

ОСОБЕННОСТИ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА ПОЧЕК ПРИ ОСТРОМ ПЕРИТОНИТЕ

Власов А.П.¹, Рязанцев В.Е.¹

¹ФГБОУ ВО Национальный исследовательский Мордовский государственный университет, Саранск, e-mail: bobsonj@mail.ru

Острый перитонит сопровождается выраженными многокомпонентными изменениями различных видов обмена веществ в организме. Острое почечное повреждение, развивающееся при остром перитоните, вызвано разнонаправленными процессами, одним из которых является липидный дистресс-синдром. В эксперименте на 35 беспородных взрослых половозрелых собаках моделировали острый серозный перитонит. В послеоперационном периоде проводили антибактериальную и инфузионную терапию. Изучали динамику некоторых компонентов липидного обмена. Изменения соотношения липидных фракций характеризуют глубокие деструктивные процессы, происходящие в структурах тканей почек, которые оценивали до начала эксперимента, а также на 1-е, 3-и, 5-е сутки наблюдения. Функциональные и морфологические перестройки в паренхиме почки свидетельствуют о необходимости ранней их коррекции уже на начальных стадиях воспалительного процесса, что может привести к восстановлению поврежденных тканевых структур почечной паренхимы. При этом статистически значимая динамика изучаемых компонентов в ранние послеоперационные сроки свидетельствует о тяжести процесса, обусловленного в том числе и операционной травмой. Основным триггерным агентом патологических изменений является перекисное окисление липидов как следствие нарушения микроциркуляции, развития гипоксии, деструкции тканевых структур, показывающее необходимость детального изучения с целью ранней профилактики острого почечного повреждения.

Ключевые слова: перекисное окисление липидов, липидный дистресс-синдром, гипоксия, острое почечное повреждение

FEATURES OF LIPID KIDNEY EXCHANGE IN ACUTE PERITONITIS

Vlasov A.P.¹, Ryazantsev V.E.¹

¹FSBEI HO «National Research Ogarev Mordovia State University», Saransk, e-mail: bobsonj@mail.ru

Acute peritonitis is accompanied by pronounced multicomponent changes in various types of metabolism in the body. Acute renal damage that develops in acute peritonitis is caused by multidirectional processes, one of which is lipid distress syndrome. In the experiment, acute serous peritonitis was modeled on 35 mongrel adult matured dogs. In the postoperative period, antibacterial and infusion therapy was performed. Studied the dynamics of some components of lipid metabolism. Changes in the ratio of lipid fractions characterize the deep destructive processes occurring in the structures of the tissues of the kidneys, which were assessed before the start of the experiment, as well as on days 1, 3, and 5 of observation. Functional and morphological alterations in the kidney parenchyma indicate the need for their early correction in the initial stages of the inflammatory process, which may lead to the restoration of damaged tissue structures of the renal parenchyma. At the same time, the statistically significant dynamics of the studied components, in the early postoperative periods, testifies to the severity of the process, caused, among other things, by the operating trauma. The main triggering agent of pathological changes is lipid peroxidation, as a result of microcirculation disturbances, hypoxia development, tissue structure destruction, showing the need for detailed study for early prevention of acute renal damage.

Keywords: lipid peroxidation, lipid distress syndrome, hypoxia, acute renal damage

Острый перитонит является частым осложнением многих хирургических заболеваний [1]. Достижения в изучении патогенетических механизмов, расширение лечебных мероприятий не позволяют снизить летальность при этой патологии [2]. Ишемия, эндогенная интоксикация лежат в основе течения перитонита и влекут развитие острого повреждения почек как одного из звеньев патогенетической цепи процессов [3]. Активация мембранодеструктивных процессов в почках обусловлена перекисным окислением липидов и связанных с ним механизмов [4]. Недостаточная

изученность липидного обмена при остром повреждении почек диктует необходимость изучения указанных механизмов с целью предупреждения почечной дисфункции и прогрессивного снижения количества функционирующих нефронов [5].

