневный карантин. Хронический гепатит воспроизводили подкожным введением 50% раствора тетрахлорметана (CCl<sub>4</sub>) на оливковом масле в дозе 0,1 мл/100 г массы тела (65 сут.), через день с двумя двухнедельными перерывами между 6—7 и 13—14 инъекциями. Резекцию печени осуществляли на 65-е сутки моделирования гепатита сразу после последней инъекции, удаляя электроножом часть левой доли печени (15—20% от массы органа). Работа с экспериментальными животными проводилась с учетом «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных», утвержденных Приказом МЗ СССР от 12.08.77 г. (N 755). Работа одобрена этическим комитетом Воронежского государственного медицинского университета. Оперативные вмешательства (лапаротомия и резекция печени) проводились животным под эфирным наркозом. Выведение животных из эксперимента осуществляли декапитацией под этиминаловым наркозом (40 мг этиминала-натрия/кг).

Животные были разделены на 8 серий. 1-я серия — интактные животные (норма); 2-я серия — 65-е сут. после введения CCl<sub>4</sub> (конец затравки); 3-я, 4-я и 5-я серии — «ложнооперированные» животные

с хроническим CCl<sub>4</sub>-гепатитом, исследованные соответственно на 3-и, 7-е и 14-е сут. отмены CCl<sub>4</sub> и лапаротомии. Эти серии служили контролем непосредственного влияния резекции печени (РП) на исследуемые показатели. 6-я, 7-я и 8-я серии — животные с хроническим CCl<sub>4</sub>-гепатитом, исследованные на 3-и, 7-е и 14-е сут. после РП. Объектом исследования служили почки, артериальная кровь (АК, аорта), кровь почечной вены (КПВ) и моча. Перфузию почек осуществляли после лапаротомии через брюшной отдел аорты в месте отхождения почечной артерии. Для определения азотистых метаболитов почки предварительно перфузировали охлаждённым раствором КСl (0,145M). Почечную ткань замораживали жидким азотом и растирали до порошка, который использовали для приготовления 10% гомогената в 60% растворе трихлоруксусной кислоты (ТХУ). Гомогенат экстрагировали на холоду в течение 30 мин, после чего центрифугировали при 3000 об/мин в течение 10 мин. Полученный супернатант использовали для определения аммиака, мочевины и глутамина. Кровь для исследования брали предварительно гепаринизированными инсулиновыми шприцами в следующей последовательности: КПВ -> аорта. Объектом исследования служила депротеинизированная плазма. Содержание аммиака в ткани почек и моче определяли микродиффузионным методом [17], в крови — фенилгипохлоридным методом [18]. Содержание мочевины в почках, крови, моче определяли диацетилмоноксимовым методом [19]. Содержание глутамина в почках и крови определяли методом кислотного гидролиза [20]. Для сбора мочи животных помещали на 4 часа в пенал; в пробирку, куда оттекала моча, добавляли 0,1 мл 60% раствора ТХУ для подавления уреазной активности. Пробу мочи для определения аммиака разводили в 200 раз, мочевины в 100 раз, что учитывалось при расчёте показателей. Содержание метаболитов в почках выражали в ммоль/кг влажной ткани, в крови и моче — в ммоль/л. Рассчитывали почечную артериовенозную разницу (rABP) по аммиаку (rABPам), глутамину (rABPгн) и мочеине (rABPм).

Статистический анализ результатов исследований проведён с использованием t-критерия Стьюдента после проверки выборок на нормальное распределение и с учётом коэффициента Ньюмана—Кейлса для множественных сравнений [21].

### Результаты и обсуждение

Как видно из табл. 1, на момент оперативного вмешательства (конец затравки) концентрация аммиака в АК и КПВ превышала норму, соответственно, на 97% и 27%. В результате rABPам из отрица-

тельной в норме становилась положительной величиной (табл. 1), что свидетельствует об увеличении потребления почками аммиака из АК. В результате концентрация аммиака в моче превышала норму на 35% (табл. 1), тогда как в почках она повышалась на 57% (табл. 2). Содержание глутамин в КПВ на 65-е сут. введения  $CCl_4$  статистически значимо не отличалась от нормы, тогда как в АК была снижена на 17%, что являлось причиной снижения на 54% гАВРгн в указанный период наблюдений (табл. 1). Между тем в почечной ткани концентрация глутамин в конце затравки превышала норму на 43% (табл. 2). На 65-е сут. введения  $CCl_4$  обнаружено увеличение концентрации мочевины в АК и КПВ, соответственно, на 109% и 199% по сравнению с нормой, в результате чего гАВРм становилась отри-

цательной (табл. 1), указывая на инкрецию мочевины из почек в кровотоки. Несмотря на это, содержание мочевины в моче превышало норму на 70% (табл. 1), тогда как в почечной ткани не отличалась от неё (табл. 2).

