

## ЭЛЕМЕНТЫ ОСАДКА МОЧИ И ИНТЕРЛЕЙКИН-18 ПРИ ОСТРОМ ПОВРЕЖДЕНИИ ПОЧЕК ПОСЛЕ КАРДИОХИРУРГИЧЕСКИХ ВМЕШАТЕЛЬСТВ

Птицына А.И., Курапеев И.С., Козлов А.В.

ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет имени

И.И. Мечникова» Минздрава России

191015, Россия, Санкт-Петербург, ул. Кирочная, д. 41, +7 (812) 303-50-00

anna.ptitsyna@szgmu.ru

### Резюме

Изучены изменения состава осадка мочи и концентрации интерлейкина-18 (ИЛ-18) в моче через 2, 4 и 24 часа после различных кардиохирургических вмешательств у 111 пациентов, разделенных на 2 группы с учетом шкалы EuroSCORE II. У пациентов 1-й группы с острым повреждением почек (ОПП) и скоростью клубочковой фильтрации (СКФ) > 85 мл/мин максимальный прирост концентрации по сравнению с исходным уровнем (до операции) был обнаружен через 2 часа после операции для ИЛ-18, через 4 часа – для гиалиновых цилиндров и 24 часа – для клеток почечного эпителия. В моче пациентов данной группы без ОПП концентрация ИЛ-18, гиалиновых цилиндров и клеток почечного эпителия в те же сроки наблюдения была достоверно ниже, чем у пациентов с ОПП.

У пациентов 2-й группы (СКФ 50 – 85 мл/мин) с ОПП и без ОПП различий в концентрации ИЛ-18 в моче через 2, 4 и 24 часа после операции обнаружено не было. У пациентов 2-й группы с ОПП максимальный прирост концентрации гиалиновых цилиндров был обнаружен через 4 часа, а клеток почечного эпителия через 24 часа после операции, и их концентрация была достоверно выше, чем у пациентов без ОПП.

Максимальная концентрация ИