

© М. В. Стогов, Е. А. Киреева, 2023
УДК 616-092.9/612.353.1
DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2023.18094>
ISSN – 2073-8137

СИНТЕЗ МОЧЕВИНЫ В ПЕЧЕНИ МЫШЕЙ ПОСЛЕ СКЕЛЕТНОЙ ТРАВМЫ НА ФОНЕ АМИНОКИСЛОТНОЙ НАГРУЗКИ

М. В. Стогов, Е. А. Киреева

Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии им. Г. А. Илизарова, Курган, Российская Федерация

UREA SYNTHESIS IN THE LIVER OF MICE AFTER SKELETAL INJURY ON THE BACKGROUND OF AMINO ACID LOAD

Stogov M. V., Kireeva E. A.

G. A. Ilizarov National Medical Research Centre for Traumatology and Orthopaedics, Kurgan, Russian Federation

Изучена динамика уровня мочевины в печени мышей после скелетной травмы на фоне приема с пищей дополнительных количеств аминокислот – лейцина, изолейцина, аргинина и метионина. Исследование выполнено на 74 самцах мышей линии СВА. В печени и сыворотке крови определяли концентрацию мочевины, в сыворотке – дополнительно альбумина. Обнаружено, что сама по себе пищевая нагрузка аминокислотами не вызвала значимого увеличения синтеза мочевины в печени мышей. Однако у животных с пищевой аминокислотной нагрузкой после травмы повышенный синтез мочевины отмечался до 7-х суток посттравматического периода в отличие от животных с травмой, но без добавления аминокислот в пищевую рацион, у которых высокий уровень мочевины отмечался только на 3-и сутки после травмы. Очевидно, что дополнительное применение аминокислот в посттравматическом периоде является фактором, повышающим функциональную метаболическую нагрузку на печень.

Ключевые слова: синтез мочевины, перелом кости, печень, аминокислоты, питание

The dynamics of the urea level in the liver of mice after skeletal injury in the presence of additional amounts of amino acids leucine, isoleucine, arginine and methionine with food was studied. The study was performed on 74 male mice of the CBA line. In the liver and blood serum, the concentration of urea was determined, in the serum – additionally albumin. It was found that by itself, the dietary load of amino acids did not cause a significant increase in urea synthesis in the liver of mice. However, in animals with a dietary amino acid load after injury, increased urea synthesis was observed until the 7th day of the post-traumatic period, in contrast to animals with injury, but without the addition of amino acids to the diet, in which a high level of urea was noted only on the 3rd day after injuries. Obviously, the additional use of amino acids in the post-traumatic period is a factor that increases the functional metabolic load on the liver.

Keywords: urea synthesis, bone fracture, liver, amino acids, nutrition

Для цитирования: Стогов М. В., Киреева Е. А. СИНТЕЗ МОЧЕВИНЫ В ПЕЧЕНИ МЫШЕЙ ПОСЛЕ СКЕЛЕТНОЙ ТРАВМЫ НА ФОНЕ АМИНОКИСЛОТНОЙ НАГРУЗКИ. *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2023;18(4):398-400. DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2023.18094>

For citation: Stogov M. V., Kireeva E. A. UREA SYNTHESIS IN THE LIVER OF MICE AFTER SKELETAL INJURY ON THE BACKGROUND OF AMINO ACID LOAD. *Medical News of North Caucasus*. 2023;18(4):398-400. DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2023.18094> (In Russ.)

АС – смесь аминокислот лейцина, изолейцина, аргинина, метионина

ПГ – перелом костей голени

Коррекция пищевого статуса у пациентов после скелетной травмы рассматривается в качестве фактора, способствующего созданию оптимальных условий для репарации кости [1–3]. Отмечается, что в посттравматическом периоде коррекции подлежат, прежде всего, минеральный и белково-энергетический обмены [4, 5]. Среди веществ, требующих пищевой коррекции в посттравматический период, выделяют аминокислоты, дополнительный приём которых оказывает системное влияние на поврежденные травмой

ткани и органы опорно-двигательного аппарата [6, 7]. Однако важным препятствием к применению аминокислот является недостаток данных о том, оказывает ли их потребление в посттравматическом периоде сверх достаточного количества какие-либо системные риски [8], тем более что некоторыми авторами отмечается снижение репаративных процессов в кости на фоне избыточной пищевой белковой нагрузки [9, 10]. Дополнительным риском является и то, что основной орган метаболизма белкового азота – печень в

посттравматическом периоде может обнаруживать признаки снижения функциональной активности [11, 12].

