

Двустороннее нефропротективное влияние новокаиновой блокады в условиях моделирования односторонней ишемии-реперфузии почки в эксперименте

Two-sided nephroprotective effect of novokain blockade in the experiment with one-sided ischemia-reperfusion of the kidney

O.I. Kit, E.M. Frantsiyants, S.N. Dimitriadi, I.V. Kaplieva, L.K. Trepitaki, D.A. Shvirev, N.D. Cheryarina, Y.A. Pogorelova

Acute renal damage is a frequent consequence of the prolonged warm kidney ischemia during the operation, which could affect the contralateral kidney being estimated as healthy before the operation.

The aim of this study was the investigation of the one-side ischemia-reperfusion effect on the both kidneys and of the nephroprotective action of the novokain blockade in these conditions. The study model was "two kidney – one clamp". The splanchnic plexus blockade using 0.1 ml of 2% novokain solution was carried out through the injection on the left side paranephric. Sixty white inbred female and male mice were used (body weight 200-250 g for young and 300-350 g for old animals, respectively). Interleukin 18 (IL-18) and L type protein binding the fatty acids (L-FABP) concentrations were measured using ELISA. Monolateral experimental ischemia (20 minutes) led to the changes of the markers' concentration in both kidneys. Intensity and dynamics of the alterations were dependent on the sex and age of the animals. Novokain blockade of the splanchnic branches showed protective effect on the distal renal channels of both kidneys, stemming from ischemia-reperfusion damage.

О.И. Кит, Е.М. Франциянц, С.Н. Димитриади, И.В. Каплиева, Л.К. Трепитаки, Д.А. Швырев, Н.Д. Черярина, Ю.А. Погорелова
ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России

Актуальным современным подходом при оперативном лечении локализованных форм рака почки является активное использование органосохраняющей хирургии, основанное на стремлении специалистов к сохранению как можно большего объема функционирующей почечной ткани [1-3]. На целесообразность использования этого подхода указывают результаты исследований, демонстрирующие неблагоприятное влияние нефрэктомии на продолжительность жизни больных и риск развития у них сердечнососудистых заболеваний вследствие развития хронической почечной недостаточности (ХПН) [4, 5]. По данным ряда авторов [6, 7], в значительной части случаев после проведения лапароскопической или открытой резекции почки в условиях длительной тепловой ишемии (ТИП) у больных со здоровой контралатеральной почкой развивалась клиническая картина острого повреждения почек (ОПП). Эти результаты подтверждаются мнением других исследователей о неблагоприятном влиянии длительной тепловой ишемии на функцию почки в послеоперационном периоде [8], т.е. после реперфузии, и ослаблении способности резцированного органа к поддержанию гомеостаза [9, 10]. То есть, компенсаторная активация работы контралатеральной почки оказывается недостаточной для достижения удовлетвори-

тельного уровня почечной функции. Мы полагаем, что одной из причин развития ОПП после длительной ТИП может быть дисфункция контралатеральной почки, которая до операции была оценена как здоровая.

Естественно, большое значение имеет предупреждение или минимизация повреждения почечной ткани при ишемии-реперфузии. В этой связи, определение высокочувствительных маркеров, которые позволяли бы судить о ранних этапах развития острого повреждения почечных структур в динамике реперфузии, является актуальной задачей.

Целью данной работы является изучение влияния односторонней ишемии-реперфузии почки на состояние функции обеих почек, а также оценка нефропротективного воздействия новокаиновой блокады в условиях моделирования односторонней ишемии-реперфузии почки в эксперименте.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

При проведении исследования соблюдали международные правила гуманного обращения с экспериментальными животными [European Treaty Series – No. 123, 1986].

В работе использованы 60 белых беспородных крыс обоего пола массой 200-250 г (молодые животные) и 300-350 г (старые животные). Исследование проводилось на модели «две почки, один зажим». Наркотизированные животные размещались в положе-

нии на спине. Шерсть на животе удаляли, операционное поле обрабатывали 70° этиловым спиртом. Разрез проводили вдоль белой линии живота от мечевидного отростка грудины до лобка, рассекали кожу и соединительную ткань. Выделяли сосудистую ножку правой почки, которую затем клипировали зажимом Холстеда на 20 минут. Рану на протяжении периода ишемии прикрывали салфеткой, смоченной стерильным физ. раствором. Через 20 минут зажим с почечной ножки снимали, тем самым восстанавливали кровоснабжение ишемизированной почки (реперфузия), операционную рану ушивали послойно. Через определенные промежутки времени от момента реперфузии (1 час, 3 часа, 48 часов) крыс умерщвляли декапитацией на гильотине. Для исследования забирали правую (ишемизированную) и контралатеральную почки, выделяли корковый слой; 100 мг ткани промывали фосфатно-солевым буфером (PBS), гомогенизировали в 1 мл 1x PBS и оставляли на ночь при температуре минус 20 °С. Для полного разрушения клеточных мембран проводили два цикла замораживания-оттаивания. Полученную суспензию центрифугировали 5 мин при 5000 g (2-8°С). Супернатант отбирали, делили на аликвоты и хранили при температуре минус 20°С или минус 80°С. Перед измерением размороженные образцы центрифугировали.

