

ФОСФОЛИПИДНЫЙ ОБМЕН ПРИ ОСТРОМ ПОВРЕЖДЕНИИ ПОЧЕК НА ФОНЕ ОСТРОГО ПЕРИТОНИТА

Рязанцев В.Е.¹, Власов А.П.¹

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

Выраженный воспалительный процесс при остром перитоните вызывает разнонаправленные изменения во всех органах и системах организма. Деструкция мембран клеток является отражением происходящих изменений, вызванных перекисным окислением липидов. Повреждение затрагивает почечную паренхиму – за счет изменения микроциркуляции приводит к обратимому при раннем лечении острому почечному повреждению. Экспериментальное наблюдение за 35 взрослыми собаками, которым моделировали острый серозный перитонит, показало изменения компонентов липидного спектра почек на всех этапах исследования. Острый перитонит вызывал обратимые изменения в функционировании почечной паренхимы на фоне применения адекватной инфузионной и антибактериальной терапии. Однако динамика изучаемых компонентов липидного спектра претерпела значительные перестройки, что отражает большую степень вовлеченности на клеточном уровне всех структурных элементов почек, обусловленную активацией системы липидного дистресс-синдрома. Динамика изучаемых компонентов демонстрирует низкую скорость восстановления нарушенных функций, что в конечном итоге может привести к развитию хронической болезни почек. Тяжесть операционной травмы с последующим развитием перитонита диктует необходимость детального изучения липидного обмена с целью подбора оптимальной корректирующей терапии и возможного назначения альтернативных схем лечения.

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

PHOSPHOLIPIDE EXCHANGE IN ACUTE DAMAGE OF RENAL ON THE BACKGROUND OF ACUTE PERITONITIS

Ryazantsev V.E.¹, Vlasov A.P.¹

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

The severe inflammatory process in acute peritonitis causes multidirectional changes in all organs and systems of the body. The destruction of cell membranes is a reflection of the ongoing changes caused by lipid peroxidation. Damage affects the renal parenchyma, due to changes in microcirculation, leading to reversible, with early treatment, acute renal damage. An experimental observation of 35 adult dogs, which simulated acute serous peritonitis, showed changes in the components of the lipid spectrum of the kidneys at all stages of the study. Acute peritonitis caused reversible changes in the functioning of the renal parenchyma with the use of adequate infusion and antibacterial therapy. However, the dynamics of the studied components of the lipid spectrum has undergone significant changes, which reflects the high degree of involvement at the cellular level of all structural elements of the kidneys, due to the activation of the lipid distress syndrome system. The dynamics of the studied components demonstrates a low rate of restoration of impaired functions, which ultimately can lead to the development of chronic kidney disease. The severity of surgical trauma with the subsequent development of peritonitis necessitates a detailed study of lipid metabolism, in order to select the optimal corrective therapy and the possible appointment of alternative treatment regimens.

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

Острое почечное повреждение развивается при многих хирургических и урологических заболеваниях [1]. Тяжесть нарушений коррелирует со степенью воспалительного процесса, его длительностью, адекватностью проводимой терапии, наличием сопутствующей патологии и ранее перенесенных заболеваний почек [2]. Развивающаяся эндогенная интоксикация с ишемическим компонентом, перекисным окислением липидов приводит к активации деструктивных процессов клеточных мембран

многих органов [3]. Изменения в почках при остром перитоните могут служить доказательством необходимости начала ранней коррекции сложившейся ситуации с целью предотвращения формирования стойких необратимых изменений в паренхиме почки, способных прогрессировать в хроническую болезнь почек [4]. Скучные представления об особенностях обмена фосфолипидов как структурных компонентов клеточных мембран, возможностях ранней стабилизации нарушений свидетельствуют о необходимости изучения предложенных биологических компонентов [5].

Цель исследования: оценить особенности фосфолипидного обмена в почках при серозном экспериментальном перитоните.