Из вышеизложенного следует, что на момент оперативного вмешательства у животных с хроническим  $CCl_4$ -гепатитом имело место развитие артериальной гипераммониемии, артериальной гипоглутаминемии и двукратное увеличение концентрации мочевины в АК. В этих условиях почки, увеличивая экскрецию аммиака и мочевины с мочой, оказались не в состоянии нормализовать концентрации этих метаболитов в АК. Причиной тому следует рассматривать, обнаруженную в 1974 г. В.И. Филатовым вазоконстрикцию приносящих почечных артериол при хроническом

Таблица 1

Содержание аммиака, глутамин и мочевины (ммоль/л) крови и моче крыс с хроническим  $CCl_4$ -гепатитом после резекции печени ( $M \pm m$ )

Показатели	Норма (n = 10)	Конец затравки (n = 10)	Сутки после резекции печени и отмены $CCl_4$		
			3 (n = 10)	7 (n = 10)	14 (n = 10)
Аммиак					
АК	0,091 ± 0,004	0,178 ± 0,008*	0,202 ± 0,012* <sup>^</sup>	0,175 ± 0,011*	0,150 ± 0,011*
КПВ	0,110 ± 0,005	0,140 ± 0,007*	0,165 ± 0,006* <sup>^</sup>	0,142 ± 0,009*	0,122 ± 0,008
АВР	-0,019 ± 0,006	0,034 ± 0,006	0,047 ± 0,009	0,032 ± 0,007	0,028 ± 0,006
Моча	0,88 ± 0,008	1,38 ± 0,11*	1,76 ± 0,11* <sup>^</sup>	2,18 ± 0,15* <sup>^</sup>	1,56 ± 0,14*
Глутамин					
АК	0,705 ± 0,021	0,585 ± 0,023*	0,675 ± 0,035	0,750 ± 0,032 <sup>^</sup>	0,801 ± 0,028* <sup>^</sup>
КПВ	0,464 ± 0,019	0,474 ± 0,021	0,565 ± 0,024* <sup>^</sup>	0,645 ± 0,019* <sup>^</sup>	0,402 ± 0,023
АВР	0,241 ± 0,021	0,111 ± 0,018*	0,130 ± 0,014*	0,105 ± 0,014*	0,399 ± 0,031* <sup>^</sup>
Мочевина					
АК	3,4 ± 0,12	7,11 ± 0,36*	5,48 ± 0,2* <sup>^</sup>	6,82 ± 0,41*	6,78 ± 0,43*
КПВ	2,63 ± 0,19	7,86 ± 0,35*	6,04 ± 0,44* <sup>^</sup>	6,21 ± 0,24*	6,89 ± 0,47*
АВР	0,77 ± 0,08	-0,75 ± 0,011	н.д.	н.д.	н.д.
Моча	28,6 ± 4,12	48,6 ± 4,38*	40,4 ± 3,4*	45,2 ± 4,13*	29,4 ± 2,13 <sup>^</sup>

Примечание. АК — артериальная кровь; КПВ — кровь почечной вены; АВР — артериовенозная разница; нд — недостоверное различие; \* (p<0,05) — значимость различий по сравнению с нормой; <sup>^</sup> (p<0,05) — значимость различий по сравнению с концом затравки.

Таблица 2

Содержание аммиака, глутамин и мочевины (ммоль/кг влажной ткани) в почках крыс с хроническим  $CCl_4$ -гепатитом после резекции печени ( $M \pm m$ )

Показатели	Норма (n = 15)	Конец затравки (n = 10)	Сутки после резекции печени и отмены $CCl_4$		
			3 (n = 10)	7 (n = 10)	14 (n = 10)
Аммиак	1,95 ± 0,11	3,07 ± 0,36*	2,63 ± 0,1*	1,83 ± 0,18 <sup>^</sup>	4,84 ± 0,49* <sup>^</sup>
Глутамин	2,41 ± 0,18	3,45 ± 0,21*	4,29 ± 0,41*	3,37 ± 0,26*	4,34 ± 0,29*
Мочевина	11,2 ± 1,01	9,79 ± 0,59	15,6 ± 0,91* <sup>^</sup>	14,7 ± 0,6* <sup>^</sup>	18,1 ± 0,75* <sup>^</sup>

Примечание. \* (p<0,05) — значимость различий по сравнению с нормой; <sup>^</sup> (p<0,05) — значимость различий по сравнению с концом затравки.