Блокаду левых ветвей чревного сплетения осуществляли путем введения 0,1 мл 2% раствора новокаина в паранефральную клетчатку левой почки непосредственно перед проведением процедуры ишемии и повторно перед реперфузией. Использовали «очень небольшой объем», но

достаточно большую концентрацию анестетика – 2% (дозировка препарата была терапевтической для животных данного вида и веса). Известно, что раствор местного анестетика малой концентрации, введенный в большом объеме, широко распространяется в тканях, однако, его диффузия в мембрану нервного волокна незначительна. Выбор соотношения доза/вводимый объем был обусловлен имеющимися указаниями на то, что небольшое количество более концентрированного раствора анестетика распространяется в тканях менее интенсивно, но лучше диффундирует в мембрану нервного волокна, что и требовалось достичь в нашем эксперименте. Повторное введение новокаина перед реперфузией было обусловлено стремлением избежать снижения местноанестезирующей активности новокаина, вызываемого развивающимся при гипоксии ацидозом. Кроме того, увеличение проницаемости сосудов и отек тканей также способствует снижению концентрации местного анестетика на рецепторе, а соответственно и его активности. Разделение вводимой дозы новокаина на две порции позволяет ослабить токсическое действие этого препарата, которое может снизить достоверность получаемых результатов.

Исследование маркеров острого повреждения почек в ткани коркового вещества почек проводили методом иммуноферментного анализа (ИФА) с применением стандартных тест-систем: интерлейкин 18 (ИЛ18) фирмы «eBioscience» (США) и L-тип белка (Liver, печеночный), связывающего жирные кислоты (L-FABP) фирмы «Nultbiotech» (Нидерланды).

Статистическая обработка мате-

риала проводилась с помощью программы Statistica 10,0 с определением средних значений с указанием стандартных отклонений. Значимость различий средних показателей оценивалась с помощью критерия суммы рангов Вилкоксона. Существенными считали различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Специалисты относят к маркерам структурного повреждения почек L-тип белка, связывающего жирные кислоты (L-FABP), интерлейкин 18 (ИЛ-18), липокалин, ассоциированный с желатиназой нейтрофилов (NGAL) и молекулу повреждения почек KIM1.

В клинических исследованиях установлена роль уровня L-FABP в моче как перспективного биомаркера хронических заболеваний почек и острой почечной недостаточности (ОПН). L-FABP практически не обнаруживается в моче здорового человека, но его экскреция значительно возрастает при ишемии-реперфузии. На животных моделях с ОПН была показана повышенная экспрессия L-FABP в клетках канальцев и его выделение с мочой [11]. Уровень L-FABP в моче значительно возрастал и у пациентов с потребностью в заместительной почечной терапии или перед смертью [12]. Показано, что уровень L-FABP в моче повышается при установленном диагнозе ОПН различной этиологии [13]. Результаты изучения уровня L-FABP в ткани коркового слоя почки, подвергнутой острой ишемии с последующей реперфузией и контралатерального органа представлены в таблице 1. ■

Таблица 1. Содержание L-FABP (нг/г ткани) в корковом веществе почек крыс разного пола и возраста после ишемии-реперфузии

