

© Савилов П.Н., 2022

УДК 6616-005 2

Савилов П.Н.

Особенности кинетики мочевины в организме при хроническом воспалительном поражении печени

ТОГБУЗ «Тамбовская ЦРБ», 392524, Россия,

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

ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко»,

39400, Воронеж, ул. Студенческая, д. 1

Введение. Участие эндогенного антиоксиданта мочевины в регуляции многих физиологических процессов и биохимических реакций объясняет научный и практический интерес изучения её кинетики в больном организме, особенно при нарушении мочевиносинтетической функции печени. Цель работы – изучение кинетики мочевины в организме при хроническом воспалительном поражении печени.

Методика. Опыты выполнены на 96 белых крысах (самках) массой 180-220 г. Хроническое воспалительное поражение печени вызывали подкожным введением 50% раствора тетрахлорметана (CCl_4) на оливковом масле 0,1 мл/100 г массы тела, через день, 65 сут с двумя двухнедельными перерывами между 6-й и 7-й, 13-й и 14-й инъекциями. Исследования проводили в последние сутки введения гепатотоксина, на 3-и, 7-е и 14-е сут после его отмены. Объектами исследования служили: щитовидная железа, лёгкие, сердце, печень, желудок, двенадцатиперстная кишка, толстая кишка, селезёнка и почки а также биологические жидкости: кровь (аорта, *v. Femoralis*, *v. hepatica*, *v. porta*, *v. renalis*), желчь и моча. Содержание мочевины определяли диацетилмоноксимовым методом. В гомогенате и цитозольной фракции печени исследовали активность аргиназы по скорости образования мочевины.

Результаты. При хроническом CCl_4 -гепатите нарушается образование мочевины гепатоцитами в результате снижения активности в них аргиназы, которая не восстанавливается к 14-м сут после отмены CCl_4 . Это сопровождается снижением концентрации мочевины в поражённой печени, на фоне увеличения её содержания в протекающей через неё крови. Последнее связано с активацией «портальных», «лёгочных», «почечных» и «висцеральных» механизмов, направленных на увеличение концентрации мочевины в артериальной крови, крови *v. porta* и *v. renalis*. В результате содержание мочевины в артериальной крови животных с хроническим CCl_4 -гепатитом, несмотря на нарушение мочевиносинтетической функции гепатоцитов, превышает норму. Одновременно изменяется кинетика мочевины как в самом организме, так и в отдельных его органах.

Заключение. Стремление организма предотвратить снижение концентрации мочевины в крови при нарушении мочевиносинтетической функции печени, вызванной длительным действием CCl_4 , указывает на важную роль мочевины в саногенных реакциях, которые запускаются в организме при хроническом CCl_4 -гепатите.

Ключевые слова: мочевина; висцеральные органы; кругооборот в организме, гепатит; аргиназа гепатоцитов

Для цитирования: Савилов П.Н. Особенности кинетики мочевины в организме при хроническом воспалительном поражении печени. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2022; 66(4): 122-131.

DOI: 10.25557/0031-2991.2022.04.122-131

Для корреспонденции: Савилов Павел Николаевич, e-mail: p_savilov@rambler.ru

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Поступила 05.04.2022

Принята к печати 27.10.2022

Опубликована 15.12.2022

Savilov P.N.

The kinetics of urea in the body in chronic inflammatory liver disease

Tambov Central Regional Hospital,

Polevaya St. 4, Pokrov-Prigorodnoe Village 392524, Tambov Region, Russian Federation;

Burdenko Voronezh State Medical University,

Studencheskaya St. 1, Voronezh, 39400, Russian Federation

The participation of the endogenous antioxidant, urea, in the regulation of many physiological processes and biochemical reactions explains the scientific and practical interest in studying its kinetics during illness, especially when the urea-producing function of the liver is disturbed. **The aim** of this work was to study the kinetics of urea in chronic inflammatory liver damage.

Methods. Experiments were performed on 96 white female rats weighing 180-220 g. Chronic inflammatory liver disease was induced by subcutaneous administration of a 50% CCl₄ solution in olive oil, 0.1 ml/100 g body weight, every other day, for 65 days with two two-week breaks between the 6th and 7th, 13th and 14th injections to reduce mortality. The material was collected for study on the 65th day (the last day) of CCl₄ administration and on the 3rd, 7th, and 14th days after stopping CCl₄. The following materials were studied: tissues of visceral organs (thyroid gland, lungs, heart, liver, stomach, duodenum, colon, spleen, kidneys); biological fluids: blood (aorta and femoral, hepatic, portal, and renal veins), bile, and urine. The urea content was determined by the diacetyl monoxime method. The activity of arginase in the homogenate and the cytosolic fraction of the liver were evaluated by the urea formation rate.

Results. In chronic CCl₄ hepatitis, the formation of urea by hepatocytes was disrupted as a result of a decrease in their arginase activity, which did not recover by the 14th day after stopping CCl₄ withdrawal. This was accompanied by a decrease in the concentration of urea in the affected liver and an increase in its content in the blood flowing through the liver. This was due to the activation of portal, pulmonary, renal, and visceral mechanisms aimed at increasing the concentration of urea in arterial blood and in portal and renal venous blood. As a result, the urea content in the arterial blood of rats with chronic CCl₄ hepatitis was elevated, despite the disruption of the urea-synthetic function of hepatocytes. At the same time, the kinetics of urea changed in both the whole body and in individual organs.

Conclusion. The ability of the body to prevent a decrease in the concentration of blood urea during disruption of the urea-producing function of the liver, as caused by the prolonged action of CCl₄, indicates the important role of urea in sanogenic reactions that are triggered during chronic CCl₄-hepatitis.

Keywords: urea; education; visceral organs; circulation in the body; hepatitis; hepatocyte arginase

For citation: Savilov P.N. The kinetics of urea in the body in chronic inflammatory liver disease. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2022; 66 (4): 122-131. (in Russian).

DOI: 10.25557/0031-2991.2022.04.122-131

For correspondence: Pavel N. Savilov, Doctor of medical Sciences, Professor, anesthesiologist, Tambov Central District Hospital, 4 ul. Polevaya, v. P-Prigorodnoye, Tambov region, 393524, Russian Federation, e-mail: p_savilov@rambler.ru

Information about the author:

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

Conflict of interest. The author declares no conflict of interest.

Financing. The study had no sponsorship.

Received 05.04.2022

Accepted 27.10.2022

Published 15.12.2022

Введение

Экспериментальными исследованиями установлено, что нарушение мочевиносинтетической функции гепатоцитов при резекции печени [1], вызывая снижение концентрации мочевины в крови печёночных вен, не приводит к аналогичным изменениям содержания метаболита в артериальной крови [2]. Это достигается, благодаря запуску ряда механизмов, направленных на компенсацию нарушения мочевиносинтетической функции гепатоцитов [3]. Однако возникает вопрос, являются ли выявленные изменения кинетики мочевины в оперированном организме специфическими, или они наблюдаются при других патологических состояниях, затрагивающих образование мочевины в печени. Интерес к этому продиктован полифункциональностью данного эндогенного метаболита, который является не только эндогенным антиоксидантом [4], но может выступать в роли регулятора активности ферментов [5], гепарина [6], а также стабилизато-

ра лизосомальных мембран в условиях патологии [7]. Всё это имеет важное значение при диффузном поражении печени, которое сопровождается истощением антиоксидантной системы гепатоцитов на фоне активации перекисного окисления липидов [8].

Цель исследования – изучение в эксперименте кинетики мочевины в организме при хроническом воспалительном поражении печени, вызванном длительным введением тетрахлорметана.

Методика

Исследования проводились в лаборатории кафедры нормальной физиологии (зав.- проф. В.Н. Яковлев) Воронежской государственной медицинской академии им. Н.Н. Бурденко на 96 беспородных белых крысах (самки) массой 180-220 г. Хронический гепатит воспроизводили по методике Д.С. Саркисова и Л.С. Рубецкого [9] подкожным введением 50% раствора тетрахлорметана (CCl₄) на оливковом масле (0,1 мл/100г массы тела). Инъекции в течение 65 сут

делали через сутки с двумя двухнедельными перерывами (для снижения летальности) между 6-й – 7-й и 13-й – 14-й инъекциями. Работа с экспериментальными животными проводилась в соответствии с регламентом декларации ЕС от 22 сентября 2010 г. об использовании лабораторных животных в научных целях. Исследование одобрено Этической комиссией Воронежского государственного медицинского университета. Выведение животных из опыта осуществляли декапитацией на фоне этиминалового наркоза (40 мг этиминала-натрия/кг массы тела).

Животные были разделены на 5 серий опытов. 1 серия – интактные животные (норма); 2 серия – животные, исследованные на 65-е (последние) сутки введения CCl_4 (конец затравки); 3-я, 4-я и 5-я серии – животные с хроническим CCl_4 -гепатитом, исследованные, соответственно, на 3-и, 7-е и 14-е сут отмены CCl_4 . Объектами исследования служили: щитовидная железа, лёгкие, сердце, левая и средняя доли печени, селезёнка, желудок, двенадцатиперстная кишка (ДПК), толстая кишка, почки, артериальная кровь (аорта), венозная кровь (*v. porta*, *v. hepatica*, *v. renalis*, *v. femoralis*), желчь и моча. Забор крови осуществляли у наркотизированных животных предварительно гепаринизированными инсулиновыми шприцами в следующей последовательности: *v. femoralis*- *v. hepatica*- *v. Porta* – *v. renalis*- *aorta*. Кровь *v. hepatica* получали из междолевого печёночного синуса по разработанной нами методике [10]. В дальнейшем рассчитывали артерио-венозную разницу по мочеvine между артериальной кровью и кровью бедренной вены (fABPm), печёночных вен (hABPm), кровью почечной вены (rABPm). Рассчитывали артерио-портальную разницу (АПРm) – между артериальной кровью и кровью *v. porta* и порто-венозную разницу (ПВРm) – между кровью *v. porta* и *v. hepatica*. После забора крови из сосудов производили перфузию органов охлаждённым 0,145M раствором KCl. Животных декапитировали под этиминаловым наркозом (40 мг этиминала-Na/кг массы). Отмытые от крови органы извлекали, замораживали в жидком азоте и растирали в порошок, который использовали для приготовления 10% гомогената в 60% растворе трихлоруксусной кислоты (ТХУ). Гомогенат экстрагировали на холоду в течение 30 мин, центрифугировали при 900 g в течение 10 мин. Для получения мочи, животного помещали на 2-4 ч в клетку-пенал, а в пробирки, предназначенные для этой цели, предварительно вносили 0,1 мл 60% раствора ТХУ для подавления уреазной активности мочи. Пробу мочи для определения мочевины разводили в 100 раз, что учитывали при расчёте полученного показателя. Содержание свобод-

ной мочевины в крови, тканях, желчи и моче определяли диацетилмоноксидным методом [11] с использованием набора реактивов фирмы «ЛАХЕМА». В ткани содержание мочевины выражали в ммоль/кг сырой ткани, в биологических жидкостях (кровь, желчь, моча) – в ммоль/л. Для определения активности аргиназы в гепатоцитах (гомогенат и цитозольная фракция), проводилась ретроградная перфузия печени охлаждённым 0,145 M раствором KCl. Цитозольная фракция гепатоцитов выделялась методом дифференциального центрифугирования [12]. Активность аргиназы определяли по количеству отщепляющейся мочевины [13] и выражали в нмоль/мг белка/с. Содержание белка в гомогенате и цитозольной фракции определяли по методу Лоури [14].

Статистический анализ проводился с помощью персонального компьютера с использованием программ «Stastica 5.5» и «Microsoft Exel XP». Результаты обработаны статистически с учётом t-критерия Стьюдента и применением коэффициента Ньюмана–Кейлса для множественных сравнений [15]. Различия в сериях опытов считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Как видно из табл. 1, у здоровых крыс концентрация мочевины в крови *v. hepatica* превышала аналогичный показатель в крови артерии и *v. porta*, соответственно, на 25% и 58%. Поэтому величины hABPm и ПВРm становились отрицательными. Это указывает на инкрецию у здоровых крыс мочевины из печени в кровоток. В желчи холедоха (табл. 1) концентрация мочевины значимо не отличалась от аналогичного показателя в крови *v. porta*, но была значимо ниже, чем в артериальной крови и крови *v. hepatica*, соответственно, на 19% и 35%. Полученные результаты позволяют предположить, что в крови *v. hepatica* здоровых крыс пул мочевины, синтезированный гепатоцитами в цикле Кребса-Хенселяйта преобладает над пулом мочевины, поступившей к печени с артериальной и портальной кровью. При этом основным «поставщиком» мочевины в печень является портальная кровь, на что указывает значимая отрицательная корреляция ($r = -0,84$; $p < 0,05$), выявленная у здоровых крыс, между содержанием мочевины в желчи и стенке двенадцатиперстной кишки (ДПК), где обнаружена активность аргиназы [16]. Между тем, по сравнению с артериальной кровью, содержание мочевины в крови *v. porta* у здоровых крыс было снижено на 21% ($p < 0,05$). В результате АПРm имела положительную величину, указывая на секрецию «артериальной» мочевины в просвет желудочно-кишечного тракта.

Как видно из **табл. 1**, у здоровых животных содержание мочевины в артериальной крови на 23% превышало аналогичный показатель в крови *v. renalis*, делая положительной величину гАВРм. Концентрация мочевины в моче в 10 раз превышала аналогичный показатель в артериальной крови (**табл. 1**). У здоровых крыс выявлена положительная корреляция ($r=0,88$; $p<0,05$) между содержанием мочевины в артериальной крови и почечной ткани и отрицательная корреляция ($r=-0,82$; $p<0,05$) между содержанием мочевины в ткани почек и стенке ДПК. Последнее указывает на определённую связь мочевины выделительной функцией почек и образования мочевины в данном отделе тонкого кишечника. Статистически значимых различий между содержанием мочевины в артериальной крови и крови *v.femoralis* у здоровых животных не обнаружено (**табл. 1**).

Как видно из **табл. 2**, у здоровых крыс отсутствует значимое различие между концентрациями мочевины в ткани лёгких, сердца и исследуемыми долями печени; в стенке толстой кишки её содержание было

значимо ниже аналогичного показателя в стенках желудка и ДПК, соответственно, на 20% и 18%. Содержание мочевины в селезёнке, где обнаружена аргиназа [17], значимо не отличалось от аналогичного показателя исследуемых органов желудочно-кишечного тракта (**табл. 2**), но выявлена положительная корреляция ($r=0,82$; $p<0,05$) между её концентрациями в селезёнке и стенке толстой кишки. Минимальная концентрация мочевины обнаружена в ткани щитовидной железы, максимальная в почечной ткани (**табл. 2**).

Как показали исследования, на 65-е сутки развития хронического CCl_4 -гепатита (конец затравки) активность гАЗ в ЛДП и СДП снижалась, соответственно, на 34% и 37% (**рис. А**), а цАЗ, соответственно, на 37% и 58% (**рис. Б**); концентрация мочевины в ЛДП и СДП снижалась, соответственно, на 41% и 37% (**табл. 2**). Это указывает на торможение образования мочевины в гепатоцитах. Несмотря на это, содержание мочевины в крови *v. hepatica* превышало норму на 50% (**табл. 1**). Как показал анализ полученных результатов, это достигается следующими механизмами

Таблица 1/Table 1

Содержание мочевины (ммоль/л) в биологических жидкостях при хроническом CCl_4 -гепатите ($M \pm m$)
Urea content (mmol/l) in biological fluids in chronic CCl_4 -hepatitis ($M \pm m$)

Объект исследования The object of the study	Норма norm $n=10$	Конец затравки End of seed $n=10$	Сутки после отмены CCl_4 Days after cancellation of CCl_4		
			3-и $n=10$	7-е $n=10$	14-е $n=10$
Arterial blood	3,40 ± 0,12	7,11 ± 0,31*	6,17 ± 0,31*	4,17 ± 0,18**	5,40 ± 0,22**
Blood <i>v. hep.</i>	4,25 ± 0,30	6,38 ± 0,33*	5,63 ± 0,24*	3,81 ± 0,12*	5,31 ± 0,46*
Blood <i>v. porta</i>	2,70 ± 0,11	7,41 ± 0,39*	5,33 ± 0,44**	4,49 ± 0,19**	6,07 ± 0,31**
Blood <i>v. ren.</i>	2,63 ± 0,19	7,86 ± 0,35*	6,42 ± 0,23**	3,94 ± 0,11**	6,05 ± 0,19**
Blood <i>v. fem.</i>	3,51 ± 0,15	6,15 ± 0,21*	7,05 ± 0,19*	4,17 ± 0,18**	5,45 ± 0,22**
Bile	2,78 ± 0,10	5,19 ± 0,29*	4,16 ± 0,26**	3,82 ± 0,25**	3,39 ± 0,51*
Urine	28,6 ± 4,12	48,6 ± 4,38*	56,4 ± 5,4*	46,4 ± 3,18*	40,0 ± 3,15*
fABPm	нд	0,96 ± 0,33	-0,82 ± 0,31	нд (nr)	нд (nr)
hABPm	-0,83 ± 0,11	0,82 ± 0,11	нд (nr)	нд (nr)	нд (nr)
ПВРм	-1,22 ± 0,38	1,5 ± 0,25	нд (nr)	0,68 ± 0,09	1,21 ± 0,27
АПРм	0,74 ± 0,14	нд (nr)	нд (nr)	нд (nr)	-0,90 ± 0,09
гАВРм	0,77 ± 0,08	-0,75 ± 0,11	нд (nr)	нд (nr)	-1,32 ± 0,37

Примечание. * $p<0,05$ значимость различий по сравнению с нормой; ** $p<0,05$ – по сравнению с концом затравки. fABPm, hABP и гАВРм – соответственно бедренная, печёночная и почечная артерио-венозные разницы по мочеине, ПВРм – порто-венозная разница по мочеине, АПРм – артерио-портальная разница по мочеине, нд – различия статистически не значимы, n – число животных по сериям опытов. **Note.** *($p<0,05$) significance of differences compared to the norm; **($p<0,05$) the reliability of differences compared to the end of the seed. fAVDm, hAVD and гAVRm- respectively femoral, hepatic and renal arterio-venous differences in urea, PVDm- porto-venous difference in urea, APDm – arterio-portal difference in urea, nr – differences are not statistically significant, the n – number of animals by series of experiments.

ми. Во-первых, за счёт увеличения поступления к печени «портальной» мочевины, на что указывает увеличение её концентрации в крови *v. porta* на 174%. Во-вторых, за счёт увеличения поступления к печени мочевины с артериальной кровью, где она превышала норму на 118% (табл. 2). В пользу этого говорят положительные корреляции между концентрацией мочевины в крови *v. hepatica* и аналогичным показателем в крови *v. porta* ($r=0,72$; $p<0,05$) и артериальной крови ($r=0,94$; $p<0,05$), обнаруженные на 65-е сут развития CCl_4 -гепатита.

В свою очередь, формирование в конце затравки положительных hABPm и ПВPm (табл. 1), указывает на ретенцию в поражённой печени мочевины, поступающей как с артериальной, так и портальной кровью. Однако, этого оказалось недостаточно для нормализации содержания мочевины в исследуемых долях печени на 65-е сут введения CCl_4 . На наш взгляд здесь несколько причин. Во-первых, нарушения печёночного кровотока [18], что создаёт условия для внутрипечёночного шунтирования крови. Во-вторых, переход мочевины из свободного в связанное с белками и липопротеидами состояние. Данный феномен является одним из механизмов адаптации клетки к действию повреждающего фактора [7]. В-тре-

тых, активацией на 65-е сут развития хронического CCl_4 -гепатита печёночно-кишечной циркуляции мочевины, за счёт сброса части «артериальной» мочевины в желчные капилляры. Не случайно, увеличение на 65-е сут введения CCl_4 концентрация мочевины в желчи на 87% по сравнению с нормой, сопровождалось снижением её на 30% по сравнению с кровью *v. porta* (табл. 1).

Увеличение содержания мочевины в артериальной крови на 65-е сут развития хронического CCl_4 -гепатита служило одной из причин увеличения её концентрации в стенках желудка, ДПК и толстой кишки, соответственно, 65%, 47% и 84% по сравнению с нормой (табл. 2). На это указывает, выявленная в конце затравки, положительная корреляция между концентрацией мочевины в артериальной крови и аналогичным показателем в стенках желудка ($r=0,91$; $p<0,05$) и толстой кишки ($r=0,72$; $p<0,05$). А положительная корреляция между содержанием мочевины в стенке ДПК с аналогичным показателем в стенках желудка ($r=0,94$; $p<0,05$) и толстой кишки ($r=0,79$; $p<0,05$), указывает на синхронность накопления мочевины в тканях этих органов в условиях её повышенного поступления к ним с артериальной кровью. С другой стороны, несоответствие прироста содержания мочевины в стенках

Таблица 2/Table 2

Содержание мочевины (ммоль/кг сырой ткани) в висцеральных органах при хроническом тетрахлорметановом гепатите ($M \pm m$)

Urea content (mmol/kg raw tissue) in visceral organs in chronic tetrachloromethane hepatitis ($M \pm m$)

Объект исследования The object of the study	Норма norm <i>n</i> =10	Конец затравки End of seed <i>n</i> =10	Сутки после отмены CCl_4 Days after cancellation CCl_4		
			3-и <i>n</i> =10	7-е <i>n</i> =10	14-е <i>n</i> =10
Thyroid gland	2,79 ± 0,15	4,01 ± 0,22*	4,65 ± 0,39*	5,40 ± 0,19**	5,46 ± 0,28**
Lungs	2,91 ± 0,20	5,72 ± 0,4*	5,47 ± 0,34*	6,34 ± 0,35*	6,07 ± 0,46*
Heart	3,47 ± 0,1	5,30 ± 0,31*	5,79 ± 0,46*	4,87 ± 0,15*	6,20 ± 0,48*
LLL (ЛДП)	4,83 ± 0,14	2,86 ± 0,14*	3,86 ± 0,21**	3,30 ± 0,18*	3,41 ± 0,19*
MLL (СДП)	4,64 ± 0,16	2,94 ± 0,14*	3,46 ± 0,29*	3,31 ± 0,23*	3,56 ± 0,22*
Stomach	3,7 ± 0,26	5,06 ± 0,23*	5,76 ± 0,34*	4,63 ± 0,18*	6,01 ± 0,43*
Duodenum	3,68 ± 0,19	5,42 ± 0,35*	5,94 ± 0,4*	5,13 ± 0,14*	6,58 ± 0,42*
The colon	3,03 ± 0,20	5,57 ± 0,35*	6,28 ± 0,51*	3,90 ± 0,16*	6,32 ± 0,42*
Spleen	3,31 ± 0,16	3,96 ± 0,23	5,19 ± 0,37**	2,95 ± 0,08	5,93 ± 0,51**
Kidney	14,2 ± 1,01	9,79 ± 0,59*	13,4 ± 0,47*	12,0 ± 0,36*	14,0 ± 1,36*

Примечание. ЛДП-левая доля печени, СДП – средняя доля печени, *($p<0,05$) значимость различий по сравнению с нормой; **($p<0,05$) – по сравнению с концом затравки, *n*- число животных по сериям опытов.

Note. LLL-the left lobe of the liver, MLL- the middle lobe of the liver, * $p<0.05$ the reliability of differences compared with the norm; ($p<0.05$) the reliability of differences compared with the end of the seed, *n* – number of animals by series of experiments.

желудка и толстой кишки по сравнению со стенкой ДПК, в конце затравки, позволяет говорить о последней как «главном» поставщике мочевины в портальный кровоток. Не случайно, на 65-е сут введения CCl_4 выявлена положительная ($r=0,79$; $p<0,05$) корреляция

между содержанием мочевины в стенке ДПК и в крови *v. hepatica*.

Повышение содержания мочевины в артериальной крови на 65-е сут развития хронического CCl_4 -гепатита (табл. 1) не вызывало значимого изменения её

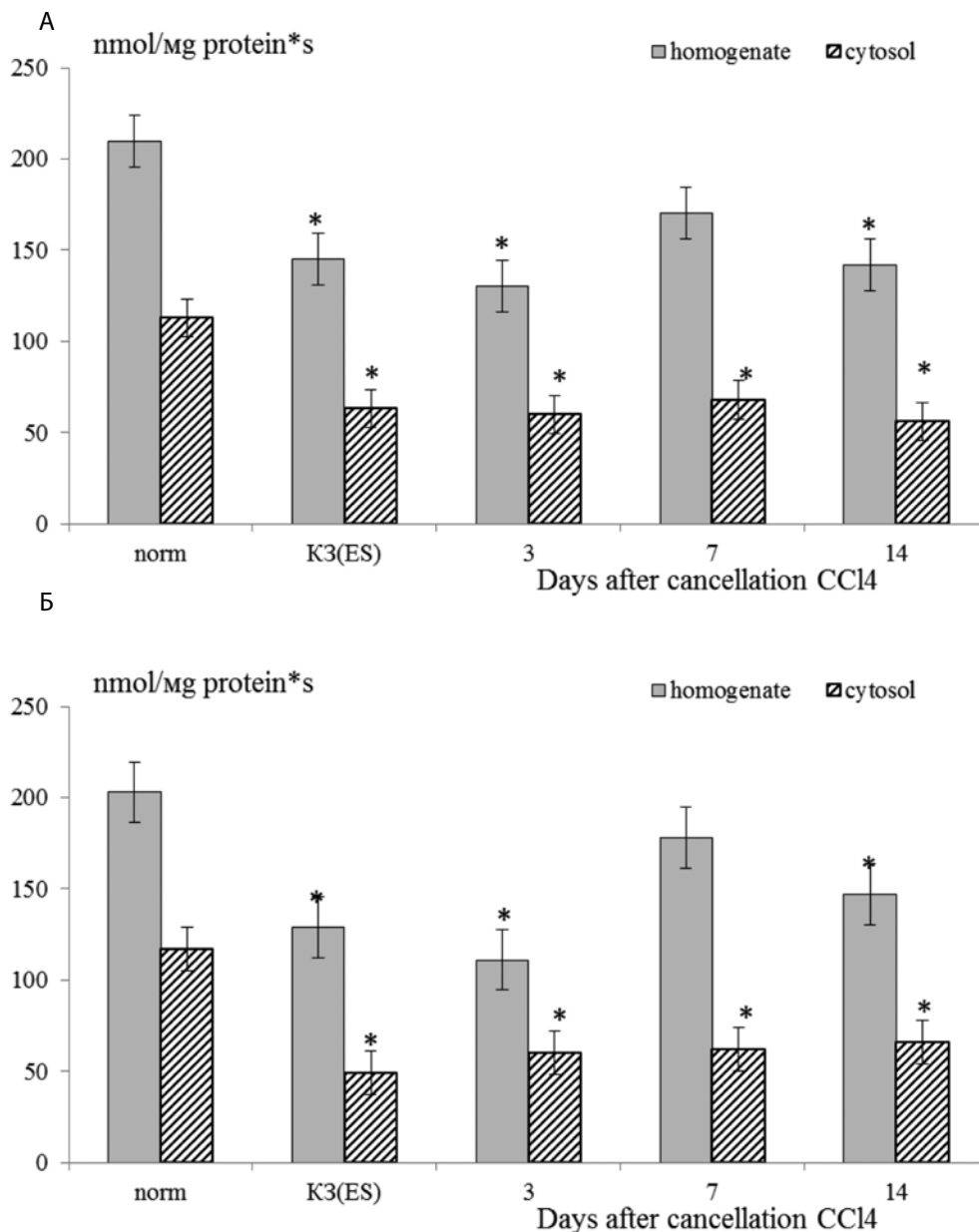


Рисунок. Активность аргиназы в гомогенате (гА3) и цитозольной (цА3) фракции гепатоцитов левой (А) и средней (Б) долей печени крыс при хроническом CCl_4 -гепатите. КЗ-конец затравки, * $p<0,05$ – значимость различий по сравнению с нормой. В скобках число животных по сериям опытов

Figure. Arginase activity in the homogenate (hAS) and cytosolic (cAS) fractions of hepatocytes of the left (A) and middle (B) lobes of the rat liver in chronic CCl_4 hepatitis. ES-end of seed, * $p<0.05$ – the reliability of differences compared to the norm. Number of animals by series of experiments in parentheses.

концентрации в селезёнке (табл. 2). Но при этом обнаружена положительная корреляция содержания мочевины в спленоцитах с аналогичным показателем в крови *v. porta* ($r=0,77$; $p<0,05$) и *v. hepatica* ($r=0,75$; $p<0,05$). Можно предположить, что в конце заправки CCl_4 поглощение спленоцитами мочевины из артериальной крови сопровождается повышенным образованием данного метаболита селезёночными макрофагами с дальнейшей его инкрецией в портальный кровоток. Тем более, установлена стимуляция их аргиназной активности при поражении печени [17]. Нельзя исключить, что данный процесс сопряжён с накоплением мочевины в стенке толстой кишки, на что может указывать положительная корреляция ($r=0,98$; $p<0,05$) между содержанием мочевины в этих органах, выявленная в данный период.

Обнаружение на 65-е сут развития хронического CCl_4 -гепатита положительной корреляции между содержанием мочевины в почечной ткани и аналогичным показателем в крови *v. hepatica* ($r=0,74$; $p<0,05$) и артериальной крови ($r=0,82$; $p<0,05$) сопровождалось снижением на 31% концентрации мочевины в почечной ткани (табл. 2) и увеличением на 198% концентрации мочевины в крови *v. renalis* с формированием отрицательной гАПРм (табл. 1). Причиной этого следует рассматривать гипоперфузию коркового слоя почек в результате вазоконстрикции приносящих артериол, которое имеет место при хроническом поражении печени. В результате происходит «сброс» части непрофильной артериальной крови через внутривенные артерио-венозные шунты в центральный кровоток [20]. В свою очередь, увеличение концентрации мочевины в протекающей через почки крови будет приводить к уменьшению, характерного для нормы, градиента мочевины между первичной мочой и почечным интерстицием. Как следствие, будет снижаться реабсорбция мочевины в почечных канальцах. Это объясняет, обнаруженное нами на 65-е сут развития хронического CCl_4 -гепатита повышение на 70% концентрации мочевины в моче. А появление в этот период положительной корреляции ($r=0,89$; $p<0,05$) между концентрациями мочевины в почках и в ткани желудка указывает на вовлечение последнего в механизмы регуляции кинетики мочевины в организме.

Как видно из табл. 2, на 65-е сут развития хронического CCl_4 -гепатита прирост концентрации мочевины в тканях щитовидной железы и сердца составил, соответственно, 45% и 53%, что было в 2 раза меньше аналогичных изменений в артериальной крови (табл. 1). Такое несоответствие может быть объяснено только переходом «артериальной» мочевины в указанных ор-

ганах в связанное (с белками и липопротеидами) состояние. Что касается лёгких, то к концу заправки прирост содержания мочевины в них составил 97% (табл. 2), тогда как в крови *v. hepatica* и *v. femoralis*, впадающих, как известно, в нижнюю полую вену, доставляющую кровь к лёгким, соответственно, 50% и 75% (табл. 1). Поскольку в лёгких обнаружена аргиназа [16], то можно предположить стимуляцию в этот период исследования образования мочевины лёгочными макрофагами с её дальнейшей инкрецией в кровоток и поступлением «лёгочной» мочевины в том числе и в тироциты. На это указывает положительная корреляция ($r=0,82$; $p<0,05$) между содержанием мочевины в лёгких и щитовидной железе, выявленная на 65-е сут развития CCl_4 -гепатита. В свою очередь, увеличение концентрации мочевины в артериальной крови на 65-е сут детерминировало её увеличение в крови *v. femoralis*, однако появление в этот период наблюдений положительной fABPm (табл. 1) указывает на частичную ретенцию «артериальной» мочевины в мышечной ткани.