диффузном поражении печени, которая приводит к сбросу части артериальной крови по внутривенным артериовенозным шунтам обратно в центральный кровоток, минуя корковую зону почек [11]. Этим и объясняется, обнаруженное нами (табл. 1 и 2), несоответствие прироста содержания аммиака и мочевины в КПВ по сравнению с изменениями их концентраций в АК, почечной ткани и моче. Одновременно с этим в почках происходит патологическое накопление аммиака, которое, как известно [23, 24], с одной стороны, тормозит дезамидирование в них «артериального» глутаминина, а с другой, стимулирует образование глутаминина в самих почках и его инкрецию в кровотоке. С этих позиций становится понятным накопление почками в конце затравки одновременно с аммиаком глутаминина (табл. 2) при отсутствии снижения концентрации последнего в КПВ на фоне артериальной гипоглутаминемии (табл. 1). В свою очередь, различный прирост содержания мочевины в АК, КПВ и моче, выявленный на 65-е сут. введения  $\text{CCl}_4$  позволяет говорить о том, что на фоне увеличения экскреции мочевины с мочой происходит увеличение и реабсорбция этого метаболита в почках. Это является одной из причин увеличения концентрации мочевины в АК при хроническом  $\text{CCl}_4$ -гепатите, несмотря на нарушение мочевиносинтетической функции гепатоцитов [2].

На 3-и сут. после РП у животных с  $\text{CCl}_4$ -гепатитом содержание аммиака по сравнению с ложнопериоперированными животными (3 серия опытов) было увеличено только в АК и моче, соответственно, на 34% и 49%. По сравнению с предоперационным периодом (конец затравки) она была увеличена (на 28%) только моче (табл. 1). Относительно нормы, увеличение концентрации аммиака в АК, КПВ и моче составило, соответственно, 112%, 50% и 128%, при этом гАВРам оставалась положительной величиной (табл. 1). В почках животных с хроническим  $\text{CCl}_4$ -гепатитом на 3-и сут. после РП концентрация аммиака превышала норму на 49% (табл. 2). В свою очередь, концентрация глутаминина в указанный период наблюдений в АК, КПВ, почечной ткани статистически значимо не отличалась от таковой в биологических образцах животных 3-й серии экспериментов. По сравнению с концом затравки она увеличивалась в АК и КПВ, соответственно, на 15% и 19%, но превышала норму (на 20%) только в КПВ, при этом гАВРгн оставалась на 44% ниже нормы (табл. 1). Однако в почках концентрация глутаминина превышала норму на 78% (табл. 2). На 3-и сут. после РП содержание мочевины в исследуемых биологических образцах, по сравнению с животными 3-й серии, статистически значимо изменялось только в моче, где выявлено её снижение на 28%. По сравнению с концом

затравки, концентрация мочевины в АК и КПВ снижалась соответственно на 23% и 24%, делая гАВРм статистически незначимой (табл. 1), но в почечной ткани концентрация мочевины увеличивалась на 59% (табл. 2). Относительно нормы концентрация мочевины была повышена как в АК, КПВ и моче, соответственно на 63%, 130% и 41% (табл. 1), так и на 39% в почках (табл. 2)

Сопоставление полученных результатов с данными литературы [5, 11] позволяет говорить о том, что у животных с хроническим  $\text{CCl}_4$ -гепатитом на 3-и сут. после РП имеет место прогрессирование эндогенной аммиачной интоксикации, что проявляется увеличением степени артериальной гипераммониемии. Отвечая на это повышением экскреции аммиака с мочой, почки не в состоянии предотвратить его патологическое накопление её клетками, и увеличение его концентрации в оттекающей от почек венозной крови. В свою очередь, увеличение концентрации аммиака в почечной ткани стимулирует образование «почечного» глутаминина с его дальнейшей инкрецией в кровотоке, что объясняет повышение его содержания в КПВ при отсутствии аналогичных изменений в АК по сравнению с концом затравки (табл. 1). При этом инкреция «почечного» глутаминина в кровотоке следует рассматривать как одну из причин устранения артериальной гипоглутаминемии в указанный период наблюдений. С другой стороны, накопление почками аммиака будет ингибировать дезамидирование в них «артериального» глутаминина, создавая, тем самым, условия для сохранения его повышенной концентрации в почечной ткани на 3-и сут. послеоперационного периода (табл. 2). Усиливая развивающееся при токсическом поражении печени [5], повышенное выделение мочевины с мочой как ответную реакцию организма на увеличение её концентрации в АК, РП не оказывает влияния на процессы, запускаемые отменной  $\text{CCl}_4$ , которые способствуют увеличению концентрации мочевины в почечной ткани (табл. 2) и КПВ (табл. 1) на 3-и сут. послеоперационного периода. При этом прекращение у животных с хроническим  $\text{CCl}_4$ -гепатитом на 3-и сут. послеоперационного периода, реабсорбции мочевины (повышенной ранее) в почках лежит в основе стимулирующего влияния РП на экскрецию мочевины с мочой. При этом, видимо, сохраняется, запускаемое в ответ на нарушение мочевиносинтетической функции гепатоцитов [2], повышенное образование мочевины клетками почечных канальцев. Последнее объясняет сохранение у животных на 3-и сут. после РП повышенной концентрации мочевины в почечной ткани (табл. 2) и КПВ, относительно конца затравки, несмотря на увеличение её экскреции с мочой (табл. 1).

На 7-е сут. после РП у животных с хроническим ССІ<sub>4</sub>-гепатитом содержание аммиака в АК, КПВ и почках не отличалось от аналогичных показателей «ложнооперированных» животных 4-й серии, тогда как в моче оно увеличилось на 28%. По сравнению с нормой содержание аммиака в АК и КПВ на 7-е сут. после РП было повышено, соответственно, на 92% и 29%, в результате гАВРам оставалась положительной величиной (табл. 1). В почечной ткани животных с хроническим ССІ<sub>4</sub>-гепатитом на 7-е сут. после РП содержание аммиака снижалось до нормы (табл. 1), тогда как в моче его содержание превышало норму в 2 раза (табл. 1). По сравнению с животными 4-й серии, концентрация глутамин в изучаемых биологических образцах изменялась только в почках, где была увеличена на 48%. По сравнению с нормой на 7-е сут. после РП концентрация глутамин была повышена на 44% в КПВ (табл. 1) и в почках на 40% (табл. 2). При этом гАВРгн оставалась на 56% ниже нормы (табл. 1). Как видно из табл. 1, по сравнению с концом затравки, увеличение (на 50%) содержания мочевины в указанный период наблюдений было обнаружено только в почках (табл. 2). По сравнению с нормой концентрация мочевины в АК, КПВ и моче на 7-е сут. послеоперационного периода была повышена соответственно на 102%, 136%, и 58% при сохранении статистически незначимой гАВРм (табл. 1). В почках содержание мочевины в указанный период наблюдений превышало норму на 36% (табл. 2). Относительно «ложнооперированных» крыс (4-я серия опытов), статистически значимые изменения концентрации мочевины на 7-е сут. после РП были обнаружены только в АК и КПВ, где она была увеличена, соответственно, на 64% и 77%.

Сопоставление полученных результатов с данными литературы [5, 11] показывает, что у животных с хроническим ССІ<sub>4</sub>-гепатитом на 7-е сут. после РП сохраняется повышенное потребление аммиака почками из АК с его дальнейшим выведением из организма с мочой. Но при этом имеет место нормализация содержания аммиака в почечной ткани, которая сопровождается накоплением в ней глутамин, несмотря на сохранение в указанный период сниженного его потребления почками из АК (табл. 1). Данное несоответствие можно объяснить лишь с позиций стимуляции в указанный период обоих звеньев почечного глутаминового цикла. Стимуляция образования «почечного» глутамин объясняет увеличение его концентрации в КПВ на 7-е сут. послеоперационного периода относительно конца затравки (табл. 1). Стимуляция дезамидирования в почках «артериального» глутамин объясняет, обнаруженное нами, прогрессирующее увеличение экскреции ионов аммония с мочой в указанный период на фоне отсутствия аналогичных