Материалы и методы исследования

Дизайн исследования включал 35 половозрелых беспородных собак, у которых в ходе экспериментального проспективного наблюдения на фоне острого перитонита оценивали динамику фосфолипидов почек. Сформированные группы включали 8 (первая – основная) и 27 животных (вторая группа – экспериментальная). За основу взята методика экспериментального перитонита профессора А.П. Власова (1991): под внутривенным наркозом (тиопентал натрия 0,04 г/кг массы тела животного) выполняли инъекционное введение в окологупочную область брюшинной полости 20%-ной каловой взвеси. Через 24 часа выполняли лапаротомию, визуально оценивали выраженность воспалительного процесса в брюшинной 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. Компоненты фосфолипидного обмена представлены лизофосфолипидами, сфингомиелином, фосфатидил-холином, фосфатидил-серином, фосфатидил-инозитом, фосфатидил-этаноламином, динамику которых оценивали на 1-е, 3-и, 5-е сутки послеоперационного периода. Подготовку препаратов (взятие, фиксацию, обезвоживание, уплотнение и приготовление срезов, окрашивание гематоксилин-эозином) для световой микроскопии проводили по стандартным методикам. Экстракция липидных компонентов проводилась 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

Повышение концентрации фосфолипидов не только отражает липидный обмен, но и свидетельствует о глубоких нарушениях в тканях на фоне многочисленных структурных изменений. Выявленная динамика липидных компонентов хорошо заметна в обеих группах наблюдения, она отражает изменения гомеостаза организма. Через 24 часа от начала эксперимента у животных развивался распространенный острый каловый перитонит, характеризующийся яркой воспалительной реакцией и наличием в брюшинной полости экссудата.

Макроскопические изменения в почках в 1-е сутки наблюдения не отмечены, но микроскопически выявлены ишемические очаги и венозное полнокровие коркового слоя почек. На 2-е и последующие сутки наблюдения макро- и микроскопически отмечаются увеличение размеров почек, отек их капсулы и отек паренхимы, наличие очагов кровоизлияния в мозговом слое, зон тромбоза в капиллярах клубочков за счет обтурации гиалиновыми массами. Выявленные микро- и макроизменения являются следствием нарушения системы микроциркуляции органа, активации перекисного окисления липидов и приводят к развитию острого повреждения почек. Консервативная терапия, хирургическая санация брюшинной полости значительно уменьшают выраженность острого воспалительного процесса, ведут к восстановлению нарушенных функций на 5-е сутки эксперимента. Динамика фосфолипидов как отражение части общего липидного обмена характеризует нарушения в функционировании почек как проявление острого повреждения почек на фоне общесистемной воспалительной реакции (таблица).

Динамика показателей липидного обмена почек при серозном перитоните

Период наблюдения	Показатель	Лизофосфолипиды	Сфингомиелин	Фосфатидил-холин	Фосфатидил-серин	Фосфатидил-инозит	Фосфатидил-этанолламин
Исход	M±m	0,716±0,025	6,258±0,130	17,665±0,153	19,619±0,280	8,236±0,319	43,553±0,5
	95%-ный ДИ	[0,663; 0,769]	[5,990; 6,527]	[17,349; 17,984]	[19,043; 20,194]	[7,581; 8,890]	[42,526; 44,581]
	5%-ный M	0,715	4,014	17,665	19,678	8,213	43,597
	Me	0,720	6,244	17,534	20,226	8,236	43,551
Модель	M±m	4,079±0,447	9,327±0,162	19,260±0,263	17,068±0,260	18,147±0,183	33,882±0,322
	95%-ный ДИ	[3,380; 4,353]	[8,992; 9,661]	[18,727; 19,811]	[16,535; 17,602]	[17,771; 18,522]	[33,863; 34,544]

	5%- ный М	4,082	9,334	19,260	17,167	18,134	33,863
	Me	3,890	9,576	19,585	17,122	18,010	34,221
1-е сут- ки	M±m	4,772±0,127	11,564±0,25 2	20,654±0,18 1	13,728±0,31 2	19,619±0,28 0	30,582±0,35
	95%- ный ДИ	[4,511; 5,033]	[11,044; 12,084]	[20,282; 21,026]	[13,087; 14,368]	[19,043; 20,043]	[29,862; 31,303]
	5%- ный М	4,767	11,586	20,561	13,710	19,678	30,590
	Me	4,740	11,761	20,552	13,764	20,226	30,874
3-и сут- ки	M±m	3,343±0,134	9,981±0,171	33,952±0,32 3	11,357±0,17 7	12,765±0,36 8	28,470±0,24 9
	95%- ный ДИ	[3,066; 3,620]	[9,620; 10,333]	[33,287; 34,617]	[10,994; 11,720]	[12,008; 13,522]	[27,958; 28,982]
	5%- ный М	3,314	9,926	33,942	11,362	12,718	28,432
	Me	3,567	9,769	34,221	11,221	12,424	28,542
5-е сут- ки	M±m	2,909±0,172	9,590±0,118	28,469±0,24 9	18,147±0,18 3	11,407±0,17 7	31,030±0,27 6
	95%- ный ДИ	[2,554; 3,264]	[9,346; 9,833]	[27,957; 28,982]	[17,771; 18,552]	[11,044; 11,771]	[30,463; 31,597]
	5%- ный М	2,862	9,584	28,432	18,134	11,417	31,006
	Me	2,876	9,654	28,542	18,010	11,534	31,221

