

УДК 616-092.9

ПОЧЕЧНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ВЫВЕДЕНИЯ АММИАКА ИЗ ОРГАНИЗМА ПРИ РЕЗЕКЦИИ ПЕЧЕНИ (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

Д. В. Молчанов

ООО «Нейро-клиника»
Юсуповская больница,
Воронежская государственная
медицинская академия им.
Н. Н. Бурденко Минздрава России

В опытах на 98 крысах (самках) исследовали влияние резекции печени (РП, 15–20% от массы органа) на выведение аммиака почками из организма. Исследования проводили на 3, 7 и 14 сутки после РП. Установлено, что торможение секреции аммиака в почечные канальцы и накопление его почечной тканью на 3 сутки после РП сменяется затем увеличением выделения аммония с мочой на фоне снижения степени артериальной гипераммониемии. Формирование артериальной гиперглутаминемии после РП сопровождается увеличением дезамидирования в почках «артериального» глутамина при одновременном увеличении образования в них «почечного» глутамина и его инкрецией в кровь. Стимуляция реабсорбции мочевины в почках в ранние (3 сутки) сроки после РП снижает ее выведение мочой из организма не вызывая накопления в почечной ткани, которое наблюдается в поздние (14 сутки) сроки послеоперационного периода на фоне восстановления экскреции мочевины с мочой и нормализации ее содержания в оттекающей от почек крови.

Ключевые слова: почки, резекция печени, аммиак, глутамин, мочевина.

Исследованиями установлено, что удаление даже небольших объемов печени вызывает нарушение аммиакдестоксикационной функции гепатоцитов [7], что приводит к развитию в послеоперационном периоде эндогенной аммиачной интоксикации [8]. Наряду с печенью, важную роль в элиминации избытка аммиака из организма, играют почки [1]. При этом аммиак выделяется почками из организма, как в виде аммонийных солей, так и в виде мочевины [2]. В свою очередь, в образовании аммонийных солей принимает участие аммиак, профильтровавшийся в почечных клубочках и образовавшийся в результате дезамидирования не-

RENAL MECHANISMS OF ELIMINATION OF AMMONIA FROM A BODY WITH LIVER RESECTION (EXPERIMENTAL STUDY)

D. V. Molchanov

During experiments on 98 rats (female) investigated the influence of liver resection (LR, 15–20% of a body mass) to ammonia excretion by kidneys from a body. Studies were carried out on the third, seventh and the fourteenth day after the LR. It was found that inhibition of secretion of ammonia in renal tubules and its accumulation by renal tissue on the third day after LR were replaced afterwards with an increase in the allocation of ammonium with urine against the background of decline in the degree of arterial hyperammoninemia. Formation of arterial hyperglutaminemia after LR is accompanied by increase of desamidation of «arterial» glutamine in kidneys while increasing in formation of «renal» glutamine and its incretion in blood. Stimulation of reabsorption of urea in kidneys in early (day 3) terms after LR reduces the excretion of urine from the body without causing its accumulation in renal tissue that occurs in the later (14 days) time of postoperative period against the background of recovery of excretion of urea with urine and normalization of its content in the blood that drains from kidneys.

KEYWORDS: kidneys, liver resection, ammonia, glutamine, urea.

фронтами глутамина [17]. Между тем способность почек принимать участие в устранении эндогенной аммиачной интоксикации при резекции печени остается не исследованной.

Целью настоящей работы явилось изучение влияния резекции печени на способность почек выводить из организма избыток аммиака.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты проведены на 98 половозрелых крысах (самках) массой 180–220 г. Резекцию печени (РП) осуществляли под эфирным наркозом, удаляя электро-