Прекращение введения гепатотоксина не привело к нормализации как активности гАЗ и цАЗ в исследуемых долях печени (рисунок), так и содержания в них мочевины (табл. 2) к 14-м сут восстановительного периода. Это свидетельствует о стойком нарушении мочевиносинтетической функции гепатоцитов при хроническом CCl_4 -гепатите. В крови *v. hepatica* содержание мочевины значимо снижалось до нормы по сравнению с концом заправки только на 7-е сут, тогда как на 3-и и 14-е сут после отмены CCl_4 превышали норму, соответственно, на 32% и 25% (табл. 1). Между тем, содержание мочевины в артериальной крови на 3-и, 7-е и 14-е сут после отмены CCl_4 превышало норму, соответственно, на 81%, 23% и 59%, но при этом hABPm из положительной в конце заправки, становилась не значимой, оставаясь таковой в течение 14 сут после отмены CCl_4 (табл. 1). Сохранение на 3-и сут после отмены CCl_4 положительной корреляции ($r=0,81$; $p<0,05$) между содержанием мочевины в артериальной крови и крови *v. hepatica* указывает на значимую роль «артериальной» мочевины в стабилизации содержания мочевины в крови *v. hepatica* в ранние сроки после отмены гепатотоксина при сохранении нарушения мочевиносинтетической функции гепатоцитов. В крови *v. porta* содержание мочевины в указанные выше сроки превосходило норму, соответственно, на 97%, 66% и 124%, при этом ПВРм, не будучи значимой на 3-и сут, снова становилась положительной на 7-е, увеличиваясь на 14-е сут после отмены CCl_4 (табл. 1). Это указывает на усиление к этому сроку ретенции в печени мочевины, поступающей с кровью *v. porta* (табл. 1). Однако,

этого было недостаточно для нормализации содержания данного метаболита в исследуемых долях печени после отмены гепатотоксина (табл.2). Отмена CCl_4 приводила к снижению до нормы к 14-м сут восстановительного периода концентрации мочевины в желчи. Нельзя исключить, что снижение к этому сроку поступления желчи в желчные капилляры направлено на сохранение её повышенного содержания в оттекающей от печени крови на фоне сохранения нарушения мочевиносинтетической функции гепатоцитов.

Как видно из табл. 1, отмена гепатотоксина приводила к формированию на 14-е сут после отмены CCl_4 отрицательной АПРм, которая сопровождалась появлением положительной корреляции между концентрацией мочевины в артериальной крови и крови *v. porta* ($r=0,83$; $p<0,05$). По сравнению с нормой, на 3-и, 7-е и 14-е сут после отмены CCl_4 концентрация мочевины оставалась повышенной в желудке, соответственно, на 56%, 25% и 62%; в ДПК – соответственно, на 61%, 39% 79% (табл. 2). На 3-и и 14-е сут после отмены CCl_4 концентрация мочевины превышала норму в стенке толстой кишки, соответственно, на 107% и 109%; в селезёнке, соответственно, на 56% и 79% (табл. 2). При этом на 7-е сут исследования появлялась положительная корреляция между содержанием мочевины в стенке желудка и аналогичным показателем в артериальной крови ($r=0,87$; $p<0,05$) и крови *v. porta* ($r=0,79$; $p<0,05$). Последняя сохранялась к 14-м сут после отмены CCl_4 ($r=0,85$; $p<0,05$), когда появлялась положительная корреляция между содержанием мочевины в стенке ДПК и стенке желудка ($r=0,79$; $p<0,05$). На 7-е сут после отмены CCl_4 выявлена положительная корреляция между содержанием мочевины в стенке толстой кишки и желчи ($r=0,85$; $p<0,05$). На 14-е сут восстанавливалась характерная для нормы положительная корреляция между содержанием мочевины в стенке толстой кишки и селезёнке ($r=0,81$; $p<0,05$) и появлялась положительная корреляция между содержанием мочевины в артериальной крови и ткани селезёнки ($r=0,78$; $p<0,05$).

Анализ полученных результатов позволяет говорить о том, что после отмены гепатотоксина одним из «поставщиков» мочевины в портальный кровоток является толстый кишечник, вероятно за счёт снижения поступления в его просвет «артериальной» мочевины. При этом сохраняется повышенное образование мочевины в стенке тонкого кишечника, где обнаружен полный набор ферментов орнитинового цикла [19], с инкрецией в портальный кровоток. Неслучайно, после отмены CCl_4 , имеет место несоответствие прироста содержания мочевины в стенке ДПК с ана-

логичными изменения её концентрации в стенках желудка, толстой кишки (табл. 2) и в артериальной крови (табл. 1). Несоответствие прироста содержания мочевины в ткани селезёнки по сравнению с артериальной кровью на 14-е сут после отмены токсина указывает на вовлечение данного органа в насыщение крови воротной вены мочевиной.

Как видно из табл. 2, на 3-и, 7-е и 14-е сут после отмены CCl_4 , содержание мочевины превышало норму в лёгких соответственно, 89%, 119% и 109%; в сердечной мышце, соответственно, на 55%, 40% и 77% (табл. 2). Сопоставление указанных показателей с динамикой прироста содержания мочевины в артериальной крови после отмены токсина (табл. 1) позволяет говорить о сохранении повышенного образования мочевины в лёгких и сердце в течение 14 сут после отмены гепатотоксина. На это, в частности, указывает положительная корреляция ($r=0,85$; $p<0,05$) между содержанием мочевины в лёгочной ткани и артериальной крови, выявленная на 14-е сут восстановительного периода.

Как видно из табл. 2, содержание мочевины в ткани щитовидной железы превышало норму на 3-и, 7-е и 14-е сут после отмены CCl_4 , соответственно, на 67%, 94% и 96%; (табл. 2). При этом сопоставление прироста содержания мочевины в ткани щитовидной железы и артериальной крови, позволяет говорить о накоплении «артериальной» мочевины тироцитами на 7-е и 14-е сут восстановительного периода. В свою очередь, отрицательные корреляции между содержанием мочевины в щитовидной железе с аналогичным показателем в почечной ткани ($r=-0,90$; $p<0,05$) и в крови *v. hepatica* ($r=-0,94$; $p<0,05$), выявленные на 7-е сутки после отмены CCl_4 позволяют говорить о формировании определённой связи накопления мочевины тироцитами в указанный период наблюдений с её поступлением в кровь из печени и почек больных животных.