группы крыс	Старые самки		Молодые самки		Старые самцы		Молодые самцы	
	правая	левая	правая	левая	правая	левая	правая	левая
Интактные	4,5 ± 0,3	5,6 ± 0,4	45,9 ± 5,3	53,1 ± 4,6	38,2 ± 4,2	42,8 ± 3,7	12,4 ± 1,3	12,8 ± 1,1
и ш е м и я								
20 мин	30,1 ± 3,1 ¹	23,6 ± 2,1 ¹	4,3 ± 0,5 ¹	3,9 ± 0,4 ¹	48,9 ± 4,6 ¹	36,4 ± 3,4	86,1 ± 6,4 ¹	73,7 ± 7,1 ¹
р е п е р ф у з и я								
1 час	36,5 ± 3,4 ¹	23,6 ± 2,5 ¹	8,3 ± 0,6 ^{1,2}	4,3 ± 0,4 ¹	47,3 ± 4,8 ¹	35,7 ± 3,6	29,5 ± 2,5 ^{1,2}	29,7 ± 2,5 ^{1,2}
3 часа	38,0 ± 4,9 ¹	27,8 ± 2,4 ¹	9,6 ± 0,8 ^{1,2}	3,8 ± 0,3 ¹	60,6 ± 5,3 ^{1,2}	48,6 ± 3,9 ²	40,1 ± 3,3 ^{1,2}	27,2 ± 3,1 ^{1,2}
48 часов	22,3 ± 1,8 ^{1,2}	24,8 ± 2,6 ¹	34,4 ± 2,8 ^{1,2}	38,6 ± 3,5 ^{1,2}	38,2 ± 3,6 ²	34,9 ± 4,4	46,2 ± 4,2 ^{1,2}	25,8 ± 2,7 ^{1,2}

¹ достоверно по отношению к показателю в интактной ткани; ² достоверно по отношению к показателю при 20-минутной ишемии

Реперфузия вызвала резкие и достаточно разнонаправленные изменения уровня L-FABP в корковом слое почек крыс различного пола и возраста. Так, в правой почке старых самок, подвергнутой ишемии-реперфузии, содержание маркера оставалось без достоверных изменений относительно показателя при 20-минутной ишемии в течение трех часов, а затем снизилось через 48 часов в 1,7 раза ($p < 0,05$) относительно предыдущего срока исследования, но оставалось практически в 5 раз выше нормативных для этой категории животных показателей. При этом изменений уровня L-FABP в контралатеральной почке не отмечено на протяжении всего срока исследования, т.е. в течение 48 часов.

В корковом веществе обеих почек старых самцов не найдено изменений уровня маркера относительно показателя после 20-минутной ишемии через 1 час после реперфузии. Однако через 3 часа его содержание увеличилось в обеих почках в среднем в 1,3 раза ($p < 0,05$). Через 2 суток уровень L-FABP в корковом веществе правой и левой почек не имел достоверных отличий от значений, характерных для интактных старых самцов.

В корковом веществе правой почки молодых самцов через 1 час после восстановления кровотока найдено резкое падение содержания маркера в 2,9 раза относительно показателя после 20 минутной ишемии. Затем через 3 часа содержание L-FABP увеличилось в 1,4 раза ($p < 0,05$) и оставалось на этом уровне через 48 часов. В корковом веществе

контралатеральной почки содержание маркера снизилось через 1 час после восстановления кровотока в 2,5 раза и оставалось на этом уровне во все последующие сроки исследования. То есть через 2 суток после реперфузии содержание L-FABP было повышено в правой почке в 3,7 раза и в левой – в 2 раза относительно показателя у интактных крыс соответствующего пола и возраста.

И совершенно отличающаяся динамика уровня L-FABP обнаружена в корковом веществе молодых самок. Обращает внимание, что именно у них 20-минутная ишемия вызвала не подъем, а резкий спад показателя в 10,7 раза и 13,6 раза соответственно в правой и левой почках. Через 1 час и 3 часа после восстановления кровотока в правой почке содержание L-FABP увеличилось в среднем в 2 раза, а в контралатеральной почке сохранялось в течение 3 часов без изменений. Затем через 48 часов отмечен резкий подъем показателя в корковом веществе обеих почек практически до значений, характерных для интактных крыс соответствующего пола и возраста: в правой – в 3,6 раза, в левой – в 10,2 раза.

Доказано, что экспрессия L-FABP и секреция его в мочу увеличивается во время тубулоинтерстициального повреждения в почках [14, 15]. При использовании трансгенных мышей, содержащих человеческий L-FABP (hl-FABP) ген для изучения влияния жирных кислот на экспрессию hl-FABP обнаружено, что экспрессия hl-FABP в почке трансгенной мыши была более активная, и увеличилась

экскреция hl-FABP в мочу при инъекции альбумина, насыщенного жирными кислотами, по сравнению с только альбумином [16]. Таким образом, L-FABP является эндогенным маркером, характеризующим функциональное состояние почки; синтез и секреция этого вещества в мочу возрастает при повреждающем воздействии на тубулоинтерстициальные клетки, таком как ишемия и другие агрессивные факторы.

Анализируя результаты изучения L-FABP при реперфузии, следует отметить, что в почке старых самок и молодых самцов, подвергнутой ишемии-реперфузии, и контралатеральной почке через 48 часов сохраняются признаки тубуло-интерстициального повреждения. В почках молодых самок и старых самцов через 48 часов от момента восстановления кровотока этот процесс нивелируется.