ножом часть левой доли печени (15–20% массы органа). Происходящая при этом коагуляция раневой поверхности оставляемой доли органа сводила на нет кровопотерю, характерную для данного оперативного вмешательства. Исследования проводили на 3, 7 и 14 сутки послеоперационного периода. Было выделено 7 серий опытов. 1 серия – интактные животные (норма), 2, 3 и 4 серии – животные, исследованные, соответственно, на 3, 7 и 14 сутки после РП. Объектом исследования служили почечная ткань, артериальная кровь (АК), кровь почечной вены (КПВ) и моча. Выведение животных из опыта осуществляли под тиопенталовым наркозом (40 мг тиопентала натрия / кг массы). В почечной ткани определяли аммиак методом микродиффузии [10], глутамин методом кислотного гидролиза [12] в модификации [10], мочевины – диацетилмоноксимовым методом [16]. Забор крови (по 0,4 мл) для исследования осуществлялся предварительно гепаринизированными инсулиновыми шприцами из 2 сосудов одного животного в следующей последовательности: почечная вена–аорта. В депротеинизированной плазме определяли содержание аммиака фенилгипохлоридным методом по Келлеру [14], глутамина – методом кислотного гидролиза [12] с последующим определением аммиака по Келлеру [14], мочевины – диацетилмоноксимовым методом [16]. Одновременно рассчитывали почечные артерио-венозные разницы (пАВР) по аммиаку, глутамину и мочевины. Для определения содержания аммиака и мочевины в моче животное помещали на 2–4 часа в клетку-пенал, предназначенную для этой цели, а в контейнер для сбора мочи добавляли 0,1 мл 60% раствора ТХУ для подавления уреазной активности. В полученной моче содержание аммиака определяли микродиффузионным методом [10], мочевины – диацетилмоноксимовым методом [16]. При этом пробу мочи для определения аммиака разводили в 200 раз, мочевины – в 100 раз, что учитывали при расчете полученных показателей. Результаты исследования обрабатывали статистически с учетом параметрического *t*-критерия Стьюдента и непараметрического критерия Вилкоксона-Манна-Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно современным представлениям удаление почками аммиака из организма млекопитающих осуществляется двумя путями [2]. Во-первых, через почечные клубочки, когда в процессе фильтрации в почечные канальцы попадают находящиеся в плазме крови свободный (несвязанный) аммиак и мочевина (необратимая форма связывания аммиака). Во-вторых, путем секреции нефроцитами в почечные канальцы аммиака, образовавшегося в них при дезаминировании аминокислот, главным образом глутамина (обратимая форма связывания аммиака), поступающего с кровью от других органов.

Как видно из табл. 1, концентрация аммиака в моче здоровых животных значимо превышала анало-

гичный показатель в АК. Поскольку подавление ТХУ уреазной активности в собранной моче исключает высвобождение аммиака при расщеплении мочевины уреазой, то можно говорить о секреции аммиака нефроцитами аммиака в мочу, как ведущей причины формирования ее аммонийного пула. Вместе с тем, обнаруженную нами (табл. 1) отрицательную пАВР по аммиаку (табл. 1) можно рассматривать следствием его частичной реабсорбции из собирательных трубочек в кровь, что было обнаружено ранее [1].

Как видно из табл. 1, РП вызывала увеличение концентрации аммиака в АК на 3, 7 и 14 сутки послеоперационного периода, соответственно, на 31, 25 и 16%. Однако в моче она увеличивалась только на 7 и 14 сутки исследования, соответственно, на 65 и 47% (табл. 1). Задержка повышенного выведения аммония с мочой из организма в условиях артериальной гипераммониемии предполагает нарушение процессов фильтрации в почках. Например, в результате послеоперационной гиповолемии [11]. Однако применяемая нами методика РП исключает обильную кровопотерю [6]. Маловероятна и гипоперфузия коркового слоя почек из-за вазоконстрикции почечных сосудов и раскрытия почечных артериовенозных шунтов. Это привело бы к увеличению концентрации аммиака в КПВ, которая достоверно не отличалась от нормы в указанные сроки наблюдений (табл. 1). Поэтому единственной причиной сохранения в пределах нормы содержания аммония в моче на 3 сутки после РП на фоне артериальной гипераммониемии следует рассматривать снижение секреции аммиака нефроцитами в почечные канальцы при сохранении дезаминирования в них аминокислот. Последнее может служить одной из причин накопления аммиака в почечной ткани на 3 сутки после РП (табл. 1). Однако выявленные на 7, 14 сутки исследования изменения концентрации аммиака в АК и моче (табл. 1) позволяют говорить об увеличении секреции аммиака в почечные канальцы на фоне снижения степени артериальной гипераммониемии. Это является одной из причин снижения повышенной на 3 сутки после РП (табл. 1) концентрации аммиака в почечной ткани: в начале до нормы (7 сутки), а затем и ниже нее (на 14 сутки после РП). Формирование на 14 сутки после РП положительной пАВР по аммиаку (табл. 1) следует рассматривать как результат снижения его реабсорбции из собирательных трубочек в кровь.

