

МЕТАБОЛИЗМ АЗОТА ПРИ РЕЗЕКЦИИ ПЕЧЕНИ И ГИПЕРБАРИЧЕСКОЙ ОКСИГЕНАЦИИ (экспериментальное исследование)

П. Н. Савилов

Воронежская государственная медицинская академия им. Н. Н. Бурденко, Воронеж

Nitrogen Metabolism During Hepatectomy and Hyperbaric Oxygenation: Experimental Study

P. N. Savilov

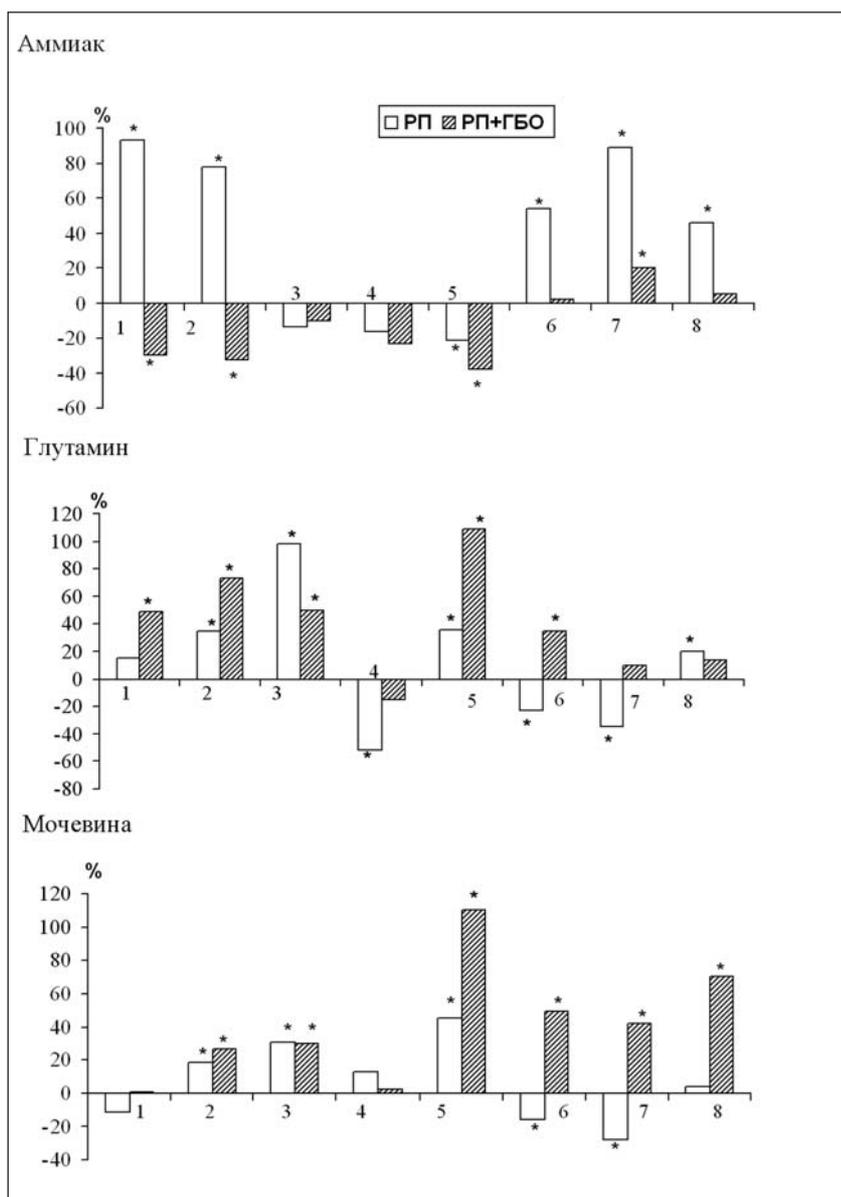
N. N. Burdenko Voronezh State Medical Academy, Voronezh