ИЛ-18 секретируется и почти полностью расщепляется в проксимальных канальцах почек. Повышение уровня ИЛ-18 в моче позволяет констатировать развитие ОПП за 24 часа до подъема уровня креатинина в сыворотке и прогнозировать потребность в заместительной почечной терапии.

Результаты изучения уровня ИЛ-18 в ткани коркового слоя почки, подвергнутой острой ишемии с последующей реперфузией, и контралатерального органа представлены в таблице 2. В динамике реперфузии обнаружен различный уровень маркера в зависимости от пола и возраста.

Так, содержание ИЛ-18 в кор-

Таблица 2. Содержание ИЛ-18 (пг/г ткани) в корковом веществе почек крыс разного пола и возраста после ишемии-реперфузии

группы крыс	Старые самки		Молодые самки		Старые самцы		Молодые самцы	
	правая	левая	правая	левая	правая	левая	правая	левая
Почка								
Интактные	2571,7±342,1	2441,3±223,8	20833,3±1873,3	18435,4±1969,3	13119,9±1715,6	14081,2±1662,4	3788,7±324,1	4192,8±238,4
и ш е м и я								
20 мин	33258,1±3116 ¹	36307,7±3206,1 ¹	19951,6±1629,3	19851,3±1637,1	35966,3±2731,4 ¹	43331,7±3714,5 ¹	21624,3±1632,8 ¹	13123,5±1416,2 ¹
р е п е р ф у з и я								
1 час	28669,5±1674 ¹	13242,5±1084 ^{1,2}	27594,5±2251 ^{1,2}	24931,3±2526,9 ²	21458,4±16391,2	19208,7±1631 ^{1,2}	21920,3±1734,3 ¹	16126,6±1611,8 ¹
3 часа	23204,5±1834 ^{1,2}	17871,1±1432 ^{1,2}	17563,5±1586,4	17885,0±1639	14480,9±1238,1 ²	9969,1±735 ^{1,2}	9786,8±873,1 ^{1,2}	10326,8±953,1 ^{1,2}
48 часов	13236,4±1146 ^{1,2}	20616,6±1831 ^{1,2}	18146,1±1493,7	17974,7±1472,2	16357,1±1573,8 ²	11058,5±1381,2 ²	8821,1±634,5 ^{1,2}	10119,7±986,3 ^{1,2}

¹ достоверно по отношению к показателю в интактной ткани; ² достоверно по отношению к показателю при 20-минутной ишемии

ковом веществе правой почки старых самок, подвергнутой ишемии с последующей реперфузией, через 1 час после восстановления кровотока не имело достоверных отличий от показателя при острой 20 минутной ишемии и было в 11,1 раза выше, чем в корковом веществе правой почки интактных крыс соответствующего пола и возраста. В контралатеральной почке в это время уровень маркера снизился в 2,7 раза относительно показателя при острой 20 минутной ишемии, но оставался в 5,4 раза выше показателя у интактных животных. Через 3 часа после реперфузии в корковом веществе правой почки уровень маркера снизился на 19,1% ($p < 0,05$) относительно срока исследования 1 час, а через 48 часов упал на 53,8%, но оставался в 5,1 раза выше показателя интактных крыс. В контралатеральной почке содержание ИЛ-18 в сроки 3 часа и 48 часов прогрессивно нарастало относительно показателя через 1 час на 35% ($p < 0,05$) и 55,7% ($p < 0,05$), соответственно.

Содержание ИЛ-18 в корковом веществе правой почки старых самцов, подвергнутой ишемии с последующей реперфузией, через 1 час после восстановления кровотока снижалось в 1,7 раза относительно 20-минутной ишемии. Через 3 часа уровень маркера снизился еще в 1,5 раза ($p < 0,05$) и сохранялся таким через 48 часов, не имея достоверных отличий от значений у интактных крыс. Аналогичная динамика прослеживалась и в содержании ИЛ-18 в корковом веществе контралатеральной почки: через 1 час отмечено падение относительно 20-минутной ишемии в 2,3 раза, через 3 часа – в 1,9 раза относительно предыдущего срока, сохранялся таким через 48 часов, не имея достоверных отличий от значений у интактных крыс.

