

**Динамика показателей токсичности плазмы крови и лимф у крыс
апостематозным пиелонефритом**

А.В.Карпов, Ю.В.Начаров, К.В.Лошаков

*ГОУ ВПО Новосибирский государственный медицинский университет
Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию, г. Новосибирск*

Введение. Проблема заболевания почек в современной медицине стоит достаточно остро. Это одна из наиболее часто встречаемой патологии в клинической практике врачей любой специальности. По данным ВОЗ за 1998 год удельный вес инфекции мочевых путей составляет 75% среди заболеваний бактериальной этиологии. Острый пиелонефрит и его осложнения занимают особое положение в почечной патологии, как наиболее часто встречающееся заболевания [10, 13] (Рубцов Ю.С., 1986; Saoji R., Samujh R., Rao K.L.N. et al., 1993).

Итогом многочисленных исследований явилось то, что по многим аспектам современные представления о гнойных поражениях почки и забрюшинной клетчатки отличаются от предыдущих концепций, считаемых твердо установленными. Что касается полного выздоровления, то, несмотря на применение самых мощных антибиотиков и химических антибактериальных препаратов, благоприятный прогноз при данной патологии ставится под сомнение [1, 11].

Рядом отечественных и зарубежных авторов, как в экспериментальной так и в практической медицине, указывается на исключительную роль регионарной лимфоциркуляции почки. Внутриорганный лимфатический аппарат активно вовлекается в деструктивный воспалительный процесс вместе с другими элементами почек [9]. Деструкция внутриорганный лимфатический системы приводит к тому, что она теряет способность резорбировать белковые метаболиты из интерстициальной жидкости, что дополняется механической недостаточностью вследствие блокады лимфатических коллекторов в почечном синусе, а это ведет к диффузному лимфостазу, воспалительному отеку и нарушению функции почки.

Целью данного исследования явилось изучение соотношения основных маркеров эндотоксикоза в плазме и лимфе в динамике экспериментального апостематозного пиелонефрита.

Материал и методы исследования. Работа выполнена на 60 белых крысах-самцах породы «Вистар» массой 200-230 гр. Животные содержались в клетках, при температуре окружающего воздуха 20-22⁰С и получали стандартный пищевой рацион.

Использовался метод забора лимфы, разработанный совместно кафедрой патофизиологии Новосибирского государственного медицинского университета и лабораторией патофизиологии Института клинической и экспериментальной лимфологии СО РАМН.

Описано несколько способов моделирования апостематозного пиелонефрита и карбункула почки у экспериментальных животных. В большинстве случаев (по данным клинических наблюдений) АП возникает как осложнение вторичного острого пиелонефрита осложненного уростазом и значительно реже развивается при ненарушенном оттоке мочи вследствие «метастатического» поражения гнойной инфекцией, которая попадает в почку с кровью [7] (Камаев М.Ф., 1970). Наиболее частым возбудителем острого пиелонефрита является *Esch. coli* [1, 8] (Люлько А.В., Горев Б.С., Кондрат П.С., 1989). Для создания модели заболевания разработана оригинальная модель, отличающаяся от описанных ранее в литературе тем, что для обтурации мочеточника использована полоска перчаточной резины, выведенная на переднюю брюшную стенку. Это обеспечивает мягкое сдавливающее воздействие на мочеточник, снижая его травматизацию. При этом исключается повторная операция для разрешения уростаза. Под эфирным наркозом у животных выполняли косой подвздошный разрез справа. Аккуратно, крючком Фарабефа, кишечник сдвигается влево, освобождая правую почку. Из жировой клетчатки, тупым способом выделяется мочеточник и берется на лигатуру из тонкой перчаточной полоски. Иглой тонкого диаметра производится инъекция 5% каловой взвеси 0,3-0,4 мл в полостную систему и под капсулу почки. Место пункции, во избежании истечения взвеси и развития перитонита обрабатывается медицинским клеем БФ. Операционная рана послойно ушивалась наглухо, при этом концы перчаточной резины выводятся на переднюю брюшную стенку. На 3 сутки после оперативного вмешательства перчаточная резина удаляется, восстанавливается отток мочи, что подтверждается данными урограммы. Операционный шов обрабатывался антисептиками с наложением глухой повязки [9].

Животные были разбиты на две группы: 1-я – ложнооперированные животные; 2-я – животные с экспериментальной моделью апостематозного пиелонефрита.