Цель. Исследование состояния азотистого метаболизма в органах портальной системы при резекции печени (РП) и гипербарической оксигенации (ГБО). **Материал и методы.** Опыты проведены на 65 белых крысах самках. РП осуществляли под эфирным наркозом, удаляя электроножом части левой доли печени, что составляло 15–20% массы органа. ГБО проводили медицинским кислородом в первые трое суток после РП в режиме 3 ата, 50 мин, 1 сеанс в сутки. Объектом исследования служили ткань печени, органы желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), селезёнка, желчь холедоха. В тканях и крови определяли содержание аммиака, глутамина, мочевины. **Результаты.** Резекция печени приводит к патологическому накоплению аммиака и снижению потребления «артериального» глутамина в органах ЖКТ. Одновременно начинается поступление из них мочевины в порталный кровоток, развивается глутаминовый дефицит в селезёнке, снижается аммиакопоглощительная, глутамино- и мочевиновыделительная функции печени. Применение ГБО после РП предотвращает накопление аммиака в печени и органах ЖКТ, восстанавливает аммиакопоглощительную, глутамино- и мочевиновыделительную функции печени, стимулирует накопление в ней глутамина и мочевины. Одновременно в условиях ГБО усиливается поступление глутамина из органов ЖКТ в кровоток, но снижается выделение из них мочевины и содержание аммиака в крови воротной вены. ГБО устраняет формирование после РП артериальной гипераммониемии и глутаминовый дефицит в селезёнке. **Заключение.** Гипербарический кислород устраняет нарушения азотистого метаболизма в органах портальной системы, регулирует компенсаторно-приспособительные реакции метаболизма аммиака, запускаемые в органах ЖКТ и селезёнке при резекции печени. **Ключевые слова:** аммиак, обезвреживание, гипероксия, резекция печени, кровь, порталная система.

Objective: to examine nitrogen metabolism in the organs of the portal system during liver resection (LR) and hyperbaric oxygenation (HBO). **Material and methods:** Experiments were conducted on 65 female albino rats. LR was made under ether anesthesia, by removing a portion of the left hepatic lobe with an electric knife, which amounted to 15–20% of the organ's mass. HBO was performed using medical oxygen at 3 ata for 50 min once daily within the first three days after LR. Lung tissue, gastrointestinal tract (GIT), spleen, and choledochal bile were the subject of the study. The tissue and blood levels of ammonia, glutamine, and urea were measured. **Results:** LR leads to pathological ammonia accumulation and decreases arterial glutamine consumption in GIT organs. Concurrently, the urea contained in the organs begins to come into portal blood flow, splenic glutamine deficiency develops, and hepatic ammonia-absorptive, glutamine- and urea-excretory functions diminish. Post-LR HBO prevents the accumulation of ammonia in the liver and GIT, restores the ammonia-absorptive, glutamine- and urea-excretory functions of the liver, and stimulates its glutamine and urea accumulation. Concomitantly, under HBO, there is an increase in glutamine entrance from the GIT into blood flow, but there is a decrease in GIT urea excretion and portal venous blood ammonia levels. HBO eliminates arterial hyperammonemia after LR and splenic glutamine deficiency. **Conclusion:** Hyperbaric oxygen eliminates nitrogen metabolic disturbances in the portal system, regulates compensatory-adaptive ammonia metabolic reactions triggered in the GIT and spleen during LR. **Key words:** ammonia, detoxification, hyperoxia, hepatectomy, blood, portal system.

Известно, что одним из ведущих звеньев в патогенезе печёночной недостаточности при гепатитах и циррозе печени является формирование синдрома эндогенной аммиачной интоксикации [1]. В основе его развития лежит как поступление несвязанного аммиака из органов желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) в центральный кровоток через porto-кавальные анастомозы, минуя печень,

так и нарушение основных путей его связывания в гепатоцитах: образование глутамина и синтез мочевины [2]. Установлено развитие печёночной недостаточности и после резекции печени [3]. Однако, механизмы её формирования в оперированном организме в настоящее время остаются спорными, как и разработка эффективных методов её профилактики и лечения.