Цель исследования. Выявить изменения показателей липидного обмена в почках при серозном разлитом перитоните в эксперименте.

Материалы и методы исследования

Объектом проспективного экспериментального исследования являлись 35 половозрелых беспородных собак. Контрольная (первая) группа представлена 8 собаками, вторая группа – 27 животными, у которых изучали липидный метаболизм. В эксперименте использовалась методика перитонита профессора А.П. Власова (1991): под внутривенным наркозом (тиопентал натрия 0,04 г/кг массы тела животного) выполняли инъекционное введение в околопупочную область брюшной полости 20%-ной каловой взвеси. Через 24 часа выполняли лапаротомию, визуально оценивали выраженность воспалительного процесса в брюшной полости и санировали ее. Осуществляли забор мочи, крови, среднего сегмента паренхимы почки. Послеоперационное лечение включало инфузионную (5%-ный раствор глюкозы и 0,89%-ный раствор натрия хлорида – 50 мл/кг массы 1 раз в сутки) и антибактериальную (гентамицин 8 мг/кг массы тела внутримышечно 2 раза в сутки) терапию. Показатели оценивали на 1-е, 3-и, 5-е сутки послеоперационного периода. Взятие, фиксацию, обезвоживание, уплотнение и приготовление срезов, окрашивание гематоксилин-эозином выполняли по стандартным методикам для препаратов световой микроскопии. Изучали динамику суммарных фосфолипидов, моноацилглицерола, холестерина, диацилглицерола, свободных жирных кислот, триацилглицерола, эфира холестерина. Экстракцию липидов тканей проводили модифицированным методом Bligh, Dyer. Разделение фосфолипидов по классам осуществляли методом двумерной микротонкослойной хроматографии. Количественный анализ отдельных классов фосфолипидов проводили по методу Vaskovsky. Разделение липидов почек по фракциям осуществляли методом одномерной хроматографии. Статистический анализ осуществлен с использованием программы Microsoft Excel 2010 (Microsoft Corporation, USA) и SPSS 16.0 (SPSS Inc., USA). Описательная статистика представлена медианой, границами 95%-ного доверительного интервала (ДИ), средним и 5%-ным усеченным средним. Анализ достоверности основан на критерии Кендалла. Значимость корреляции оценена методом Спирмена.

Результаты исследования и их обсуждение

В обеих группах у экспериментальных животных анализировались показатели изменения гомеостаза организма. Установлено, что через сутки от начала эксперимента у всех собак развивался острый распространенный перитонит с выраженной воспалительной реакцией и серозным экссудатом в брюшной полости. Изучали состояние почек. Выявлено, что макроскопически органы не увеличены, форма их не изменена. Микроскопически выявлены

венозный стаз в мозговом слое почки и очаги ишемии коркового слоя. Дальнейшее течение процесса в большей степени вызывало изменения в макро- и микроскопической картине – почки увеличены в размерах, плотноэластической консистенции, отмечался отек капсулы, которая с трудом отделялась от паренхимы почки. Ткань почки отечная. В мозговом слое визуализировались зоны кровоизлияния. При световой микроскопии выявлены явления стаза и гиалинового тромбоза в капиллярах клубочков, единичные зоны обтурации гиалиновыми массами канальцев мозгового слоя. Белковая дистрофия обнаружена в эпителии извитых канальцев. В целом почечные изменения обусловлены нарушением микроциркуляции, которые вызывают структурные изменения.

Ревизия и санация брюшной полости с последующей консервативной терапией приводят к постепенному уменьшению острого воспалительного процесса к 5-м суткам наблюдения. Изменения в почках на фоне экспериментального острого серозного перитонита сопровождаются значительными перестройками в липидном обмене. Изменение липидного обмена почек свидетельствует о глубоких нарушениях функций почек (таблица).