Через 1 час после восстановления кровотока в корковом веществе обеих почек молодых самцов содержание ИЛ-18 не имело достоверных отличий от показателя после 20-минутной ишемии, через 3 часа от-

мечено падение уровня маркера в почке, подвергнутой ишемии-реперфузии и в контралатеральной почке в 2,2 раза и 1,6 раза ($p < 0,05$) соответственно. Через 48 часов содержание ИЛ-18 оставалось на том же уровне и было в среднем в 2,3 раза выше, чем в корковом слое почек интактных самцов соответствующего возраста.

Принципиальные различия обнаружены в динамике реперфузии после ишемии в почках молодых самок. Так, через 1 час после восстановления кровотока, в корковом веществе правой, подвергнутой ишемии-реперфузии почки, уровень ИЛ-18 повысился на 38,3% ($p < 0,05$), а в контралатеральной – на 25,6% ($p < 0,05$) относительно показателя при 20 минутной ишемии. Через 3 часа отмечена нормализация показателя с последующим сохранением его уровня и через 48 часов после восстановления кровотока.

Ранее в эксперименте была охарактеризована роль провоспалительного цитокина интерлейкина-18 в реакции повреждения канальцевого эпителия [17]. В соответствии с имеющимися данными, ИЛ-18, как маркер развития ОПП, может обладать низкой чувствительностью, но высокой специфичностью: у некоторых больных с острым повреждением почек концентрация маркера может оставаться в пределах нормы, но увеличение концентрации с большей степенью достоверности свидетельствует об остром повреждении почек [18]. Считается, что колебания уровня ИЛ-18 могут иметь прогностическое значение в отношении продолжительности ОПН и сроков восстановления почечной функции.

Анализируя полученные результаты изучения уровня ИЛ-18 в динамике восстановления кровотока после ишемии, можно отметить, что в корковом веществе почек молодых самок и старых самцов функция почек восстановилась уже через 3 часа, тогда как в органах старых самок и молодых самцов этого процесса не произошло.

С позиции полученных в этой

серии результатов можно предположить, что после ишемии-реперфузии в правой почке старых самок и молодых самцов имеет место поражение проксимальных отделов нефрона.

Анализируя в целом влияние реперфузии на кортикальный слой почки, следует отметить, так же как и при ишемии [19, 20], существование как возрастной, так и половой специфики влияния восстановления кровотока в органе на уровень признанных маркеров ОПП. Наименее устойчивыми к повреждающему действию ишемии-реперфузии оказались старые самки и молодые самцы. Самыми устойчивыми следует признать молодых самок и старых самцов. Через 48 часов после ишемии-реперфузии в кортикальном слое почки, подвергнутой указанной процедуре, отмечаются признаки повреждения канальцев по результатам изучения L-FABP с поражением канальцевого эпителия по результатам изучения ИЛ-18. И, что особенно интересно, такие же изменения обнаружены в контралатеральной почке, не имеющей общих кровеносных сосудов с почкой, на которой проводили ишемию-реперфузию. В этот срок исследования в кортикальном слое обеих почек молодых самок и старых самцов уровень маркеров ОПП не имел достоверных отличий от показателей, характерных для крыс соответствующего пола и возраста.

Предположив, что при моделировании односторонней ишемии-реперфузии вовлечение контралатеральной почки в патологический процесс осуществляется нейрогенным путем, мы провели новокаиновую блокаду левых ветвей чревного сплетения перед процедурой реперфузии и изучили содержание некоторых маркеров ОПП в корковом веществе обеих почек. В качестве лабораторных животных были использованы старые самки (как наименее устойчивые к ишемии-реперфузии крысы) и старые самцы (как животные, достаточно устойчивые к данной процедуре). ■

Результаты изучения уровня L-FABP в ткани коркового слоя почки, подвергнутой острой ишемии с последующей реперфузией, и контралатерального органа после блокады левой паранефральной клетчатки представлены в таблице 3.

Установлено, что через 1 час после восстановления кровотока на фоне новокаиновой блокады уровень L-FABP в корковом веществе почек старых самок был ниже соответствующих показателей после реперфузии без блокады: в правой почке – в 1,8 раза ($p < 0,05$), в левой контралатеральной – в 1,5 раза. Аналогичные результаты получены в этот срок исследования и в корковом веществе почек старых самцов. Содержание L-FABP в правой почке после реперфузии на фоне блокады было ниже, чем показатели после реперфузии без блокады в 2,8 раза, в левой почке – в 2,4 раза.

Через 48 часов у старых самок уровень маркера был снижен в правой почке в 2,6 раза в левой почке – в

2,9 раза относительно соответствующих значений при реперфузии без блокады. В почках старых самцов: в правой – в 7,8 раза, в левой – в 4,1 раза.