Прекращение воздействия гепатотоксина на крыс нормализовало концентрацию мочевины в почечной ткани, которая не изменялась к 14-м сут восстановительного периода (табл. 2). Между тем, в крови *v. renalis* она значительно снижалась относительно конца затравки, но оставалась выше нормы на 3-и, 7-е и 14-е сут после отмены CCl_4 , соответственно, на 144%, 50% и 130% (табл. 1). В результате гАВРм на 3-и и 7-е сут была статистически не значимой, а на 14-е сутки после отмены CCl_4 снова становилась отрицательной величиной (табл. 1). При этом на 3-и сут восстанавливалась, характерная для нормы, положительная корреляция между содержанием мочевины в артериальной крови и крови *v. renalis* ($r=0,83$; $p<0,05$), на 7-е сут после отмены

CCl₄ появлялись отрицательная корреляционная зависимость между содержанием мочевины в крови *v.renalis* и в ткани толстой кишки ($r=-0,82$; $p<0,05$), а также положительная корреляция между содержанием мочевины в крови *v. renalis* и *v. hepatica* ($r=0,81$; $p<0,05$), которая сохранялась ($r=0,75$; $p<0,05$) на 14-е сут восстановительного периода. В этот срок выявлена положительная корреляция между содержанием мочевины в почечной ткани и стенке толстой кишки ($r=0,93$; $p<0,05$) и между содержанием мочевины в крови *v.renalis* и желчи ($r=0,90$; $p<0,05$). В моче содержание мочевины, существенно не отличаясь от конца затравки, превышало норму на 3-и, 7-е и 14-е сут после отмены CCl₄ соответственно, на 97%, 62% и 40% (табл. 1). Сопоставление полученных результатов показывает, что прекращение ведения CCl₄, приводит к постепенному снижению повышенной экскреции мочевины с мочой. Однако полной нормализации не происходит. Во-первых, из-за повышенного поступления мочевины с артериальной кровью (табл. 1). Во-вторых, увеличения секреции в почечные каналцы мочевины, образованной в их клетках при участии почечной аргиназы [16]. На это указывает несоответствие динамики прироста содержания мочевины в протекающей через почки крови, её содержанию в почечной ткани и моче. При этом следует признать и сохранение к 14-м сут восстановительного периода внутривисцерального шунтирования артериальной крови, наблюдаемого при хронических гепатитах [20], что создает условия для формирования отрицательной fABP на 14-е сут после отмены CCl₄.

Как видно из табл. 1, на 3-и, 7-е и 14-е сут после отмены CCl₄ концентрация мочевины крови *v.femoralis* превышала норму, соответственно, на 97%, 20% и 55%. При этом на 3-и сут после отмены CCl₄ ретенция «артериальной» мочевины в мышечной ткани, обнаруженная в конце затравки, сменялась повышенной инкрецией мочевины из неё обратно в кровоток, что приводило к формированию отрицательной fABPm (табл. 1). К 7-м сут восстановительного периода данный процесс прекращался и fABPm становилась недостоверной, как в норме (табл. 1).

Таким образом, стойкое нарушение образования мочевины в гепатоцитах при хроническом воспалительном поражении печени не приводит к развитию дефицита мочевины в крови. Наоборот её концентрация возрастает и сохраняется повышенной на протяжении 14 сут восстановительного периода. В основе данного биологического феномена лежит активация внепечёночных механизмов, направленных на компенсацию нарушения образования мочевины в гепатоцитах. Условно их можно разделить на «портальные»,

«лёгочные», «почечные» и «висцеральные». Портальные механизмы компенсации связаны с увеличением содержания мочевины в крови воротной вены, которое достигается избирательным снижением секреции «артериальной» мочевины в просвет органов желудочно-кишечного тракта, увеличением образования мочевины в стенке тонкого кишечника с дальнейшей инкрецией в порталный кровоток, а также активацией печёчно-кишечного кругооборота мочевины. Лёгочные механизмы компенсации заключаются в активации образования мочевины в лёгочной ткани с дальнейшей её инкрецией в оттекающую от лёгких кровь. Почечные механизмы компенсации характеризуются увеличением содержания мочевины в оттекающей от почек крови, которое может достигаться как увеличением реабсорбции мочевины в почках, так и инкрецией в кровоток мочевины, образованной клетками почечных канальцев. При этом повышенное выделение мочевины с мочой сохраняется. Висцеральные механизмы компенсации обусловлены избирательными изменениями проницаемости для мочевины гистогематического барьера органов и тканей. При этом возможны как ретенционная задержка мочевины в ткани, так и изменение её диффузии в клетки из крови, равно как переход из свободного в связанное состояние и наоборот.

Стремление организма предотвратить снижение концентрации мочевины в крови при нарушении мочевиносинтетической функции печени, вызванной длительным действием CCl₄, указывает на важную роль мочевины в саногенных реакциях, которые запускаются в организме при хроническом CCl₄-гепатите.

Литература

(п.п. 5; 11; 12; 14 см. References)

1. Савилов П.Н. Образование мочевины в оперированной печени *Биомедицинская химия* 2016; 62(1): 79-81.
2. Савилов П.Н., Метаболизм азота при резекции печени и гипербарической оксигенации (экспериментальное исследование). *Общая реаниматология*. 2007; 3(1): 37-41.
3. Савилов П.Н., Молчанов Д.В. Влияние гипербарической оксигенации на кругооборот мочевины в организме при частичной гепатэктомии в эксперименте. *Общая реаниматология*. 2018; 14(4): 52-63.
4. Кричевская А.А., Лукаш А.И., Внуков В.В., Дудкин С.И. Железосодержащие белки плазмы крови и протеолитическая активность в сыворотки крови при гипербарической оксигенации и защитном действии мочевины. *Биологические науки*. 1986; 9: 30-6.
5. Кудряшев Б.А., Ляпин Л.А. Комплекс гепарин-мочевина и его физико-химические свойства. *Вопросы медицинской химии*. 1975; 21(2): 165-8.