В современной лабораторной практике нет единого маркера эндотоксикоза, который бы отвечал всем требованиям [12]. В исследовании использовались методы определения токсичности плазмы крови как на простейших, так и по уровню молекул средней массы [3] (Габриэлян Н.И. и соавт., 1981). Одним из достоинств биологического метода является то, что

токсические вещества не только воздействуют на простейших снаружи, но и активно поглощаются ими. В эксперименте использовалась стандартная культура реснитчатой инфузории *Paramecium caudatum*. Исследования проводили по следующей методике: на предметное стекло помещали 0,01 мл плазмы крови и равный объем питательной среды, содержащий от 8 до 10 парамеций. Обе капли тщательно смешивали, включали секундомер. Стекло помещали под микроскоп (увеличение $\times 70$), регистрировали момент потери подвижности парамеций. С каждой пробой плазмы идентичные исследования повторяли трижды, высчитывая средний результат. Уровень молекул средней массы определяли следующим образом. 0,25 мл плазмы крови смешивали с 0,12 мл 10% ТХУ и центрифугировали при 3000 об/мин в течение 30 минут. 0,12 мл супернатанта смешивали с 1,12 мл дистиллированной воды. На спектрофотометре СФ-46 при длине волны 254 нм определяли уровень молекул средней массы [2, 3] (Габриэлян Н.И. и соавт., 1981, Владыка А.С.1987). Для определения степени интоксикации с воспалительными заболеваниями брюшинного пространства использовалась формула, разработанная Я.Я.Кальф-Калифом [6].

Статистическая обработка полученных данных включала подсчет среднеарифметических (M) значений и их ошибок (m), а также относительных величин (X) и их ошибок (Sx). Расчет производился на компьютере, в операционной среде Windows 95 с применением пакета электронных таблиц EXCEL 7.0. Различие сравниваемых средних $M+m$ принимались за достоверные при $P < 0,05$.

Результаты исследования и обсуждение. Выделительная функция почек, доминантная по отношению к их строению, выражена экономно и изящно [4]. Почки – компактный орган сложной конструкции, в котором максимально использованы многократные контакты переплетенных кровеносных, лимфатических сосудов и эпителиальных канальцев. Высокая специализация данного органа подчёркивается его особой структурой, чётко локализованной и неповторяющейся в других участках тела, а жизненная

важность выполняемой функции – дублированием органа, симметричным расположением двух почти одинаковых элементов. Учитывая вышесказанное, необходимо подчеркнуть повышенную уязвимость мочевыделительной системы перед экзо- и эндогенными факторами патологического процесса [5] (Светухин А.М., Карлов В.А., Амирасланов Ю.А. и др., 1990).

Изучение изменений уровня средних молекул (СМ) в плазме крови и лимфе при АП показало, что патологический процесс на фоне компенсаторных возможностей организма имеет особенности развития и течения. У ложнооперированных животных содержание СМ в плазме крови на протяжении всего послеоперационного периода не отличалось от такового у интактных крыс. У животных с АП концентрация СМ в плазме крови на 1 – 14-е сутки эксперимента была выше, чем у контрольных крыс на 36%, 44%, 32% и 19% соответственно. У ложнооперированных животных содержание СМ в лимфе на протяжении всего послеоперационного периода не отличалось от такового у интактных крыс. У животных с АП концентрация СМ в лимфе на 1 – 14-е сутки эксперимента была выше, чем у контрольных крыс на 19%, 42%, 31% и 22% соответственно.

Биологическое исследование токсичности с помощью парамецийного теста, позволяющее визуально определять агрессивное воздействие сред на культуру простейших, является чувствительным и показательным методом. Исследование, проводимое одновременно в трёх средах лимфе, сыворотке крови и в моче позволяют не только определить уровень токсичности, но и в сравнении, друг с другом, составить картину характерную для данного патологического состояния. Одновременное графическое изображение токсичности по средам достаточно точно отражает рост интоксикации, подчёркивая особенности той или иной патологии.

Наибольшая агрессивность лимфы при АП определяется в период с 1-х по 3-и сутки. Снижение жизнеспособности парамеции в лимфе составляет в среднем на 32-43%. В последующих наблюдениях отмечается постепенное снижение токсичности, жизнеспособность парамеции возрастает к 7-м суткам на 23% ниже контрольной группы. Однако дальнейшее наблюдение

позволило нам зафиксировать повторную атаку токсического агента на организм. Так к 14-м суток жизнеспособность парамеции снижается до 32%, что может быть вызвано новым выбросом в лимфатическую систему экзо- и эндотоксинов. Последующая динамика характеризуется медленным ростом устойчивости парамеции к агрессивной среде и к 21-м суткам время жизни в лимфе снижено на 18-19%.