изменений в АК по сравнению с концом затравки (табл. 1). Можно предположить, что РП преимущественно активирует образование «почечного», глутамин не оказывая ингибирующего влияния на дезамидирование в почках глутамин «артериального», активация которого связано с отменой гепатотоксина [11]. При дезамидировании глутамин помимо аммиака образуется глутамат [1, 4], который, как известно [1], с трудом проникает через плазматическую мембрану. Поэтому есть все основания говорить о том, что активируя дезамидирование глутамин, поступающего с АК, почки предотвращают развитие дефицита глутамин в клетках почечных канальцев при стимуляции образования ими собственного глутамин. На 7-е сут. после РП на фоне хронического ССІ<sub>4</sub>-гепатита сохраняется повышенная экскреция мочевины с мочой (табл. 1), несмотря на прекращение непосредственного стимулирующего влияния РП на данный процесс. Но при этом усиливается сброс «артериальной» мочевины в кровоток по внутрпочечным артериовенозным шунтам, минуя корковую зону почек, на что указывает положительная корреляция ( $r = 0,91$ ;  $p < 0,05$ ) между содержанием мочевины в АК и КПВ, выявленная в указанный период наблюдений. Одновременно с этим в почках сохраняется повышенное образование мочевины с её частичной инкрецией в кровоток, на что указывает отрицательная корреляция между содержанием мочевины в почках и КПВ ( $r = -0,86$ ;  $p < 0,05$ ). Реабсорбция мочевины из почечных канальцев, вероятно, при этом снижена. Неслучайно прирост её содержания в моче по отношению к норме в 1,5 раза превышал аналогичные изменения в почечной ткани.

На 14-е сут. после РП у животных с хроническим ССІ<sub>4</sub>-гепатитом концентрация аммиака в АК, почках и моче превышала аналогичный показатель в биологических образцах «ложнооперированных» крыс 5- серии опытов соответственно на 38%, 43% и 26%. По сравнению с концом затравки она была повышена только в почечной ткани на 58% (табл. 2). Относительно нормы концентрация аммиака в АК, КПВ и моче была увеличена соответственно на 65%, 22% и 77%; при этом гАВРам оставалась положительной величиной (табл. 1). В почках содержание аммиака на 14-е сут. после РП превышало норму на 148% (табл. 2). На 14-е сут. после РП отмечено увеличение в 4 раза гАВРгн и на 37% концентрации глутамин в АК (табл. 1), на 80% в почечной ткани (табл. 2). При этом отмечалась нормализация, повышенной ранее, концентрации глутамин в КПВ, что на фоне развития артериальной гиперглутаминемии приводило к увеличению гАВРгн на 67% по сравнению с нормой (табл. 1). Это указывает на резкое возрастание в указанный

период наблюдений потребления почками «артериального» глутамина. В результате его концентрация в почечной ткани становилась на 26% выше нормы (табл. 2). Относительно «ложнооперированных» крыс 5-серии опытов, на 14-е сут. после РП содержание мочевины было увеличено на 26% и 28% соответственно в АК и почках, но снижено на 23% в моче. Это указывает на ингибирующее влияние РП на экскрецию мочевины с мочой, носящее отсроченный характер. По сравнению с концом затравки статистически значимые изменения концентрации мочевины в указанный период были отмечены только в почках и моче, соответственно, увеличение на 83% (табл. 2) и снижение на 40% (табл. 1). По сравнению с нормой концентрация мочевины была увеличена в АК и КПВ соответственно на 99% и 162%, на фоне сохранения недостоверной гАВРМ (табл. 1), но при этом в почках концентрация превышала норму на 62% (табл. 2).