Цель исследования – изучить интенсивность мочевинообразования в печени мышей после перелома костей голени на фоне приема с пищей дополнительных количеств аминокислот.

Материал и методы. Исследование выполнено на 74 самцах мышей линии СВА, возраст 2 месяца, вес 25–30 г. Животные были разделены на 4 группы. Животным группы 1 (n=18) воспроизводили перелом костей голени (ПГ) по разработанной методике (патент РФ № 2456927). Животные группы 2 (n=18) после моделирования перелома дополнительно с пищей получали смесь аминокислот (АС) лейцина, изолейцина, аргинина, метионина в весовом соотношении 1:1:1:1. АС выдавалась в количестве, равном содержанию аминного азота в стандартном суточном рационе (3,3 г/сутки перевариваемого протеина), то есть животные данной группы потребляли двойной суточный норматив по аминному азоту. Группа 3 (n=18) – животные без травмы, но на сроках наблюдения дополнительно с пищей получали смесь указанных выше аминокислот по аналогичной схеме. Группа 4 (n=20) – интактные животные.

Оперативные вмешательства на животных проводили под эфирным наркозом. Из эксперимента животных групп 1 и 2 выводили декапитацией после предварительного наркотизирования эфирным наркозом на 3, 7 и 28-е сутки после перелома (по 6 животных на срок), животных группы 3 – на 3, 7 и 28-е сутки после начала приема АС (по 6 животных на срок). Группу интактных животных составили мыши двух месяцев (n=10) (результаты сравнивали со сроками 3-и и 7-е сутки эксперимента) и мыши трех месяцев (n=10) (результаты сравнивали со сроком 28-е сутки эксперимента).

После эвтаназии забирали образцы печени и сыворотки крови экспериментальных животных. Навеску печени отмывали от крови в двух порциях раствора 0,15М KCl (из расчета 1 г на 9 мл среды), затем растирали в гомогенизаторе Поттера из расчета 1 г ткани на 9 мл 0,15М KCl. Все манипуляции выполняли при температуре раствора KCl не более 8 °С. Далее гомогенат центрифугировали в ультрацентрифуге OPTIMA LE-80 (Beckman&Coulter, США) 10 минут со скоростью 14000 об/мин при температуре 5–6 °С. В надосадочной жидкости определяли концентрацию мочевины, которую пересчитывали на массу сырой ткани (ммоль/г ткани). В сыворотке крови определяли концентрацию альбумина и мочевины. Концентрацию мочевины и альбумина определяли на полуавтоматическом анализаторе Стат Факс 1904Plus (Awareness, США) наборами реагентов «Витал Диагностика» (СПб., Россия).

Результаты в таблицах представлены в виде медианы, 1–3 квартиля (Ме; Q1–Q3). Статистическую оценку значимости отличий изученных показателей между группами оценивали с помощью Т-критерия Манна – Уитни. Минимальный уровень значимости (p) принимали равным 0,05.

Результаты и обсуждение. Результаты исследования показали, что у мышей групп 1 и 2 уровень мочевины в печени на 3-и сутки после травмы был статистически значимо выше значений интактных животных и животных группы 3 (табл. 1). На 7-е сутки высокие значения уровня мочевины сохранялись только у мышей группы 2. На 28-е сутки эксперимента в печени животных группы 2 концентрация мочевины достоверно от значений интактной группы не отличалась.

В свою очередь у мышей группы 1 на данном сроке отмечались достоверно низкие значения уровня мочевины относительно животных других групп.

Таблица 1

Содержание мочевины (ммоль/г ткани) в печени мышей на сроках эксперимента, Ме (Q1–Q3)

Группа	3-и сутки	7-е сутки	28-е сутки
1 (ПГ)	22,5 (17,8–25,4) ^{3, 4}	15,4 (11,2–19,1) ²	8,6 (9,5–10,1) ^{2, 3, 4}
2 (ПГ+АС)	21,9 (18,2–23,0) ^{3, 4}	23,2 (20,0–26,6) ^{1, 3, 4}	13,2 (11,9–16,5) ¹
3 (АС)	14,0 (10,9–15,2) ^{1, 2}	13,7 (10,1–16,4) ²	15,1 (11,8–18,4) ¹
4 (ин-тактн.)	12,8 (10,7–14,9) ^{1, 2}	12,8 (10,7–14,9) ²	13,7 (11,0–15,4) ¹

Примечание: ^{1, 2, 3, 4} – достоверные отличия с показателями указанной группы при p<0,05.