Уровни медианы, 5%-ного усеченного среднего и среднего лизофосфолипидов укладываются в пределы 95%-ного доверительного интервала [0,663; 0,769] и не имеют статистически значимых различий. Границы интервала «Исход» достаточно узкие, и увеличение медианы, 5%-ного усеченного среднего и среднего в группе «Модель» свидетельствует о резком всплеске (больше 80%) показателя. Кроме того, границы 95%-ного доверительного интервалов «Исход» и «Модель» не имеют зон перекрытия и находятся на значимом расстоянии. Критерий Кендалла χ^2 27, взаимосвязь критерия 1,0 ($p=0,000$) указывают на низкую взаимосвязь двух значений и статистическую разницу полученных данных, что позволяет сделать вывод об отличии показателей в группах «Исход» и «Модель».

Дальнейший математический анализ и построение графических данных указывают на повышение уровня лизофосфолипидов к концу 1-х суток наблюдения и плавное снижение к 5-м суткам. На 1-е сутки верхний и нижний квартили перекрываются со значениями в группе «Модель» и являются самыми высокими за всю продолжительность эксперимента. Резкое повышение показателя свидетельствует о серьезном нарушении, обусловленном общим воспалительным ответом организма, явлениями ишемии. На 3-и и 5-е сутки наблюдения

границы 95%-ного доверительного интервала значительно перекрываются. Средние значения и медиана находятся на небольшом расстоянии, что свидетельствует о коротком сроке наблюдения и необходимости дальнейшего определения концентрации лизофосфолипидов через 5 и более суток. Многократное увеличение лизофосфолипидов в группе «1-е сутки» по сравнению с «Исход» позволяет использовать критерий как среднезначимый (коэффициент корреляции Спирмена = 0,6 при $p=0,001$).

Рассчитаны статистические значения для концентрации сфингомиелина в группах «Исход» и «Модель». Границы 95%-ного доверительного интервала перекрываются незначительно, 25%-ный и 75%-ный квартили не имеют точек соприкосновения и находятся на значительном расстоянии, 5%-ное усеченное среднее, медиана и среднее значение имеют статистически значимые результаты ($p=0,000$). Однако коэффициент корреляции tau-b Кендалла показывает незначимую связь (коэффициент корреляции = 0,461 при $p=0,001$). Таким образом, увеличение концентрации сфингомиелина демонстрирует среднюю информативность в качестве критерия, отражающего степень выраженности деструктивного процесса при остром повреждении почек на фоне острого перитонита.

Дальнейшая динамика сфингомиелина на 1–5-е сутки оценивалась по границам 95%-ного доверительного интервала, 25%-му и 75%-му квартилям. Средние значения отличались численно, но зоны перекрытия доверительного интервала и квартили не доказывают значимой динамики изучаемого критерия. С целью статистической оценки графических данных использовали коэффициент Кендалла, равный 0,478 при $p=0,000$, который свидетельствует о слабой информативности тяжести процесса по концентрации сфингомиелина. В целом критерий может быть использован как промотор, отражающий начало деструктивных изменений в почках на 1-е сутки и не являющийся значимым критерием для отражения степени тяжести процессов, происходящих в органе. Концентрация сфингомиелина остается высокой все 5 суток наблюдения, отражая глубокие функциональные, возможно, и морфологические перестройки в почках на фоне изучаемого патологического процесса.

Динамика концентрации фосфатидил-холина в группах «Исход», «Модель», «1-е сутки» не столь заметна в графическом исполнении, поскольку границы 95%-ного доверительного интервала, 25%-ного и 75%-ного квартилей имеют значительные зоны перекрытия. Группа «Модель» включает значения «Исход» и «1-е сутки», что при расчете критерия Кендалла $\chi^2 27$ (взаимосвязь критерия 1,0, $p=0,000$) указывает на низкую информативность критерия, отражающего степень деструктивных процессов. Медиана, 5%-ное усеченное среднее и среднее значения находятся в пределах 25%-ного и 75%-ного квартилей, но значительного прироста этих показателей не наблюдается. Низкие значения в

1-е сутки наблюдения определяются компенсаторными возможностями организма. Значительный прирост лецитина отмечается на 3-и сутки, постепенное снижение концентрации – к 5-м суткам. Увеличение на 40% уровня фосфатидил-холина на 5-е сутки по сравнению с группой «Исход» объясняется продолжающимися функциональными и морфологическими перестройками тканей организма. Использование непараметрического критерия Кендалла выявило достаточную взаимосвязь всех групп (статистика W Кендалла 0,749, χ^2 80,908, $p=0,000$), что позволяет использовать лецитин как показатель, отражающий тяжесть состояния в поздние сроки наблюдения.