Концентрация аммиака в клетке зависит от соотношения реакций его образования и связывания, при этом особая роль отводится глутамину, который одновременно может служить как источником аммиака, так и одним из продуктов его нейтрализации в организме [9]. Это зависит от активности ферментов, катализирующих образование и дезамидирование данной аминокислоты, соответственно глутаминсинтетазы и глутаминаз. Изучение сопряженной работы этих ферментов в печени позволило доказать существование глутамино-

вого цикла в гепатоцитах [13]. В свою очередь, наличие указанных ферментов в нефроцитах, а также кинетика в них аммиака и глутамината позволяют говорить о наличии глутаминового цикла в почечной ткани.

Как показали наши исследования (табл. 1), концентрация глутамината в почечной ткани после РП сохранялась в пределах нормы даже в условиях формирования артериальной гиперглутаминемии на 3 и 14 сутки после РП. Концентрация глутамината в притекающей к почкам крови стимулирует активность почечных глутаминаз [3]. Поэтому можно говорить о стимуляции дезамидирования «артериального» глутамината нефроцитами оперированных крыс в условиях формирования послеоперационной артериальной гиперглутаминемии (табл. 1). Если в АК увеличение концентрации глутамината на 3 и 14 сутки после РП составило 16 и 12%, то в КПВ 38 и 28% соответственно. На 7 сутки исследования, когда имела место нормализация концентрации глутамината в АК, в КПВ она была увеличена на 29% (табл. 1). С учетом выявленной кинетики аммиака в почках в указанные сроки наблюдений следует, что после РП стимуляция дезамидирования в нефроцитах «артериального» глутамината сопровождается увеличением образования в них собственного глутамината с его дальнейшим выведением в кровоток. Можно полагать, что указанные изменения в функционировании почечного глутаминового цикла направлены на предупреждение формирования после РП

артериальной гипоглутаминемии. Последнему будет содействовать снижение поступления в кровь из оперированной печени глутамината в результате нарушения глутаминообразовательной функции гепатоцитов [9]. Что касается субстратов для образования глутамината в нефроцитах в условиях артериальной гипераммониемии, то с одной стороны это «непрофильтрованный в клубочках» аммиак, а с другой – глутаминат, образованный при дезамидировании в них «артериального» глутамината.

Общезвестно, что, в отличие от глутамината, поступающая с кровью в почки, мочевины не метаболизируется, а только фильтруется в почечных клубочках и частично реабсорбируется в почечных канальцах. Обнаруженное в наших исследованиях снижение на 30% концентрации мочевины в моче на 3 сутки после РП при одновременном увеличении на 29% ее содержания только в крови почечных вен (табл. 1) указывает на усиление ее реабсорбции из почечных канальцев. Данный биологический феномен следует рассматривать как приспособительную реакцию организма, направленную на поддержание в пределах нормы концентрации мочевины в артериальной крови в условиях нарушения ее образования гепатоцитами [6]. Это приводит к снижению ее поступления из оперированного органа в кровоток. Повышенная реабсорбция мочевины в почках сохранялась и на 7 сутки после РП. На это указывает то, что увеличение в этот период (табл.) кон-

ТАБЛИЦА 1.