7. Гершенович З.С., Кричевская А.А., Лукаш А.И. *Мочевина в живых организмах*. Ростов н/Д; Изд-во РГУ, 1970.
8. Мышкин В.А., Еникеев Д.А. Габдрахманова Г.Д., Срубиллин Д.В., Гимадиева А.Р., Репина Э.Ф. Влияние комплексных соединений метилпроизводных 5-гидроксипуридина с янтарной кислотой на антиоксидантную систему и морфофункциональное состояние печени белых крыс при воздействии тетрахлорметана. *Патогенез*. 2017; 15(2): 52-6.
9. Саркисов Д.С., Рубецкой Л.С. *Пути восстановления цирротически изменённой печени*. М.; Медицина, 1965.
10. Савилов П.Н., Кузьмина Н.И., Дьячкова С.Я. Материалы по изучению антимикробной функции печени здорового организма. *Вестник ВГУ. Проблемы химии, биологии*. 2002; 1: 41-3.
13. Трапезникова С.С., Навасардянк А.Г., Давтян М.А. Множественные формы аргиназы печени крысы. *Биохимия*. 1982; 47(12): 2022 -7.
15. Гланц С.А. *Медико-биологическая статистика* (пер. с англ). М.; Практика, 1999.
16. Мансурова И.Д., Калетина Л.Г. Энзимограмма сыворотки крови и распределение ферментов в структурах гепатоцита. В кн. *Успехи гепатологии*. Ред. Е.М. Тареев, А.Ф. Блюгер. Рига; 1971; 3: 80-90.
17. Чернышёва М.Д., Малыгин А.М., Фель В.Я. Индукция аргиназной активности в спленоцитах мышей СЗНА после частичной гепатэктомии. *Цитология* 1985; 27(2): 209-12.
18. Савилов П.Н. Кровоток и напряжение кислорода в печени при различных способах её повреждения и гипероксии. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия* 2020; 64(2): 54-62.
19. Косенко Е.А., Каминский Ю.Г. Клеточные механизмы токсичности аммиака М.: Издательство ЛКИ, 2008
20. Молчанов Д.В. *Почки при гипероксии*. М.: БИНОМ, 2015.
5. Yancey P.H., Somero G.H. Methylamine osmoregulatory solutes of elas-mofranch fishes counteract urea inhibition of enzymes *J. Experimental Zoology*. 1980; 213(2): 205- 13.
6. Kudryashev B.A., Lyapin L.A. Heparin-urea complex and its physico-chemical properties. *Voprosy meditsinskoj khimii*. 1975; 21(2): 165-8. (in Russian)
7. Gershenovich Z.S., Krichevskaya A.A., Lukash A.I. *Urea in living organisms [Mochevina v zhivyykh organizmakh]*. Rostov-na-Donu; Publishing House RSU, 1970. (in Russian)
8. Myshkin V.A., Enikeev D.A. Gabdrakhmanova G.D., Srubilin D.V., Gimadiev A.R., Repina E.F. The effect of complex compounds of methyl derivatives of 5-hydroxyuracil with succinic acid on the antioxidant system and morphofunctional state of the liver of white rats exposed to tetrachloromethane. *Patogenez*. 2017; 15(2): 52-6. (in Russian)
9. Sarkisov D. S., Rubecokoy L.S. *Ways to restore cirrhotic altered liver [Puti vosstanovleniya tsirroticheski izmenyonnoy pecheni]*. Moscow; Meditsina, 1965. (in Russian)
10. Savilov P.N., Kuzmina N.I., Dyachkova S.Ya. Materials on the study of antimicrobial liver function of a healthy organism *Vestnik Voronezskogo gosudarstvennogo universiteta. Problemy khimii, biologii*. 2002; 1: 41-3. (in Russian)
11. Richterrich D. *Clinical. Chemistry*. N.Y.: Academia Press, 1962.
12. Jonson D., Lardy. I. Method in Enzimology N.Y. 1967; 10: 94 -102.
13. Trapeznikova S. S., Navasardiyants A. G., Davtyan M. A. The Multiple forms of arginase of rat liver. *Biokhimiya* 1982; 47(12): 2022–7. (in Russian)
14. Hartree E.F. Determination of protein a modification of the Lorry method that gives a linear photometric responds. *Anal. Biochemistry*. 1972; 43(2): 422-7.
15. Glantz St. A. Primer of Biostatistics N.Y.: McGraw-Hill Inc, 1994.
16. Mansurova I. D., Kaletina L. G Anisogramma serum and the distribution of enzymes in the structures of the hepatocytes. *The Success of Hepatology [Uspekhi gepatologii]*. (ed E.M., Tareev, A.F. Blyuger). Riga, 1971; 3: 80-90. (in Russian)
17. Chernysheva M.D., Malygin A.M., Fel V.Ya. Induction of arginase activity in splenocytes of c3na mice after partial hepatectomy. *Tsitologiya*. 1985; 27(2): 209-12. (in Russian)
18. Savilov P.N. Blood flow and oxygen tension in the liver with various methods of its damage and hyperoxia. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya*. 2020; 64(2): 54-62. (in Russian)
19. Kosenko E.A., Kaminsky Yu.G. *Cellular mechanisms of ammonia toxicity [Kletochnye mekhanizmy toksichnosti ammiaka]*. Moscow; LKI Publishing house, 2007. (in Russian)
20. Molchanov D.V. *Kidneys in hyperoxia [Pochki pri giperoksii]*. Moscow; BINOM, 2015. (in Russian)

References

1. Savilov P.N. Urea formation by postoperative Liver. *Biomeditsinskaya Khimiya*. 2016; 62(1): 79-81. (in Russian)
2. Savilov P.N. Nitrogen metabolism in liver resection and hyperbaric oxygenation (experimental study). *Obshchaya reanimatologiya*. 2007; 3(1): 37-41. (in Russian)
3. Savilov P.N., Molchanov D.V. The effect of hyperbaric oxygenation on the urea circulation in the body during partial hepatectomy in the experiment. *Obshchaya reanimatologiya*. 2018; 14(4): 52-63. (in Russian)
4. Krichevskaya. A.A., Lukash. A.I., Vnukov V.V., Dudkin S. And Iron-containing plasma proteins and proteolytic activity in blood serum with hyperbaric oxygenation and the protective effect of urea. *Biologicheskije nauki*. 1986; 9: 30-6. (in Russian)

Сведения об авторе:

Савилов Павел Николаевич, доктор мед. наук, проф., врач анестезиолог-реаниматолог ТОГБУЗ «Тамбовская ЦРБ».