В результате, через 2 суток после ишемии-реперфузии с блокадой левых ветвей чревного сплетения содержание L-FABP в правой и левой почках старых самок было в 1,9 раза и 1,5 раза выше, чем у интактных крыс соответствующего пола и возраста, против 5 раз и 4,4 раза соответственно после реперфузии без блокады. В этот срок после ишемии-реперфузии с блокадой левых ветвей чревного сплетения содержание L-FABP в правой и левой почках старых самцов было ниже, чем у интактных животных соответствующего пола и возраста: в правой почке в 7,8 раза и в левой почке – в 5 раз, тогда как после реперфузии без блокады эти показатели не имели достоверных отличий от значений у интактных крыс.

В таблице 4 представлены ре-

зультаты изучения уровня ИЛ-18 в ткани коркового слоя почки, подвергнутой острой ишемии с последующей реперфузией, и контралатерального органа после блокады левых ветвей чревного сплетения.

Установлено, что через 1 час после восстановления кровотока на фоне новокаиновой блокады уровень ИЛ-18 в корковом веществе почек старых самок был ниже соответствующих показателей после реперфузии без блокады в обеих почках в среднем в 2,4 раза. В этот срок исследования в корковом веществе почек старых самцов содержание ИЛ-18 после реперфузии на фоне блокады также было ниже, чем показатели после реперфузии без блокады: в правой почке – в 2,6 раза, в левой почке – в 2,2 раза.

Через 48 часов у старых самок уровень маркера был снижен в правой почке в 1,4 раза ($p < 0,05$) в левой почке – в 3,5 раза ($p < 0,05$) относительно соответствующих значений при реперфузии без блокады. В почках старых самцов: в правой – в 1,7 раза ($p < 0,05$), в левой – в 1,3 раза ($p < 0,05$).

В результате, через 2 суток после ишемии-реперфузии с блокадой паранефральной клетчатки содержание ИЛ-18 в правой и левой почках старых самок было в 3,6 раза и в 2,4 раза выше, чем у интактных крыс соответствующего пола и возраста, против 5,1 раза и 8,4 раза соответственно после реперфузии без блокады. В этот срок после ишемии-реперфузии с блокадой чревного сплетения содержание ИЛ-18 в правой и левой почках старых самцов было ниже, чем у интактных животных соответствующего пола и возраста: в правой почке в 1,3 раза и в левой почке – в 1,6 раза, тогда как после реперфузии без блокады эти показатели не имели достоверных отличий от значений у интактных крыс.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, экспериментальная ишемия одной из почек у крыс в течение 20 минут сопровождается динамикой маркеров ОПП как в ишемизированной, так и в контрала-

Таблица 3. Содержание L-FABP (нг/г ткани) в корковом веществе почек крыс разного пола и возраста после ишемии-реперфузии с блокадой левой паранефральной клетчатки

группы крыс	Старые самки		Старые самцы	
	правая	левая	правая	левая
Почка				
Интактные	4,5 ± 0,3	5,6 ± 0,4	38,2 ± 4,2	42,8 ± 3,7
и ш е м и я				
20 мин	30,1 ± 3,1 ¹	23,6 ± 2,1 ¹	48,9 ± 4,6 ¹	36,4 ± 3,4
р е п е р ф у з и я				
1 час	36,5 ± 3,4 ¹	23,6 ± 2,5 ¹	47,3 ± 4,8 ¹	35,7 ± 3,6
48 часов	22,3 ± 1,8 ^{1,2}	24,8 ± 2,6 ¹	38,2 ± 3,6 ²	34,9 ± 4,4
р е п е р ф у з и я с б л о к а д о й				
1 час	19,9 ± 1,6 ^{1,2,3}	15,7 ± 1,3 ^{1,2,3}	16,6 ± 1,4 ^{1,2,3}	15,0 ± 1,3 ^{1,2,3}
48 часов	8,6 ± 0,7 ^{1,2,3}	8,5 ± 0,9 ^{1,2,3}	4,9 ± 0,5 ^{1,2,3}	8,6 ± 0,8 ^{1,2,3}

¹ достоверно по отношению к показателю в интактной ткани;

² достоверно по отношению к показателю при 20-минутной ишемии;

³ достоверно по отношению к показателю без блокады.