Изменение содержания аммиака, глутамина и мочевины в органах портальной системы и крови после резекции печени и гипербарической оксигенации.

По оси абсцисс — исследуемые показатели; по оси ординат — изменения показателей в %. 1 — желудок; 2 — двенадцатиперстная кишка; 3 — толстая кишка; 4 — селезёнка; 5 — кровь воротной вены; 6 — печень; 7 — кровь печёночных вен; 8 — артериальная кровь. * — достоверность различий ($p < 0,05$) по отношению к контролю (норма).

Целью работы явилось исследование состояния азотистого метаболизма в органах портальной системы при резекции печени (РП), а также влияние на него гипербарической оксигенации (ГБО).

Материалы и методы

Опыты проведены на 65 белых половозрелых крысах массой 170–229 г. Животные находились в виварии при искусственном освещении. РП осуществляли под эфирным наркозом путём удаления электроножом части левой доли печени, что составляло 15–20% массы органа. Данный объём резекции позволяет сохранить междольковый синус, который можно использовать для получения крови печёночных вен левой и средней доли печени крыс по разработанной ранее методике [4]. ГБО проводили медицинским кислородом в первые

трое суток после РП в режиме 3 ата, 50 мин. Первый сеанс начинали через 4–8, второй и третий, соответственно, через 24 и 48 часов после операции. Забой животных осуществляли на фоне этиминалового наркоза (40 мг этиминала-Na / кг массы). За 6 часов до забоя животных отлучали от пищи без ограничения приёма жидкости. После получения необходимого количества крови из аорты, портальной вены и междолькового печёночного синуса осуществляли перфузию внутренних органов охлаждённым раствором KCl (0,145 M), отмывая от крови. После чего их извлекали, помещали в жидкий азот и растирали до мелкого порошка, который использовали для приготовления 10% гомогената ткани в ледяном 10% растворе HClO_4 (для печени) и в 30% ТХУ для тканей желудка, двенадцатиперстной кишки (ДПК), толстой кишки и селезёнки. Исследуемые органы пищеварительного тракта крыс перед замораживанием промывали в охлаждённом физиологическом растворе, освобождая от химуса.

Объектом исследования служили ткань печени, желудка, двенадцатиперстной кишки (ДПК), толстой кишки (ТК), селезёнки, желчь холедоха, артериальная кровь (АК), кровь воротной вены (КВВ) и печёночных вен (КПВ). В тканях определяли содержание аммиака микродиффузионным методом [5], глутамина — методом кислотного гидролиза [6] в модификации [5], мочевины [7]. В крови определяли содержание аммиака фенилгипохлоридным методом [8], глутамина [6,8], мочевины [7]. Определяли артерио-венозную (АВР), порто-венозную (ПВР) и артерио-портальную (АПР) разницу по аммиаку, глутамину и мочевины. Поскольку лапаротомия не вызывала достоверных изменений содержания азотистых метаболитов в тканях и биологических жидкостях, в качестве контроля использовали интактных животных (норма). Исходя из этого, животные были разделены на 3 серии опытов: 1 серия — интактные животные (норма), 2 серия — неоксигенированные животные, исследованные на 3-и сутки после РП, 3 серия — оксигенированные животные, исследованные на 3-и сутки после РП и ГБО. Результаты обработаны статистически с использованием параметрического критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Как видно из рисунка, на 3-и сутки после РП отмечено снижение, по сравнению, с нормой на 28% концентрации аммиака в КВВ, которое сопровождалось увеличением его концентрации в стенке желудка и ДПК, соответственно, на 93% и 78%. В тканях ТК и селезёнки она достоверно не изменялась. В оставшейся после резекции части