На табл. 4.5. представлена динамика лейкоцитарной индекса интоксикации в крови животных с экспериментальным АП. У ложнопериоперированных животных ЛИИ периферической крови на протяжении всего послеоперационного периода не отличалось от такового у интактных крыс. У животных с АП показатели ЛИИ в крови на 1 - 21-е сутки эксперимента была выше, чем у контрольных крыс в 4.25, 5.3, 4.25, 3.5 и 2.3 раза соответственно.

У животных 1-й группы общее количество лейкоцитов крови на протяжении всего послеоперационного периода не отличалось от такового у интактных крыс. У животных с АП содержание лейкоцитов в крови на 1 - 21-е сутки эксперимента была выше, чем у контрольных крыс на 26%, 32%, 37%, 48% и 34% соответственно.

У ложнопериоперированных животных процент лимфоцитов в крови на протяжении всего послеоперационного периода не отличалось от такового у интактных крыс за исключением 3-х суток когда содержание лимфоцитов в крови было на 14% ниже чем в контроле. У животных с АП процентное содержание лимфоцитов в крови на 1 - 21-е сутки эксперимента было ниже, чем у контрольных крыс на 24%, 32%, 40%, 42% и 38% соответственно.

Процентное содержание моноцитов крови у животных 1-й группы на протяжении всего послеоперационного периода не отличалось от такового у интактных крыс за исключением 3-х суток когда содержание моноцитов в крови было на 36% выше чем в контроле. У животных с АП процентное содержание моноцитов в крови на 1 - 21-е сутки эксперимента было выше, чем у контрольных крыс 2.2, 2.5, 3.1, 3.3 и 2.6 раза соответственно.

Таким образом, полученные данные показывают снижение барьерной функции лимфатической системы, что подтверждается развитием токсемии и токсиколимфии. У животных с АП на 1-14-е сутки эксперимента отмечалось существенное повышение концентрации средних молекул в плазме крови и лимфе, снижение времени жизнедеятельности парамеций в обеих средах. Этот факт подчеркивает взаимосвязь между токсичностью крови и лимфы. Однако определить источник токсичности

достаточно сложно. Если предположить, что образование средних молекул происходит в результате протеолиза в крови, то можно сказать об эндогенном происхождении токсикоза. При этом вероятно снижение детоксикационной функции печени. Другим источником средних молекул могут явиться продукты либо тканевого (почечного) либо бактериального распада [14]. В этом случае возможно снижение детоксицирующей функции лимфатической системы и «прорыв» белковых токсических веществ через лимфатический барьер (узел). А высокий уровень токсичности лимфы неизбежно ведёт к токсемии и эндотоксикозу [12]. Токсемия и токсилемия приводит к активации микро- и макрофагальной активности лейкоцитов, что усиливает распад различных клеточных элементов и, следовательно, нуклеопротеинов.

Заключение. Исследование токсичности плазмы крови и лимфы при экспериментальном апостематозном пиелонефрите показали значительный рост уровня средних молекул и ЛИИ в 42% и 37% соответственно, снижение в 1,9 раз жизнеспособности парамеции в динамике наблюдения патологического процесса и достигало максимальных величин с 7-х по 14-е сутки исследования.

Список литературы

1. Бухарин О.В., Гриценко В.А., Дерябин Д.Г. Место внутривидового фенотипического разнообразия в экологии *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus*. // Вестн/ РАМН/ - 1997. - N 3. – С-34-40.
2. Владыка А.С., Левицкий Э.Р., Поддубная Л.П. и др. Средние молекулы и проблема эндогенной интоксикации при критических состояниях различной этиологии // Анестезиол. и реаниматол. - 1987. - N 2. - С. 37 - 42.
3. Габриэлян Н.И., Дмитриев А.А., Кулаков Г.Н и др. Диагностическая ценность определения средних молекул в плазме крови при нефрологических заболеваниях // Клин. мед. - 1981. - N 10. - С. 38 - 42.
4. Зильбер А.П. Медицина критических состояний. - Петрозаводск: Изд-во Петрозаводского ун-та, 1995. - 360с.
5. Илюкевич Г.В. Абдоминальный сепсис: новый взгляд на нестареющую проблему // Мед. новости. - 2001. - N 9. - С.35-41.
6. Кальф - Калиф Я.Я. О лейкоцитарном индексе интоксикации и его прогностическое значение // Врач. дело. - 1941. - N 1. - С. 31 - 36.