Таблица 4. Содержание ИЛ-18 (нг/г ткани) в корковом веществе почек крыс разного пола и возраста после ишемии-реперфузии с блокадой левой паранефральной клетчатки

группы крыс	Старые самки		Старые самцы	
	правая	левая	правая	левая
Почка				
Интактные	2571,7 ± 342,1	2441,3 ± 223,8	13119,9 ± 1715,6	14081,2 ± 1662,4
и ш е м и я				
20 мин	33258,1 ± 3116 ¹	36307,7 ± 3206,1 ¹	35966,3 ± 2731,4 ¹	43331,7 ± 3714,5 ¹
р е п е р ф у з и я				
1 час	28669,5 ± 1674 ¹	13242,5 ± 1084 ^{1,2}	21458,4 ± 1639 ^{1,2}	19208,7 ± 1631 ^{1,2}
48 часов	13236,4 ± 1146 ^{1,2}	20616,6 ± 1831 ^{1,2}	16357,1 ± 1573,8 ²	11058,5 ± 1381,2 ²
р е п е р ф у з и я с б л о к а д о й				
1 час	11976,8 ± 1023 ^{1,2,3}	5601,1 ± 473,9 ^{1,2,3}	8114,3 ± 618,3 ^{1,2,3}	8672,1 ± 713,7 ^{1,2,3}
48 часов	9272,7 ± 842,6 ^{1,2,3}	5887,7 ± 516,7 ^{1,2,3}	9891,7 ± 831,9 ^{1,2,3}	8629,8 ± 543,9 ^{1,2,3}

¹ достоверно по отношению к показателю в интактной ткани;

² достоверно по отношению к показателю при 20-минутной ишемии;

³ достоверно по отношению к показателю без блокады.

теральной почке; интенсивность развивающихся изменений зависит от пола и возраста экспериментальных животных. Новокаиновая блокада левых ветвей чревного сплетения защищает от вызванного острой ишемией – реперфузией поражения

дистальные каналцы обеих почек. Полученные результаты побуждают задуматься о рефлекторных механизмах развития поражения контралатеральной почки, формирующегося в условиях моделирования односторонней ишемии-реперфузии. От-

дельный научный и практический интерес представляет изучение целесообразности использования паранефральной новокаиновой блокады в клинической практике при проведении резекции почки на фоне тепловой ишемии. ■

Резюме:

Достаточно часто после проведения лапароскопической или открытой резекции почки с использованием длительной тепловой ишемии (ТИП) у больных развиваются симптомы острого повреждения почек, в формирование которого может быть вовлечена контралатеральная почка, которая до операции оценивалась, как здоровая.

Целью данной работы является изучение влияния односторонней ишемии-реперфузии почки на состояние функции обеих почек, а также оценка нефропротективного воздействия новокаиновой блокады в условиях моделирования односторонней ишемии-реперфузии почки в эксперименте.

Исследование проводилось на модели «две почки - один зажим». Блокаду левых ветвей чревного сплетения осуществляли путем введения 0,1 мл 2% раствора новокаина в паранефральную клетчатку левой почки. В работе использованы 60 белых беспородных крыс обоего пола массой 200-250 г (молодые животные) и 300-350 г (старые животные). Методом ИФА в корковом веществе почек исследовали содержание интерлейкина 18 (ИЛ-18) и L типа белка (Liver, печеночный), связывающего жирные кислоты (L-FABP). Установлено, что экспериментальная ишемия одной из почек у крыс в течение 20 минут сопровождается изменением содержания маркеров острого почечного повреждения как в ишемизированной, так и в контралатеральной почках, при этом интенсивность и динамика развивающихся изменений зависят от пола и возраста экспериментальных животных. Новокаиновая блокада левых ветвей чревного сплетения обладает защитным эффектом от поражения дистальных каналцев обеих почек, вызванного острой ишемией - реперфузией.

Ключевые слова: интерлейкин 18, L-FABP, иммуноферментный анализ (ИФА), экспериментальная тепловая ишемия почки, контралатеральная почка, блокада чревного сплетения.

Key words: interleukin 18, L-FABP, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), experimental warm ischemia, contralateral kidney, splanchnic plexus blockade.