Несмотря на значимые отличия в содержании мочевины в печени животных экспериментальных групп 1 и 2, концентрация этого метаболита в сыворотке крови животных всех групп статистически значимо между группами на сроках эксперимента не отличалась (табл. 2).

Таблица 2

Содержание мочевины (ммоль/л) в сыворотке крови мышей на сроках эксперимента, Ме (Q1–Q3)

Группа	3-и сутки	7-е сутки	28-е сутки
1 (ПГ)	4,8 (4,5–5,9)	5,1 (4,4–5,8)	5,4 (5,0–6,6)
2 (ПГ+АС)	4,7 (4,4–5,7)	4,8 (4,2–5,8)	5,0 (4,5–6,2)
3 (АС)	4,9 (4,3–5,9)	5,2 (4,8–6,4)	5,0 (4,2–5,9)
4 (интактн.)	5,4 (4,8–6,2)	5,4 (4,8–6,2)	5,8 (4,9–6,1)

Оценивая значения концентрации альбумина сыворотки крови как маркера белково-синтетической функции печени, у экспериментальных животных можно отметить достоверно низкое значение данного метаболита только у мышей группы 1 на 7-е сутки после травмы (табл. 3).

Таблица 3

Содержание альбумина (г/л) в сыворотке крови мышей на сроках эксперимента, Ме (Q1–Q3)

Группа	3-и сутки	7-е сутки	28-е сутки
1 (ПГ)	32 (29–40)	27 (25–29) ^{3, 4}	28 (26–34)
2 (ПГ+АС)	30 (28–38)	30 (27–36)	28 (27–36)
3 (АС)	32 (29–37)	34 (30–38)	32 (28–36)
4 (интактн.)	33 (30–39)	33 (30–39)	33 (30–39)

Примечание: ^{3, 4} – достоверные отличия с показателями указанной группы при p<0,05.

Полученные данные говорят о том, что сама по себе пищевая нагрузка АС не вызывала значимого увеличения синтеза мочевины в печени животных группы 3. У животных с переломом голени без нагрузки АС (группа 1) динамика синтеза мочевины фактически соответствовала фазам репаративного ответа на травму: в период ранней реакции на травму (3-и сутки) синтез мочевины в печени существенно активировался, видимо за счет распада белка, как реакции на повреждение (катаболическая реакция); затем на 7-е сутки наблюдалась нормализация синтеза мочевины, а на 28-е сутки его снижение – вероятно, как след-

ствие нарастания анаболических процессов в поврежденных тканях и органах (анаболическая фаза). У животных с дополнительной пищевой аминокислотной нагрузкой (группа 2) после травмы рост синтеза мочевины был пролонгирован до 7-х суток посттравматического периода. Очевидно, дополнительное применение АС в посттравматический период являлось фактором, повышавшим функциональную метаболическую нагрузку на печень. Однако отмеченное у животных группы 2 отсутствие роста уровня мочевины в крови говорит о том, что её синтез был вполне компенсирован выделительной системой. Также стоит отметить, что белково-синтетическая функция печени, исходя из данных изменения уровня альбумина в крови экспериментальных животных, при дополнительной пищевой нагрузке АС также не изменялась.

Заключение. Таким образом, прием аминокислотной смеси у мышей после перелома костей голени вызывает длительное повышение уровня мочевины в печени относительно животных без аминокислотной нагрузки. Несмотря на то что рост синтеза мочевины у мышей группы 2 был компенсирован, видимо, за счёт её элиминации через выделительную систему, такое увеличение мочевинообразования следует отнести к факторам риска, потенциально провоциру-

щим дисфункцию печени и/или почек (особенно на фоне присутствующих заболеваний данных органов). Поэтому применение, особенно длительное, аминокислотных пищевых добавок в посттравматический период требует мониторинга за уровнем мочевины в крови, включая тесты для оценки функции печени (трансаминазы, билирубин и др.).