Сопоставление полученных результатов с данными литературы [5, 11] показывает, что у животных с хроническим СС1<sub>4</sub>-гепатитом на 14-е сут. после РП происходит повторное патологическое накопление аммиака почечной тканью на фоне сохранения артериальной гипераммониемии и повышенного потребления почками аммиака из АК. Развитие в этот период отсроченной артериальной гиперглутаминемии сопровождается увеличением потребления глутамина из АК, являясь одной из причин его накопления в почечной ткани, другой следует рассматривать прекращение инкреции глутамина из почек в кровоток, на что указывает нормализация, до этого повышенной, концентрации глутамин в КПВ (табл. 1). При этом не исключается и повышенное образование глутамин самими почками. Поскольку глутамин является аллостерическим стимулятором почечных глутаминаз [24], то есть все основания говорить о стимуляции дезамидирования в почках как «артериального», так и «почечного» глутамин и преобладании в почках глутаминазного звена глутаминового цикла над глутаминсинтетазным. Неслучайно прирост содержания аммиака в почках на 14-е сут. послеоперационного периода существенно превышает аналогичные изменения в конце затравки и на 3-и сут. после РП (табл. 2). При этом не исключается и нарушение секреции аммиака почками в почечные канальцы. В пользу данного предположения указывает обнаруженное нами несоответствие прироста на 14-е сут. после РП концентрации аммиака в моче изменению его содержания в АК и почечной ткани. В отличие от аммиака и глутамин, концентрация мочевины в моче животных с хроническим СС1<sub>4</sub>-гепатитом к 14-м сут. после РП нормализуется, несмотря на сохранение повышенной концентрации в артериальной крови. Ана-

лиз динамики изменений содержания мочевины в исследованных биологических образцах животных с РП на фоне хронического СС1<sub>4</sub>-гепатита позволяет говорить об усилении на 14-е сут. послеоперационного периода шунтирования «артериальной» мочевины в почках, на фоне сохранения стимулирующего влияния РП на образование мочевины их клетками при одновременном нарушении как её секреции в почечные канальцы, так и инкреции в кровоток. С этих позиций становится понятным столь выраженное накопление мочевины почками на 14-е сут. послеоперационного периода по сравнению с концом затравки (табл. 2).

Таким образом, применение РП на фоне хронического СС1<sub>4</sub>-гепатита вызывает прогрессирование эндогенной аммиачной интоксикации, развивающейся в организме при хроническом диффузном поражении печени. Это сопровождается дальнейшим увеличением концентрации в АК аммиака и мочевины, на фоне развития артериальной гипоглутаминемии. В ответ на это почки увеличивают выведение из оперированного организма аммиака с мочой. Это осуществляется следующими механизмами: во-первых, увеличением поступления в первичную мочу аммиака, доставляемого к почкам в свободной форме артериальной кровью; во-вторых, торможением, характерной для нормы, частичной реабсорбции аммиака из собирательных трубочек; в-третьих, стимуляцией секреции в почечные канальцы аммиака, образовавшегося при дезамидировании глутамин в клетках почечных канальцев. Однако этого оказывается недостаточно для предотвращения увеличения концентрации аммиака в отекающей от почек крови и его патологического накопления почечной тканью на 3-и и 14-е сут. послеоперационного периода. Стимулируя образование глутамин клетками почечных канальцев, РП не устраняет патологическое накопление аммиака почечной тканью, но сопровождаясь инкрецией глутамин из почек в кровоток, содействует отсроченной (на 14-е сут.) послеоперационной артериальной гиперглутаминемии. Её развитие совпадает с повышенным потреблением глутамин почками из артериальной крови, что содействует его длительному накоплению почечной тканью. Стимулируя увеличение содержания мочевины в АК у животных с хроническим СС1<sub>4</sub>-гепатитом, РП создаёт условия не только для её повышенного выведения с мочой, но и её повышенного образования в клетках почечных канальцев. При этом одна часть «почечной» мочевины, инкретируется в кровоток, другая секретируется в почечные канальцы. В зависимости от сроков послеоперационного периода это сопровождается изменением скорости реабсорбции мочевины из почечных канальцев в кровь.