ЛИТЕРАТУРА

- Алексеев Б.Я., Калпинский А.С., Поляков В.А., Андрианов А.Н. Лапароскопическая резекция почки при опухолевом поражении. // Онкология. Журнал им. П.А. Герцена. 2012. N 1. С. 4-9.
- Волкова М.И., Скворцов И.Я., Климов А.В., Черняев В.А., Калинин С.А., Петерс М.В., Матвеев В.Б. Сравнительный анализ результатов радикальной нефрэктомии и резекции почки при клинически локализованном почечно-клеточном раке у больных с нормально функционирующей контралатеральной почкой. // Урология. 2014. N4. С. 47-55.
- Говоров А.В., Васильев А.О., Пушкарь Д.Ю. Криоабляция почки. // Онкоурология. 2012. N 2. С. 14-21.
- Гусев А.А., Евсеев С.В., Коган М.И. Оценка почечных функций и оперативное лечение почечно-клеточного рака. // Онкоурология. 2013. N 1. С. 17-24.
- Huang WC, Elkin EB, Levey AS, Jang TL, Russo P. Partial nephrectomy versus radical nephrectomy in patients with small renal tumors – is there a difference in mortality and cardiovascular outcomes? // J Urol. 2009. Vol. 181, N 1. P. 55-62.
- Clark MA, Shikanov S, Raman JD, Smith B, Kaag M, Russo P, Wheat JC, Wolf JS Jr, Matin SF, Huang WC, Shalhav AL, Eggen SE. Chronic kidney disease before and after partial nephrectomy. // J Urol. 2011. Vol. 185, N 1. P. 43-48.
- Thompson RH, Lane BR, Lohse CM, Leibovich BC, Fergany A, Frank I, Gill IS, Blute ML, Campbell SC. Every minute counts when the renal hilum is clamped during partial nephrectomy. // Eur Urol. 2010. Vol. 58, N 3. P. 340-345.
- Frank B, Van Poppel H, Hakenberg O, Stief C, Gill I, Guazzoni G, Montorsi F, Russo P, Stöckle M. Assessing the impact of ischaemia time during partial nephrectomy. // Eur Urol. 2009. Vol. 56, N 4. P. 625-634.
- Аляев Ю.Г., Крапивин А.А. Резекция почки при раке. М., Изд-во «Медицина». 2001. С. 224 с.
- Porpiglia F, Fiori C, Bertolo R, Morra I, Russo R, Piccoli G, Angusti T, Podio V. Long-term functional evaluation of the treated kidney in a prospective series of patients who underwent laparoscopic partial nephrectomy for small renal tumors. // Eur Urol. 2012. Vol. 62, N 1. P. 130-135.
- Geus RH, Betjes MG, Bakker J. Biomarkers for the prediction of acute kidney injury: a narrative review on current status and future challenges. // Clin Kidney J. 2012. Vol. 5, N 2. P. 102-108.
- Алексеев А.В., Гильманов А.Ж., Гатиятуллина Р.С., Ракипов И.Г. Современные биомаркеры острого повреждения почек. // Практическая медицина. 2014. T.79, N 3. С. 22-27.
- Schiff H, Lang SM. Update on biomarkers of acute kidney injury: moving closer to clinical impact? // Mol Diagn Ther. 2012. Vol. 16, N 4. P. 199-207.
- Kamijo A, Kimura K, Sugaya T, Yamanouchi M, Hikawa A, Hirano N, Hirata Y, Goto A, Omata M. Urinary fatty acid binding protein as new clinical marker for the progression of chronic renal disease. // J Lab Clin Med. 2004. Vol. 143, N 1. P. 23-30.
- Kamijo A, Sugaya T, Hikawa A, Yamanouchi M, Hirata Y, Ishimitsu T, Numabe A, Takagi M, Hayakawa H, Tabei F, Sugimoto T, Mise N, Kimura K. Clinical evaluation of urinary excretion of liver type fatty acid binding protein as a marker for the monitoring of chronic kidney disease: a multicenter trial. // J Lab Clin Med. 2005. Vol. 145, N 3. P. 125-133.
- Kamijo-Ikemori A, Sugaya T, Matsui K, Yokoyama T, Kimura K. Roles of human liver type fatty acid binding protein in kidney disease clafed usigh L-FABP chromosomal transgenic mice. // Nephrology. 2011. Vol. 16, N 6. P. 539-544.
- Devarajan P. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL): a new marker of kidney disease. // Scand J Clin Lab Invest Suppl. 2008. Vol. 241. P. 89-94.
- Coca SG, Yalavarthy R, Concato J, Parikh CR. Biomarkers for the diagnosis and risk stratification of acute kidney injury: a systematic review. // Kidney Int. 2008. Vol. 73, N 9. P. 1008-1016.
- Кит О.И., Франциянц Е.М., Димитриади С.Н., Каплиева И.В., Трешитакки Л.К. Экспрессия молекулярных маркеров острого повреждения почек в динамике экспериментальной ишемии. // Экспериментальная и клиническая урология. 2014. N 4. С. 12-15.
- Кит О.И., Франциянц Е.М., Димитриади С.Н., Шевченко А.Н., Каплиева И.В., Трешитакки Л.К. Экспрессия маркеров неопластического фибринолитической системы в динамике экспериментальной ишемии почки у крыс. // Экспериментальная и клиническая урология. 2015. N 1. С. 20-23.