Информированное согласие. Исследование проведено при соблюдении принципов гуманного обращения с лабораторными животными в соответствии с требованиями Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов и других научных целей, и Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22 сентября 2010 года по охране животных, используемых в научных целях. На проведение эксперимента получено одобрение комитета по этике при ФГБУ «НМИЦ ТО им. акад. Г. А. Илизарова».

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: Исследование выполнено в рамках темы государственного задания на осуществление научных исследований и разработок ФГБУ «НМИЦ ТО им. акад. Г. А. Илизарова» Минздрава России.

Литература/References

1. Fabiani R., Naldini G., Chiavarini M. Dietary Patterns in Relation to Low Bone Mineral Density and Fracture Risk: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Adv. Nutr.* 2019;10(2):219-236. <https://doi.org/10.1093/advances/nmy073>
2. Malafarina V., Reginster J. Y., Cabrerizo S., Bruyère O., Kanis J. A. [et al.]. Nutritional status and nutritional treatment are related to outcomes and mortality in older adults with hip fracture. *Nutrients.* 2018;10(5):555. <https://doi.org/10.3390/nu10050555>
3. Schmidt I., Albert J., Rithaler M., Papastavrou A., Steinmann P. Bone fracture healing within a continuum bone remodelling framework. *Comput. Methods Biomech. Biomed. Engin.* 2022;25(9):1040-1050. <https://doi.org/10.1080/10255842.2021.1998465>
4. Handcox J. E., Gutierrez-Naranjo J. M., Salazar L. M., Bullock T. S., Griffin L. P., Zelle B. A. Nutrition and vitamin deficiencies are common in orthopaedic trauma patients. *J. Clin. Med.* 2021;10(21):5012. <https://doi.org/10.3390/jcm10215012>
5. Merloz P. Optimization of perioperative management of proximal femoral fracture in the elderly. *Orthop. Traumatol. Surg. Res.* 2018;104(1S):S25-S30. <https://doi.org/10.1016/j.otsr.2017.04.020>
6. Meesters D. M., Wijnands K. A. P., Brink P. R. G., Poeze M. Malnutrition and fracture healing: are specific deficiencies in amino acids important in nonunion development? *Nutrients.* 2018;10(11):1597. <https://doi.org/10.3390/nu10111597>
7. Ramanathan V., Venugopalan S., Ganapathy D., Ramadoss R., Kumar S. M. [et al.]. Effect of dietary amino acids L-arginine and lysine on implant osseointegration. *J. Pharm. Bioallied Sci.* 2022;14(Suppl.1):S106-S109. https://doi.org/10.4103/jpbs.jpbs_594_21
8. Roberts J. L., Drissi H. Advances and promises of nutritional influences on natural bone repair. *J. Orthop. Res.* 2020;38(4):695-707. <https://doi.org/10.1002/jor.24527>
9. Gholami F., Naghshi S., Samadi M., Rasaei N., Mirzaei K. Dietary acid load and bone health: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Front. Nutr.* 2022;9:869132. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.869132>
10. Hew J. J., Parungao R. J., Mooney C. P., Smyth J. K., Kim S. [et al.]. Low-protein diet accelerates wound healing in mice post-acute injury. *Burns Trauma.* 2021;9:tkab010. <https://doi.org/10.1093/burnst/tkab010>
11. Jadzic J., Djonc D. Bone loss in chronic liver diseases: Could healthy liver be a requirement for good bone health? *World J. Gastroenterol.* 2023;29(5):825-833. <https://doi.org/10.3748/wjg.v29.i5.825>
12. Liu Y., Yao C., Wang Y., Liu X., Xu S., Liang L. Protective Effect of Crocin on Liver Function and Survival in Rats With Traumatic Hemorrhagic Shock. *J. Surg. Res.* 2021;261:301-309. <https://doi.org/10.1016/j.jss.2020.12.027>

Поступила 08.08.2023

Сведения об авторах:

Стогов Максим Валерьевич, доктор биологических наук, доцент, руководитель отдела доклинических и лабораторных исследований; тел.: +7(3522)450538; e-mail: stogo_off@list.ru; <https://orcid.org/0000-0001-8516-8571>

Киреева Елена Анатольевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник; тел.: +7(3522)450538; e-mail: ea_tkachuk@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-1006-5217>