печени и КПВ увеличение содержания аммиака составило, соответственно, 49% и 82%, что сопровождалось увеличением его концентрации в артериальной крови на 42%. Следовательно, снижение после РП содержания аммиака в КВВ не предотвращает его накопления в оперированной печени и увеличения его содержания в оттекающей от неё крови. Одновременно избирательно увеличивается концентрация аммиака в исследуемых органах портальной системы на фоне развития послеоперационной артериальной гипергаммониемии. Применение ГБО после РП усиливало ингибирующее влияние операции на содержание аммиака в КВВ, которое становилось на 38% ниже нормы. В отличие от неоксигенированных животных с РП это не сопровождалось накоплением аммиака в тканях желудка и ДПК. Наоборот, его концентрация в них становилась достоверно ниже нормы, а содержание аммиака в ткани ТК и селезёнки сохранялось в её пределах. ГБО нормализовала содержания аммиака в оперированной печени и артериальной крови. В КВВ оно превышало норму только на 19%. Следовательно, в условиях гипероксии предотвращается избирательное накопление аммиака тканью желудка, ДПК, оперированной печени, продолжается снижение его концентрации в портальном кровотоке и ограничивается его выделение из оперированной печени в кровь, содействуя нормализации содержания аммиака в АК.

В отличие от аммиака (см. рисунок), на 3-и сутки после РП отмечено увеличение содержания глутамина в КВВ на 36% и его накопление в тканях ДПК и ТК. В тканях селезёнки и печени концентрация глутамина становилась ниже нормы, соответственно, на 52% и 22%. В КПВ содержание глутамина, по сравнению с нормой, снижалась на 36%, тогда как в АК повышалась на 20%. Следовательно, на 3-и сутки после РП развивается послеоперационная артериальная гиперглутаминемия, несмотря на снижение поступления глутамина из оперированной печени в кровь. Увеличение в этот период содержания глутамина в КВВ не предотвращает уменьшения его концентрации в оперированной печени, но сопровождается избирательным накоплением глутамина тканями ДПК и ТК при развитии глутаминового дефицита в спленоцитах. Сочетание РП с ГБО приводило к увеличению содержания глутамина в КВВ на 109% по сравнению с нормой. В тканях желудка, ДПК, ТК увеличение его концентрации составило, соответственно, 49, 76 и 44%. При этом ГБО предотвращала, вызываемое РП, снижение содержания глутамина в ткани селезёнки, печени и КПВ, не влияя на его концентрацию в артериальной крови. Следовательно, увеличивая степень послеоперационной портальной гиперглутаминемии, ГБО усиливает стимулирующее влияние РП на содержание глутамина тканя-

ми желудка и ДПК, но при этом ограничивает данный процесс в ткани ТК, одновременно устраняя дефицит глутамина в ткани селезёнки. Стимулируя накопление глутамина гепатоцитами оперированной печени, ГБО одновременно нормализует его содержание в оттекающей от неё крови, при этом степень послеоперационной артериальной гиперглутаминемии не изменяется.

На 3-и сутки после РП увеличивалось содержание мочевины в КВВ, ДПК и ТК, соответственно, на 45, 32 и 38%. В печени и КПВ она составляла, соответственно, 80 и 64% от нормы, а в артериальной крови не отличалась от неё (см. рисунок). Следовательно, увеличение содержания мочевины в КВВ при РП не компенсирует снижения её концентрации в оперированной печени и оттекающей от неё крови. Снижение содержания мочевины в КПВ не влияет на её концентрацию в артериальной крови. Применение ГБО после РП увеличивало концентрацию мочевины в КВВ на 111%, не оказывая существенного влияния на её содержание в тканях ЖКТ и селезёнки. Вместе с тем, в оперированной печени, КПВ и АК, отмечено увеличение содержания мочевины, соответственно, на 49, 42 и 70% (см. рисунок). Следовательно, в условиях гипероксии стимулируется накопление мочевины гепатоцитами и увеличение её концентрации в КПВ и АК. Изменения содержания мочевины в тканях ДПК и ТК, вызываемые РП, сохраняются при действии ГБО.

Анализ АВР, ПВР и АПР по аммиаку, глутамину и мочеvine, представленных в таблице, показывает, что в здоровом организме млекопитающих существует сопряжённая работа печени и органов ЖКТ по регуляции содержания в крови азотистых метаболитов. Органы ЖКТ, потребляя из артериальной крови глутамин и мочеvinу, являющихся, соответственно, обратимой и необратимой формами связывания аммиака [2], выделяют в кровоток свободный аммиак, формируя физиологическую портальную гипергаммониемию. В свою очередь, печень, поглощая аммиак из крови, обогащает её глутамином и мочевиной, которые затем поступают либо в почки, либо в органы ЖКТ.