Исходные значения 5%-ного усеченного среднего арифметического (28,043) и медианы (27,145) суммарных фосфолипидов не имеют статистически значимых различий. Оба показателя укладываются в 95%-ный ДИ [26,732; 29,467], который имеет широкие границы. Для полученных расчетных значений были установлен непараметрический критерий Фридмана при χ^2 13,370 и $p=0,000$. Статистический анализ данных для группы «Модель» выявил снижение суммарных фосфолипидов: как медианы до 23,871, так и границ 95%-ного ДИ [23,129; 24,896]. Доверительные интервалы в группах «Исход» и «Модель» не перекрываются. Непараметрический критерий Кендалла при χ^2 13,370 и $p=0,000$ с дополнительным методом Монте-Карло при $p=0,000$ для 95%-ного ДИ свидетельствует о высоком уровне полученных математических значений и высоком уровне достоверности исследуемых критериев. Таким образом, обозначенная динамика суммарных фосфолипидов – значимое снижение показателя – указывает на глубокие уровни перестройки в функционировании почечных структур при экспериментальном серозном перитоните.

Динамика показателей липидного обмена почек при серозном перитоните

Период наблюдения	Показатель	Суммарные фосфолипиды	Моноацилглицерол	Холестерин	Диацилглицерин	Свободные жирные кислоты	Триацилглицерол	Эфиры холестерина
Исход	M±m	28,100±0,665	4,020±0,073	26,577±0,335	6,137±0,106	4,757±0,159	7,952±0,338	16,948±0,282
	95%-ный ДИ	[26,732; 29,467]	[3,869; 4,171]	[25,887; 27,266]	[6,140; 6,357]	[4,429; 5,085]	[7,255; 8,648]	[16,367; 17,530]
	5%-ный М	28,043	4,014	26,628	6,140	4,709	7,964	16,995
	Me	27,145	3,994	26,661	6,090	4,367	6,983	16,791
Модель	M±m	24,012±0,430	5,361±0,092	28,366±0,411	9,276±0,160	6,457±0,265	9,276±0,160	15,227±0,321
	95%-ный ДИ	[23,129; 24,896]	[5,170; 5,552]	[27,523; 29,212]	[8,945; 9,276]	[5,911; 7,003]	[8,945; 9,606]	[14,565; 15,889]
	5%-ный М	23,972	5,380	28,318	9,277	6,361	9,277	15,237
	Me	23,871	5,435	28,655	9,432	5,871	9,432	15,664
1-е сутки	M±m	24,414±0,365	5,529±0,086	29,025±0,324	11,466±0,259	7,496±0,350	11,466±0,259	11,556±0,261
	95%-ный ДИ	[23,663; 25,164]	[5,349; 5,708]	[28,357; 29,692]	[10,933; 11,999]	[6,776; 8,217]	[10,933; 11,999]	[10,500; 11,571]
	5%-ный М	24,390	5,524	29,032	11,476	7,439	11,478	11,613
	Me	24,124	5,431	29,098	11,761	7,665	11,761	11,821
3-и сутки	M±m	25,514±0,345	5,299±0,087	27,579±0,309	9,614±0,178	8,334±0,324	9,614±0,178	9,329±0,011
	95%-ный ДИ	[24,805; 26,223]	[5,119; 5,478]	[26,942; 28,216]	[9,246; 9,982]	[7,667; 9,000]	[9,246; 9,581]	[9,301; 9,852]
	5%-ный М	25,501	5,317	27,560	9,581	8,361	9,581	9,415
	Me	25,445	5,299	27,556	9,656	8,655	9,656	9,611
5-е сутки	M±m	30,831±0,585	5,470±0,077	24,495±0,199	11,198±0,230	6,581±0,337	11,198±0,230	11,288±0,130
	95 % ДИ	[29,629; 32,034]	[5,310; 5,470]	[24,495; 25,314]	[10,724; 11,671]	[5,887; 7,274]	[10,724; 11,671]	[10,532; 11,428]
	5 % М	30,937	5,470	24,869	11,201	6,489	11,201	11,313
	Me	30,792	5,331	25,043	11,673	5,887	11,673	11,501