7. Камаев М.Ф. Инфицированная рана и ее лечение. - М.: Медицина, 1970. – 231с.
8. Люлько А.В., Горев Б.С., Кондрат П.С. Пиелонефрит. - Киев: "Здоров я", 1989. - 274 с.
9. Рубцов Ю.С. Острый обструктивный пиелонефрит (экспериментальное исследование) // Урол. и нефрол. - 1986. - N 4. - С. 22 - 24.
10. Светухин А.М., Карлов В.А., Амирасланов Ю.А. и др. Общие принципы лечения гнойных ран и гнойных хирургических заболеваний // Хирургия. - 1990. - N 12. - С. 79 - 84.
11. Balk R. Severe sepsis and septic shock. Definitions, Epidemiology and Clinical Manifestations // Crit. Care Clin.- 2000.- Vol.16. - N 2. - P.214-226.
12. Saoji R., Samujh R., Rao K.L.N. et. al. Psoas Abscess - Drainage Through Petit's Triangle // Sour.Ped.Surg.Int. - 1993. - V. 8. - N 4. - P. 316 - 317.
13. Watanabe D.S.A., Michelin L.A., Montelli A.C. Urinary tract infections by Escherichia coli-correlation of virulence, serogroups and clinical characteristics. // Rev. bras. Patol. Clin. – 1991. Vol. 27. - N 4. - P.111-117.

Таблица № 1

**Динамика содержания средних молекул в плазме крови и лимфе (у.е.)
при АП**

Сроки эксперимента	1-я группа		2-я группа	
	кровь	лимфа	кровь	лимфа
Контроль	0,25 + 0,02	0,27 + 0,022	0,25 + 0,02	0,27 + 0,022
1-е сутки	0,29 + 0,011	0,31 + 0,021	0,34+0,018*	0,48+0,028*
3-и сутки	0,33 + 0,02	0,30 + 0,019	0,36+0,019*	0,44+0,031*

7-е сутки	0,27 + 0,01	0,29 + 0,011	0,33+0,011*	0,42+0,019*
14-е сутки	0,25 + 0,021	0,26 + 0,01	0,29+0,012*	0,39+0,027*
21-е сутки	0,29 + 0,024	0,30 + 0,027	0,27+0,015	0,31+0,029

Примечание: здесь и далее * - обозначены величины, достоверно ($P < 0,05$) от контрольных значений.

Таблица № 2

**Динамика парамецийного теста в плазме крови и лимфе (секунды)
при АП**

Сроки эксперимента	1-я группа		2-я группа	
	кровь	лимфа	кровь	лимфа
Контроль	21,1 + 1,61	20,6 + 1,66	21,1 + 1,61	20,6 + 1,66
1-е сутки	19,6 + 1,31	18,9 + 1,21	17,0+0,87*	13,6+0,64*
3-и сутки	17,4 + 0,73	17,9 + 0,94	12,3+0,94*	9,5+0,65*
7-е сутки	19,8 + 1,25	21,1 + 0,93	14,5+1,24*	11,1+1,10*
14-е сутки	20,6 + 1,34	20,1 + 1,41	16,5+0,99*	14,1+1,17*
21-е сутки	19,1 + 1,04	20,9 + 2,00	18,6+0,83	17,1+0,88

Примечание: здесь и далее * - обозначены величины, достоверно ($P < 0,05$) от контрольных значений.

Таблица № 3

Динамика индекса лейкоцитарной интоксикации в крови при АП

Сроки эксперимента	1-я группа	2-я группа
Контроль	1,2 + 0,08	
1-е сутки	1,9 + 0,16	5,1+0,32*
3-и сутки	2,1 + 0,13	6,4+0,18*
7-е сутки	2,2 + 0,24	5,1+0,13*
14-е сутки	1,7 + 0,21	4,2+0,41*
21-е сутки	1,6 + 0,09	2,8+0,24*

Примечание: здесь и далее * - обозначены величины, достоверно ($P < 0,05$) от контрольных значений.