Графическая модель изменения концентрации фосфатидил-серина отражает плавное снижение показателя во всех группах, и только к 5-м суткам отмечается возвращение значения до исходных цифр. Для всех групп статистика критерия W Кендалла 0,939, χ^2 101,4, $p=0,000$ демонстрирует высокую преимственность фосфатидил-серина как надежного показателя, отражающего степень тяжести состояния почек. Медиана, среднее и 5%-ное усеченное среднее значимо различаются во всех группах, что позволяет использовать критерий для оценки деструктивного процесса. Коэффициент корреляции tau-b Кендалла показывает незначимую связь (коэффициент корреляции = 0,006 при $p=0,001$) для значений в группах «Модель» и «5-е сутки», что отражает значимую динамику критерия за весь период наблюдения. Фосфатидил-серин является компонентом внутреннего слоя мембраны клеток, и столь значительное изменение его уровня по сравнению с группой «Исход» свидетельствует не только о функциональных нарушениях, но и о некрозе клеток.

Средние значения всех групп наблюдения, 25%-й и 75%-ный квартили, 95%-ный доверительный интервал для фосфатидил-инозита обладают статистической значимостью и находятся во взаимосвязи с расположенными рядом значениями при коэффициенте конкордации 0,895, χ^2 96,62, $p=0,000$. Графическая модель одномерного распределения вероятностей отражает плавную динамику роста показателя в группе «Модель» и увеличение в 1-е сутки наблюдения. Затем регистрируется снижение на 3-и и 5-е сутки наблюдения. Особенностью динамики фосфатидил-инозита является неоднородность распределения данных в 1-е сутки наблюдения – около 20% значений находятся ниже границы 95%-ного доверительного интервала. Нижняя граница 95%-ного доверительного интервала совпадает с 75%-ным квартилем. Кроме того, эти значения совпадают со значениями группы «Модель», что демонстрирует возможность использования этого критерия в ранние сроки наблюдения, но дифференцировать степень нарушений в ранние сроки не удастся. Повышение концентрации показателя на 3-й и 5-й дни наблюдения демонстрирует одинаковое значение медианы и перекрывание границ 95%-ного доверительного интервала. Динамику изменения уровня фосфатидил-инозита можно использовать как значимый критерий начала

деструктивных процессов в организме (статистика критерия W Кендалла 0,895, χ^2 96,629, $p=0,000$, для значений в группах «Исход», «Модель», «5-е сутки»), но судить о степени тяжести ишемических и деструктивных процессов не удастся (коэффициент конкордации Кендалла 0,135, χ^2 67,432, $p=0,001$, для значений в группах «Модель», «1-е сутки», «3-и сутки», «5-е сутки»).

Критерий фосфолипидного обмена – фосфатидил-этаноламин, являясь структурным компонентом клеточной мембраны и участником обменного процесса, показал идеальную с точки зрения статистики математическую модель распределения всех расчетных значений. Исходные значения обладают нормальным распределением, границы 25%-ного и 75%-ного квартилей и 95%-ного доверительного интервала не имеют зон перекрытия со значениями других групп. С началом эксперимента отмечается резкое снижение показателя во всех временных промежутках, далее они не достигают исходных значений. Статистика критерия W Кендалла 0,908, χ^2 96,62 ($p=0,000$) отражает высокую значимость критерия как диагностического маркера начала деструктивных изменений в почках. Длительное снижение концентрации фосфатидил-этанолamina свидетельствует о глубоких нарушениях фосфолипидного обмена и невозможности быстрого восстановления нарушенных функций в короткие сроки.