Резекция печени, угнетая образование глутамина и синтез мочевины в гепатоцитах [9], снижает содержание этих метаболитов в органе, увеличивая концентрацию в нём аммиака (см. рисунок). Этому содействует и нарушение аммиакопоглотительной функции оперированной печени, на что указывает снижение ПВР по аммиаку на 3-и сутки после РП. Выявленная при этом отрицательная АПР по аммиаку указывает на его активное выделение из оперированной печени в кровь. Это содействует формированию послеоперационной артериальной гипергаммониемии. Известно, что увеличение концентрации аммиака в крови явля-

Артерио-венозная, порто-венозная, артерио-портальная разница по аммиаку, глутамину и мочеvine при резекции печени и гипербарической оксигенации ($M \pm m$)

Показатели	Метаболиты	Норма (n=10)	Резекция печени (n=9)	Резекция печени + ГБО (n=9)
АВР, ммоль /л	аммиак	0,018±0,003	-0,028±0,003	н. д.
	глутамин	-0,132±0,015	0,290±0,035	-0,143±0,04
	мочевина	-0,83±0,11	н. д.	-0,43±0,07*
ПВР, ммоль /л	аммиак	0,253±0,014	0,114±0,012*	0,131±0,02
	глутамин	-0,245±0,052	0,173±0,04	0,244±0,034
	мочевина	-1,22±0,38	0,92±0,13	н. д.
АПР, ммоль /л	аммиак	-0,249±0,01	-0,124±0,01*	-0,101±0,014*
	глутамин	0,170±0,018	0,115±0,013*	-0,309±0,07*
	мочевина	0,74±0,14	-0,142±0,12	н. д.

Примечание. н. д. — недостоверная разница; * — достоверность различий ($p < 0,05$) по сравнению с нормой; n — число животных по сериям опытов.

ется одним из симптомов эндогенной аммиачной интоксикации [10]. Вместе с тем, снижение поступления из оперированной печени в кровотоки глутамин и мочеvина, не приводит к аналогичным изменениям в АК. Наоборот, имеет место развитие артериальной гиперглутаминемии при нормальном содержании мочеvины в АК. Следовательно, после РП активируются «внепечёночные» механизмы, направленные на компенсацию нарушений глутамино- и мочеvиновыделительной функций оперированной печени. Кроме того, формирование положительной ПВР по глутамину и мочеvине на 3-и сутки после РП (см. таблицу) указывает на их активное потребление оперированной печенью. Можно думать об увеличении потребности гепатоцитов в указанных веществах после РП. Глутамин не только является транспортной формой аммиака, но и глутамата, чрезвычайно необходимого для клеток регенерирующей ткани [11], тогда как мочеvина выступает в роли эндогенного антиоксиданта [12].

Обнаруженное снижение АПР по аммиаку после РП (см. таблицу) на фоне его избирательного накопления органами ЖКТ (см. рисунок) указывает на частичную ретенцию данного метаболита в тканях пищеварительного тракта. Это означает снижение аммиачной нагрузки на оперированную печень. Накапливая аммиак в ответ на РП, органы ЖКТ одновременно начинают активно выделять в кровотоки мочеvину, на что указывает формирование отрицательной АПР по мочеvине (см. таблицу). Наблюдаемое при этом избирательное увеличение концентрации мочеvины в ткани ДПК и ТК, позволяет думать об усилении её образования в них. Тем более, что степень аргиназной активности ткани кишечника находится на втором месте после таковой у гепатоцитов [13]. Не исключается и усиление на 3-и сутки после РП реабсорбции мочеvины в кровь из толстого кишечника. Однако, увеличение поступления мочеvины к оперированной печени с кровью не предотвращает снижения её концентрации в ткани данного органа, вероятно, за счёт сброса её в желчь или перехода из свободного в связанное с белками и липопротеидами состояние.