## References

1. Haussinger D., Sies H., Gerok W. Leber und pH-Regulation. Die Bedeutung der intracellularen Glutaminzyklus *Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft für innere Medizin*. 1984; 90: 1165-7.
2. Savilov P.N. Ammonia neutralization function liver in chronic active hepatitis *Patologicheskaya Fisiologiya I Experimentalnaya Terapiya* 2004; 1: 24-6. (in Russian)
3. Reshetnyak V.I. Liver cell failure. *Obchaya Reanimatologiya*. 2005; 1(3): 68-79. (in Russian)
4. Kosenko E.A., Kaminsky Y.G. *Cellular mechanisms of ammonia toxicity [Kletotchnye mekhanizmy toksichnosti ammiaka]*. Moscow; LKI, 2008. (in Russian)
5. Savilov P.N., Molchanov D.V. Kinetics of ammonia in the body in chronic hepatitis partial hepatectomy and hyperbaric oxygenation *Jurnal teoreticheskoy i prakticheskoy meditsiny – Voronezh*. 2010; 8(2): 211-6. (in Russian)
6. Schricker A., Abuszies G., Weidenbach H., Beck K.H., Ensinger H., Geiser W., Adler G., Georgieff M. Harnstoff und Glukosenproduktion der Leber beim Patienten mit alkoholinduzierte Zirrhose *Dtsch. Med. Wschr.* 1997; 122(4): 75-9.
7. Savilov P.N., Molchanov D.V., Yakovlev V.N. The effect of hyperbaric oxygenation on the kinetics of glutamine in the body when liver failure *Obchaya Reanimatologiya*. 2012; 8(2): 20-7. (in Russian)
8. Savilov P.N. The state of nitrogen metabolism in thyroid gland tissue in chronic hepatitis *Meditsina Kirgizstana*. 2012; 6: 68-72.
9. Savilov P.N. Nitrogen metabolism in the spleen in chronic hepatitis tetrachlorocarbon. *Biologicheskiy zhurnal Armenii*. 2015; 67(2): 6-11.
10. Molchanov D. V., Savilov P. N. Renal mechanisms of elimination of ammonia after liver resection (experimental study). *Rossiyskiy vestnik detskoy hirurgii, anesthesiologii I reanimatologii*. 2013; 3(3): 64-8. (in Russian)
11. Savilov P.N., Molchanov D.V. Kinetics of nitrogenous metabolites in the kidney during tetrachlorometane hepatitis. *Patologicheskaya Fisiologiya I Experimentalnaya Terapiya*. 2014; 2: 56-60. (in Russian)
12. Pyshkin S.A., Malyshev Yu.I., Dimov P.G. Indications for surgical treatment of chronic hepatitis and liver cirrhosis. *Klinicheskaya khirurgia* 1986; 9: 29-32. (in Russian)
13. Rivnyak V.I. Extracellular breakdown of collagen under the action of lysosomal enzymes during involution of liver cirrhosis. *Bulleten Eksperimentalnoy Biologii I Meditsiny*. 1986; 12: 760-3. (in Russian)
14. Savilov P.N. Influence of partial hepatectomy on ammoniumdetoxications function of liver at chronic tetrachlorocarbon hepatitis. *Patologicheskaya Fisiologiya I Experimentalnaya Terapiya*. 2017; 61(2): 61-6. (in Russian)
15. Savilov P.N. The impact of liver resection on the nitrogen metabolism of the spleen in chronic hepatitis tetrachlorocarbon. *Biologicheskiy zhurnal Armenii*. 2015; 67(4): 58-64.
16. Savilov P.N. Kinetics of nitrogen metabolites in the tissue of the thyroid gland after resection of the liver with chronic hepatitis. *Meditsina Kirgizstana*. 2014; 2: 153-7.
17. Silakova A. I. Trubin, G.P., Yavlikova A.I. Micro-method determination of ammonia and glutamine in trichloroacetic tissue extracts. *Voprosy Meditsinskoy Khimii*. 1962; 8(5): 538-44. (in Russian)
18. Keller H., Muller-Beisenritz M., Neumann E. Eine Methode zur Ammoniakbestimmung in Capillarblut. *Klin. Wschr.* 1967; 15: 314-9.
19. 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): 569-76.
20. Richterrich D. *Clinical. Chemistry* N.Y.: Academia Press, 1962.
21. Glantz St. A. *Primer of Biostatistics* N.Y.: McGraw-Hill Inc, 1994.
22. Vander A. *Renal Physiology* (Transl. from Engl.) Sankt Petersburg, 2000.
23. Parry D.M., Brossman J.T. Glutamine metabolism in the kidney during induction of and recovery from metabolic acidosis in the rat. *Biochem J.* 1978; 178(2): 387-96.
24. Kozlov EA., Kovalenko N. Glutaminases. *Uspekhi biologicheskoy khimii*. 1972; 13: 49-79. (in Russian)

## Сведения об авторах:

Савилов Павел Николаевич, доктор мед. наук, проф., врач анестезиолог-реаниматолог отделения «Операционный блок с палатой реаниматологии интенсивной терапии» ТОГБУЗ «Тамбовская ЦРБ», Тамбовская обл., Тамбовский р-н., с. Покров-Пригородное

Молчанов Дмитрий Владимирович, доктор мед. наук, проф., врач-эксперт АО Страховая компания «СО-ГАЗ-Мед»