Обмен фосфолипидов является тонким механизмом, отражающим глубокие перестройки в организме. Стрессовая «надпороговая» ситуация при развитии острого перитонита запускает каскад реакций, проявлением которого является выраженный дисбаланс в соотношении всех липидных фракций. Кроме того, хирургическая рана какотягощающий компонент эксперимента вносит свою лепту в динамику изучаемых компонентов. Нарушение микроциркуляции, ишемия проявляются снижением защитных свойств почечной ткани и развитием острого повреждения. Патологический круг выраженных морфофункциональных изменений разрывается после начала терапии, что демонстрирует динамика всех изучаемых липидов, особенно выраженная у фосфатидилинозита, фосфатидил-этанолamina, лизофосфолипидов. Остальные показатели не столь информативны в 1-е сутки наблюдения. Однако сфингомиелин, фосфатидил-холин, фосфатидил-серин дольше сохраняют отличные от начальных значений показатели, являясь «критерием» контроля тяжести состояния. Стадия выздоровления у животных подтверждалась наличием позитивных общефункциональных изменений в поведении и подтверждена лабораторно. Графический компонент, отражающий динамику критериев, демонстрирует плавное стремление кривой к начальному уровню показателя. Через 5 суток ни один из изучаемых критериев не вернулся к исходному значению. Соотношение липидов также меняется на всем протяжении эксперимента. Отмечено увеличение

лизофосфолипидов, сфингомиелина, фосфатидил-холина и фосфатидил-инозита. Концентрация фосфатидил-серина и фосфатидил-этаноламина снижается. Увеличение лизофосфолипидов и снижение концентрации суммарных фосфолипидов [6] свидетельствуют о деструкции клеточных мембран и нарушении функционирования почечной паренхимы, что во многом определяет дезинтоксикационную функцию организма.

Выводы. Патологические процессы, связанные с развитием острого перитонита и наличием операционной раны, в конечном итоге приводят к нарушениям всех видов обмена. Динамика липидных фракций отражает степень деструктивных нарушений, развивающихся в тканях. Изучаемый нами липидный обмен почек демонстрирует, что качественно-количественное соотношение липидов меняется, связано оно с временным промежутком воздействия фактора, адекватностью проводимого лечения. Функциональные изменения в почках обратимы, но даже столь кратковременные патологические факторы приводят к развитию острого повреждения почек. Статистический анализ выявил возможность использования фосфатидил-инозита, фосфатидил-этаноламина, лизофосфолипидов как критериев, демонстрирующих начало деструктивных процессов в организме. Степень тяжести, связанную с ишемическим поражением почек, отражают сфингомиелин, фосфатидил-холин, фосфатидил-серин. Начальные показатели изучаемых компонентов в 2 раза отличаются от значений на 5-е сутки наблюдения, что свидетельствует о длительности восстановительного периода почек. Нарушение фосфолипидного обмена почек является звеном одной цепи в развитии необратимого острого повреждения, требующего детального длительного изучения с целью оптимальной коррекции нарушенных процессов. Изменение соотношения концентрации липидных фракций обусловлено разрушением клеточных мембран, снижением функции почек и при наличии продолжительного воздействия – гибелью функционирующих нефронов с формированием стойких изменений, проявляющихся острым почечным повреждением.

Список литературы

1. Смирнов А.В., Каюков И.Г., Добронравов В.А., Румянцев А.Ш. Острое повреждение почек: концептуальные проблемы // Нефрология. 2014. № 2. С. 8-24.
2. Соколов Д.В., Полушин Ю.С. Острое почечное повреждение в периоперационном периоде // Вестник анестезиологии и реаниматологии. 2018. № 1. С. 46-54.
3. Югай К.С., Бейникова И.В., Снытина В.А., Молотов-Лучанский В.Б., Муравлёва Л.Е., Бакирова Р.Е., Ключев Д.А. Механизмы повреждения почек при отравлении суррогатами алкоголя // Современные проблемы науки и образования. 2016. № 2. [Электронный ресурс].

URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=24214> (дата обращения: 04.09.2019).

4. Жданова Т.В., Борзунова Н.С., Назаров А.В. Особенности липидного обмена у пациентов с хронической болезнью почек и влияние гиполипидемических препаратов на почечную гемодинамику // Атеросклероз и дислипидемии. 2014. № 4 (17). С. 5-13.

5. Ибрагимова Х.О., Зиямухамедов А.Н. Дислипидемия у больных с нефротическим синдромом в подростковом возрасте // Молодой ученый. 2017. № 7. С. 149-151.

6. Власов А.П., Рязанцев В.Е. Особенности липидного обмена почек при остром перитоните // Современные проблемы науки и образования. 2019. № 2. [Электронный ресурс]. URL: <http://base.garant.ru/70571454/#ixzz5PePmJPIV> (дата обращения: 04.09.2019).