Развитие после РП артериальной гиперглутаминемии является одной из причин увеличения содержания глутамин в крови воротной вены. Другой причиной следует рассматривать снижение потребления «артериального» глутамин тканями ЖКТ, на что указывает снижение АПР по глутамину и увеличение его концентрации в тканях ДПК и ТК. Не исключается и активное поступление глутамин в портальную кровь из селезёнки, чем можно объяснить снижение его концентрации в спленocyтах на фоне артериальной гиперглутаминемии.

Применение после РП трёхдневного курса ГБО предотвращает накопление аммиака в оперированном органе и ограничивает его поступление из него в кровотоки благодаря способности гипербарического кислорода стимулировать образование глутамин в гепатоцитах [9]. Последнее содействует нормализации АПР по глутамину (см. таблицу), указывая на восстановление в гипероксических условиях глутаминовыделительной функции печени, нарушенной при её резекции. Вместе с тем, формирование у оксигенированных животных положительной ПВР по глутамину позволяет говорить об активном потреблении «портального» глутамин гепатоцитами оперированной печени в условиях гипероксии. С учётом активации ГБО активности в них фосфатзависимой глутаминазы и аргиназы [9], на фоне увеличения концентрации мочеvины в самом органе и оттекающей от него крови, можно справедливо полагать об усилении гипербарическим кислородом глутаминозависимого пути синтеза мочеvины в гепатоцитах. Это содействует восстановлению мочеvиновыделительной функции печени, нарушенной при её резекции. Между тем анализ АПР и ПВР по мочеvине у оксигенированных животных свидетельствует об усилении у них частичной ретенции в печени мочеvины, поступающей с портальной кровью, что приводит к увеличению антиоксидантного потенциала гепатоцитов. Восстановление гипербарическим кислородом основных путей связывания аммиака в печени, нарушаемых при её резекции, содействует нормализации его

содержания в артериальной крови, т. е. ликвидации послеоперационной артериальной гипераммониемии. Это является одной из причин продолжающегося в гипероксических условиях снижения содержания аммиака в крови воротной вены, запускаемого РП. Вместе с тем анализ АПР по аммиаку (см. таблицу) позволяет говорить и об усилении в условиях ГБО частичной ретенции аммиака в органах ЖКТ, которое не приводит к патологическому накоплению аммиака в их тканях. Одним из механизмов этого явления следует рассматривать активацию гипербарическим кислородом образования глутамина в тканях ЖКТ и селезёнки на фоне активного его поступления из них в кровь воротной вены. Это хорошо видно при сопоставлении величины АПР по глутамину с динамикой изменения его концентрации в исследуемых органах. Обращает внимание различная чувствительность реакций метаболизма глутамина в тканях исследуемых органов оперированных животных к действию ГБО. В частности, гипербарический кислород (см. рисунок), увеличивая содержание глутамина в ткани желудка и усиливая стимулирующее влияние РП на его накопление тканью ДПК, ограничивает аналогичное влияние операции на содержание глутамина в ткани ТК. Следует отметить и способность ГБО устранять формирование глутаминового дефицита в спленоцитах, вызываемого РП. Учитывая тот факт, что глутамин играет важную роль в жизнедеятельности оперированного организма [14], выявленные изменения его метаболизма у животных с РП и ГБО указывают на увеличение саногенетического потенциала последних в постгипероксическом периоде.

Как следует из анализа полученных результатов (см. рисунок и таблицу), увеличение содержания мочевины в артериальной крови животных с РП и ГБО ограничивает её поступление в кровоток из органов ЖКТ, наблюдаемое после повреждения печени, которое не влияет на степень прироста содержания метаболита в

портальной крови. Это указывает на важную роль мочевины, прежде всего как антиоксиданта, для гепатоцитов регенерирующей печени в условиях ГБО. Как видно из анализа содержания мочевины (см. рисунок), в условиях гипероксии не происходит изменений в метаболических реакциях, детерминирующих увеличение её концентрации в тканях ДПК и ТК при РП, как и отсутствие аналогичных изменений в тканях желудка и селезёнки, несмотря на увеличение её концентрации в артериальной крови. Из этого можно сделать два вывода.