Содержание аммиака, глутамината и мочевины в почках (ммоль/кг влажной ткани), крови и моче (ммоль/л) здоровых крыс после ЧГЭ (M ± m)

Исследуемые показатели	Интактные животные (норма)	Сутки после частичной гепатэктомии		
		3	7	14
Аммиак почек	1,95 ± 0,11	2,77±0,15*	1,81±0,18▲	1,24±0,13*▼▲
Глутамин почек	2,41 ± 0,18	2,93±0,38	2,42±0,32	3,18±0,36
Мочевина почек	11,2 ± 1,01	12,5±0,77	11,9±0,65	15,9±1,1*
Аммиак АК	0,107±0,006	0,140±0,008*	0,134±0,007*	0,124±0,006*
Аммиак КПВ	0,127±0,007	0,131±0,009	0,138±0,008	0,107±0,008▼
АВР по аммиаку	-0,022±0,007	нд	нд	0,014±0,009
Глутамин АК	0,715±0,01	0,830±0,036*	0,709±0,02▲	0,798±0,022*▼*
Глутамин КПВ	0,441±0,01	0,610±0,037*	0,571±0,028*	0,570±0,037*
АВР по глутамину	0,277±0,028	0,215±0,024	0,137±0,01▲*	0,227±0,028▼
Мочевина АК	3,4 ± 0,12	3,55±0,37	4,05±0,19*	3,04±0,21▼
Мочевины КПВ	2,63 ± 0,19	3,39±0,23*	3,84±0,31*	3,01±0,22
АВР по мочеvine	0,77±0,08	нд	нд	нд
Аммиак мочи	1, 12±0,12	1,42 ± 0,13	1,88±0,15▲*	1,65±0,15*
Мочевина мочи	34,6 ± 3,3	24,3 ± 3,1*	40,6±5,7▲	31,5±6,6

Примечание: АК – артериальная кровь, КПВ – кровь почечной вены, АВР – почечная артерио-венозная разница, ЧГЭ – частичная гепатэктомия, нд – не достоверное различие, * (p<0,05) – достоверность различий по сравнению с нормой, ▲ (p<0,05) – достоверность различий по сравнению с 5 серией опыта; ▼ (p<0,05) – достоверность различий по сравнению с 6 серией опыта

центрации мочевины на 20% в АК, содействуя восстановлению ее сниженной концентрации в моче, сопровождалось увеличением содержания мочевины в КПВ на 46% (табл. 1). При этом не исключается стимуляция образования мочевины в почках из аргинина, происходящая в клетках проксимальных канальцев нефрона, где локализована аргиназа [15]. Нельзя исключить, что это процесс активен и на 14 сутки после РП, являясь одной из причин отсроченного накопления мочевины из почечных канальцев, наряду с частичной задержкой метаболита в почечной ткани. Не случайно увеличение на 42% концентрации мочевины в ткани почек на 14 сутки после РП происходило на фоне нормализации ее содержания в крови и моче.

Выявленные изменения кинетики мочевины в почках после РП позволяют говорить о ее важной роли в адаптации организма к операционной агрессии. В частности, образуя комплекс с гепарином, мочевина пролонгирует антитромбиновую активность последнего [5], что улучшает микроциркуляцию в тканях оперированного организма. С другой стороны, являясь одним из эндогенных антиоксидантов, мочевина тормозит протеолитическую активность крови, повышает антирадикальную защиту организма [4].

ВЫВОДЫ

1. Формирование артериальной гипераммониемии при РП сопровождается накоплением аммиака почечной тканью в ранние (3 сутки) и отсроченным увеличением его секреции в почечные канальцы в поздние (7 и 14 сутки) сроки послеоперационного периода, что проявляется увеличением содержания аммония в моче и развитием в почечной ткани отсроченного «дефицита» аммиака.
2. Формирование транзитной гиперглутаминемии при РП сопровождается активацией почечного глутаминового цикла, которая проявляется стимуляцией дезамидирования в почках «артериального» глутамин при одновременном увеличении образования глутамин самими нефроцитами с его дальнейшим выделением в оттекающую от почек кровь.
3. Стимуляция реабсорбции мочевины в почках в ранние (3 сутки) сроки после РП снижает ее выведение мочой из организма не вызывая накопления в почечной ткани, которое наблюдается в поздние (14 сутки) сроки послеоперационного периода на фоне восстановления экскреции мочевины с мочой и нормализации ее содержания в оттекающей от почек крови.