На 1-е, 3-и, 5-е сутки наблюдения регистрируется плавное восстановление уровня изучаемого показателя. Концентрация суммарных фосфолипидов в день эксперимента и на 1-е сутки не имеет значимого различия ни в одном из значений. Так, 5%-ное усеченное среднее и медиана близки по значениям, перекрываются границы 95%-ного ДИ [23,129; 24,896 и 23,663; 25,164]. Однако полученные показатели имеют меньший разброс в 1-е сутки наблюдения – результат тяжелой общей организменной патологии, отражающей дисфункцию всех звеньев липидного обмена. 3-и и 5-е сутки характеризуются увеличением как «средних» значений (5%-ного усеченного среднего, среднего арифметического, медианы), так и границ 95%-ного ДИ. Суммарные фосфолипиды к 3-м суткам на фоне проводимой терапии имеют меньшие показатели, чем исходные значения. К 5-м суткам значимо увеличиваются границы 95%-ного ДИ [29,629; 32,034] по сравнению с 3-ми сутками. Отмечается смещение ДИ в большую сторону, чем показатели в исходе. Статистически полученные данные подтверждены расчетом критерия Кендалла при χ^2 59,1133 и $p=0,000$ с дополнительным методом Монте-Карло при $p=0,000$ для 95%-ного ДИ.

Динамика моноацилглицерола существенно изменилась с началом эксперимента. Исходные «средние» значения – 5%-ное усеченное среднее (4,014) и медиана (3,994), а также 95%-ный ДИ [3,869; 4,171] – значимо меньше показателя при моделировании перитонита. Границы 95%-ного ДИ сместились выше [5,170; 5,552] и не имели зон перекрывания в исходе, что свидетельствует о значимости произошедших изменений. Критерий Кендалла при χ^2 26,0 и $p=0,000$ с дополнительным методом Монте-Карло при $p=0,000$ для 95%-ного ДИ. 5%-ное усеченное среднее, медиана, 95%-ные доверительные интервалы с началом эксперимента имели стабильно высокие значения и на протяжении 5 суток существенно не менялись. Медиана моноацилглицерола держалась на уровне 5,4–5,3, и только к 5-м суткам наблюдалось незначимое снижение показателя. Не имели существенных различий границы 95%-ного ДИ [5,170; 5,552 – 5,310; 5,470]. Значения их полностью не совпадали, но имели обширные зоны перекрытия. Таким образом, статистика критерия Кендалла 0,755, при χ^2 58,919 и $p=0,000$ с дополнительным методом Монте-Карло при $p=0,000$ для 95%-ного ДИ показывает значимость критерия как показателя информированности о начале грубых морфофункциональных изменений в почках при серозном перитоните в эксперименте, но не свидетельствует об информативности показателя о длительности и тяжести происходящих изменений во времени в раннем периоде.

Следующий показатель – холестерин. Сравнение 5%-ного усеченного среднего (26,628), медианы (28,661) в исходе и 5%-ного усеченного среднего (28,318), медианы (28,655) начала эксперимента показывает значимые различия между 5%-ным усеченным средним,

средним и стандартным отклонением. Медиана в исходе и начале эксперимента не имеет существенного различия, кроме того, перекрываются границы 95%-ного ДИ.

С началом эксперимента велик разброс показателей (min и max), включающий полностью 95%-ный ДИ исходных значений и значительную часть всех значений. Статистическая значимость полученных различий доказана расчетом критерия Кендалла 1,0 при χ^2 27,00 и $p=0,000$ с дополнительным методом Монте-Карло при $p=0,000$ для 95%-ного ДИ. Однако данный показатель не является информативным при начале деструктивных процессов почечной ткани на фоне серозного перитонита. Дальнейший анализ выявил незначительную динамику на 1-е и 3-и сутки наблюдения – 5%-ное усеченное среднее, медиана, границы 95%-ного ДИ не имели существенных различий. Только к 5-м суткам эксперимента показатель стал незначительно ниже исходного значения, заметно уменьшился разброс показателей (min и max) и границы 95%-ного ДИ имели зону перекреста, а среднее значение для моноацилглицерола не является критерием оценки для изучения активности процесса деструкции. Согласно полученным данным возможно увеличение размера выборки, позволит отнести этот критерий к значимым.