Во-первых, образование мочевины в тканях ДПК и ТК у животных с РП рефрактерно к действию исследуемых режимов ГБО.

Во-вторых, у животных с РП при адаптации к ГБО избирательно меняется проницаемость гистогематического барьера органов портальной системы для мочевины.

Заключение

Таким образом, применение ГБО после резекции печени восстанавливает, нарушенную операцией, сопряжённую работу органов портальной системы по регуляции содержания в крови продуктов азотистого метаболизма аммиака, глутамина и мочевины. Устраняя нарушения аммиакопоглотительной, глутамино- и мочевиновыделительной функций оперированной печени, гипербарический кислород одновременно регулирует компенсаторно-приспособительные реакции азотистого метаболизма, активируемые в органах портальной системы при РП. Это приводит к снижению аммиачной нагрузки на оперированный орган и устранению послеоперационной артериальной гипераммониемии. Одновременно создаются условия для увеличения саногенетического потенциала оперированного организма в постгипероксическом периоде (накопление глутамина и мочевины, снижение концентрации аммиака в тканях и крови).

Литература

1. Шувалова Е. А., Рахманова А. Г. Печёночная недостаточность при вирусном гепатите. М.: Медицина; 1986.
2. Häussinger D. Zonierung der hepatischen Ammoniak- und Glutaminschstoffwechsels und Bedeutung der intracellularen Glutaminzyklus bei der Ammoniumionentgiftung. *Krankenhausarzt* 1984; 24 (3): 202–208.
3. Веронский Г. И. Анатомо-физиологические аспекты резекции печени. Новосибирск; 1983.
4. Савилов П. Н. Фагоцитозрегулирующая функция печени при частичной гепатэктомии и гипербарической оксигенации. *Бюл. гипербар. биологии и медицины* 2003; 11 (1–4): 74–87.
5. Силакова А. И., Трубин Г. П., Явликowa А. И. Микрометод определения аммиака и глутамина в тканевых трихлоруксусных экстрактах. *Вопр. мед. химии* 1962; 8 (5): 538–544.
6. Harris M. Studies regenerating a glutamine-like substance in blood and spinal fluid, including a method for its quantitative determination. *J. Clin. Invest.* 1943; 22 (4): 569–576.
7. Richterich D. *Clinical chemistry*. N.Y.: Academia Press; 1962
8. Keller H., Muller-Beisenritz M., Neumann E. Eine Methode zur Ammoniakbestimmung in Capillarblut. *Klin. Wsch.* 1967; 15: 314–319.
9. Савилов П. Н. Гипербарическая кислородная терапия нарушения обезвреживания аммиака в оперированной печени. *Анестезиология и реаниматология* 1996; 5: 64–67.
10. Гаевская М. С. Биохимия мозга при умирании и оживлении организма. М.: Медгиз; 1963.
11. Архангельская А. В. Содержание аммиака, глутаминовой кислоты и глутамина в мозгу кастрированных крыс с экспериментальной опухолью в трансплантированных яйчниках. *Вопр. мед. химии* 1966; 12 (5): 532–534.
12. Кричевская А. А., Лукаш А. И., Внуков В. В., Дудкин С. И. Железосодержащие белки плазмы крови и протеолитическая активность сыворотки крови при гипербарической оксигенации и защитном действии мочевины. *Биол. науки* 1986; 9: 30–36.
13. Мансурова И. Д., Калетина Л. Г. Энзимграмма сыворотки крови и распределение ферментов в структурах гепатоцита. В кн.: Е. Ф. Блюгер (ред). *Успехи гепатологии*; 1971. 80–90.
14. Заадек З. Современное состояние и перспективы применения аминокислотных растворов для парентерального питания. *Вестн. интенс. терапии* 2003; 3: 15–18.

Поступила 23.05.06