ЛИТЕРАТУРА

1. **ВАНДЕР А.** Физиология почек: Пер с англ. СПб: Питер, 2000.
2. **ГАРТ О.** Физиология почек // Физиология человека. В 4 т. Р. Шмидт и Г. Тевс (ред.). М.: Мир, 1986. Т.4. С. 145–197.

А. В. МОЛЧАНОВ
ПОЧЕЧНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ВЫВЕДЕНИЯ АММИАКА
ИЗ ОРГАНИЗМА ПРИ РЕЗЕКЦИИ ПЕЧЕНИ
(ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

3. **КОСЕНКО Е.А., КАМИНСКИЙ Ю.Г.** Клеточные механизмы токсичности аммиака М.: АКИ, 2008.
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 // Биол. науки. 1986. № 9. С. 30–36.
5. **КУДРЯШЕВ Б.А., ЛЯПИНА Л.А.** Комплекс гепарин-мочевина и его физико-химические свойства // Вопр. медицинской химии. 1975. Т. 21. № 2. С. 165–168.
6. **МОЛЧАНОВ Д.В.** Почки при гипероксии. М.: Изд-во БИНОМ, 2015. 160 с.
7. **САВИЛОВ П.Н.** Состояние аммиакобезвреживающей функции гепатоцитов после резекции печени в эксперименте // Патол. физиол. и эксперим. терапия 2002. № 4. С. 11–13.
8. **САВИЛОВ П.Н., МОЛЧАНОВ Д.В., АЛАБОВСКИЙ А.А.** Влияние гипербарической оксигенации на кинетику аммиака в организме при печеночной недостаточности // Общ. реаниматология. 2010. Т. 6. № 6. С. 12–17.
9. **САВИЛОВ П.Н., МОЛЧАНОВ Д.В., ЯКОВЛЕВ В.Н.** Влияние гипербарической оксигенации на кинетику глутамин в организме при печеночной недостаточности // Общ. реаниматология. 2012. Т. 8. № 2. С. 20–27.
10. **СИЛАКОВА А.И., ТРУБИН Г.П., ЯВЛИКОВА А.И.** Микрометод определения аммиака и глутамин в тканевых трихлоруксусных экстрактах // Вопр. медицинской химии. 1962. Т. 8. № 5. С. 538–544.
11. Хирургическая гепатология. под ред. Б.В. Петровского. М.: Медицина, 1972.
12. **HARRIS M.** Studies regenerating a glutamine-like substance in blood and spinal fluid, including a method for its quantitative determination // J. Clin. Invest. 1943. V. 22. N 4. P. 569–576.
13. **HÄUSSINGER D.** Die hepatische Ammoniumionenentgiftung // Forsch. Med. 1985. V. 103 (45) P. 1051/41–1051/43.
14. **KELLER H., MULLER-BEISENRITZ M., NEUMANN E.** Eine Methode zur Ammoniakbestimmung in Capillarblut // Klin. Wsch. 1967. V. 15. P. 314–319.
15. **LEVILLAU O., PARRY PH., HUS CITHARE A L.** Arginine metabolism in cat kidney // J. Pisiol. 1986. V. 491. N 2. P. 471–477.
16. **RICHTERRICH D.** Clinical Chemistry. N.Y.: Academia Press, 1962.
17. **WELBOURN T.C.** Ammonia production and glutamine in corporation in the functioning rat kidney // Can. J. Biochem. 1980. V. 79. N 3. P. 233–237.

Молчанов Дмитрий Владимирович,
д.м.н., профессор, зав. отделением анестезиологии-реанимации ООО «Нейро-клиника» Юсуповской больницы
☎ 117186, г. Москва, ул. Нагорная ул., д. 17, корп. 6,
тел. : +7 (916) 484-95-65, e-mail: dr.molchanov@gmail.com