Исходное среднее значение диацилглицерина ($6,137\pm 0,106$) и 5%-ное усеченное среднее ($6,140$) возрастают на 66% в начале эксперимента – $9,276\pm 0,160$ и $9,277$. Значимость полученных данных подтверждена критерием Кендалла 1,0, при χ^2 27,00 и $p=0,000$ с дополнительным методом Монте-Карло при $p=0,000$ для 95%-ного ДИ. Статистически доказана возможность использования диацилглицерина как критерия, отражающего деструктивные процессы в почечной ткани. Дальнейшая динамика критерия на 1–5-е сутки не обладает информативностью, но показатель значимо остается высоким по сравнению с исходным значением.

Зоны 95%-ного ДИ имеют узкие границы в начале эксперимента и на 3-и сутки. В 1-е и 5-е сутки наблюдения границы 95%-ного ДИ имеют большой размах со смещением среднего значения к верхней границе. Кроме того, сформировались общие перекрывающиеся зоны доверительных интервалов в начале эксперимента и на 3-и сутки, на 1-е и 5-е сутки наблюдения. Полученные данные, безусловно, можно использовать как значимые критерии для отражения процессов липидного обмена, но требуется дальнейшее наблюдение для установления общей динамики диацилглицерина. Значимость динамики диацилглицерола проверена критерием Кендалла 0,792, при χ^2 64,158 и $p=0,000$ с дополнительным методом Монте-Карло при $p=0,000$ для 95%-ного ДИ.

Свободные жирные кислоты в отличие от диацилглицерола имеют упорядоченную динамику роста в ходе эксперимента. Исходные значения расчетных показателей имеют неоднородность распределения. Среднее ($4,757\pm 0,159$) и 5%-ное усеченное среднее ($4,709$),

хотя и схожи по значению, но расположены близко к нижней границе доверительного интервала. Аналогично выглядят значения в начале эксперимента. Несколько значений в группах «Исход» и «Модель» выходят за пределы 95%-ного ДИ. Сравнение показателей в этих группах показало значимость полученных значений критерия Кендалла 0,495 при χ^2 13,370 и $p=0,000$ с дополнительным методом Монте-Карло при $p=0,000$ для 95%-ного ДИ. Критерий показывает рост на фоне патологического процесса, но динамика показателя не имеет значительного «показательного» прироста. Даже на фоне продолжающегося метаболического сдвига отмечается увеличение среднего и 5%-ного усеченного среднего, но границы 95%-ного ДИ значимо перекрываются и включают обширную зону соседнего значения. Только к 5-м суткам происходит относительное восстановление среднего значения. Однако границы 95%-ного ДИ имеют большой размах и могут включать средние значения за прошедшее время. Учитывая неоднородность распределения данных, мы применили критерий Кендалла 0,282 при χ^2 22,830 и $p=0,000$ с дополнительным методом Монте-Карло при $p=0,000$ для 95%-ного ДИ.

Триацилглицеролы – нейтральные жиры – показывают неоднородность распределения показателей в начале и по ходу эксперимента. Среднее значение и 5%-ное усеченное среднее до начала и в начале эксперимента отличаются более чем на 15%. Доверительный интервал в группе «Исход» полностью включает значения 95%-ного ДИ в начале эксперимента. Критерий Кендалла 0,001 при χ^2 0,037 и $p=0,000$ с дополнительным методом Монте-Карло при $p=1,000$ для 95%-ного ДИ показывает невозможность учета нейтральных жиров для отражения особенностей липидного обмена как информативного показателя. Использование средних значений отражает повышение показателя после развития перитонита, но не характеризует длительность или стадийность процесса.

Эфиры холестерина. 5%-ное усеченное среднее и среднее значение до начала и в начале эксперимента не имеют значимых отличий. Границы 95%-ного ДИ существенно перекрываются, несколько измерений выходят за пределы измерений. Критерий Кендалла 0,001 при χ^2 0,037 и $p=1,000$ с дополнительным методом Монте-Карло при $p=1,000$ для 95%-ного ДИ не выявил значимых различий. Рассчитанный дополнительно критерий Фридмана также не показал различий в значимости двух измерений – χ^2 0,037, $p=0,847$ и $p=1,000$ для 95%-ного ДИ. Дальнейшее снижение 5%-ного усеченного среднего и медианы свидетельствует об изменении липидного обмена. Заметная динамика среднего, 5%-ного усеченного среднего, 95%-ного ДИ на 5-е сутки снижается, исходный уровень не достигается. Критерий Кендалла 0,828 при χ^2 67,032 и $p=0,000$ с дополнительным методом Монте-Карло, при $p=0,000$ для 95%-ного ДИ показывает значимость изменений показателя за весь период наблюдений.

Рассчитана корреляция Спирмена для изучаемых критериев. Оценивали значимость взаимосвязи значений до начала эксперимента и динамики показателей в послеоперационном периоде. Высокая и средняя корреляция ($r=0,8-1,0$) при $p=0,000$ отмечена для суммарных фосфолипидов, моноацилглицеролов, триацилглицеролов. Отмечаются недостаточная корреляция (по Спирмену) на уровне $r=0,2-1,0$ при $p=0,01$ для диацилглицерола и эфиров холестерина, низкая корреляция при $p=0,3-0,8$ для холестерина, свободных жирных кислот. Полученные значения расценивали как значимые для суммарных фосфолипидов, моноацилглицеролов, триацилглицеролов. Увеличение концентрации перечисленных критериев отражает активность метаболизма с участием фосфолипаз С, что свидетельствует о нарушении обмена нейтральных жиров.

Выводы

На фоне экспериментального острого серозного перитонита изменения в почках являются демонстрацией глубоких общеорганизменных метаболических процессов. Деструкция клеточных элементов почек нашла отражение в изменении липидного обмена, многокомпонентность которого объясняет разнонаправленность изменения динамики изучаемых критериев. Недостаточная корреляция непараметрических изменений изучаемых критериев диктует необходимость углубленного изучения дополнительных компонентов липидного спектра.

Список литературы

1. Цеймах Е.А., Кундиус С.А., Бомбизо В.А., Булдаков П.Н., Удовиченко А.В., Смирнова О.И., Макин А.А. Сравнительные данные об использовании криосупернатанта и свежезамороженной плазмы в терапии синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови у больных распространенным перитонитом // Анестезиология и реаниматология. 2014. № 2. С. 52-56.
2. Цеймах Е.А., Булдаков П.Н., Бомбизо В.А., Удовиченко А.В., Кундиус С.А., Макин А.А., Бердинских А.Ю. Лечение панкреонекроза // Journal of Siberian Medical Sciences. 2014. № 4. [Электронный ресурс]. URL: http://ngmu.ru/cozo/mos/article/text_full.php?id=1485 (дата обращения: 19.01.2019).
3. Салахов Е.К., Власов А.П. Функциональное состояние печени и почек при применении миниинвазивных хирургических технологий в лечении перитонита // Вестник Мордовского университета. 2016. Т. 26. № 3. С. 402-410.
4. Шраменко Е.К., Кузнецова И.В., Потапов В.В., Зенин О.К. Нарушения внутрпочечной гемодинамики при остром повреждении почек // Известия ВУЗов. Поволжский регион.

Медицинские науки. 2018. №2 (46). С. 107-119.

5. Мельник А.А. Нарушение липидного обмена и его коррекция при хронической болезни почек // Почки. 2016. №2 (16). С. 85-95.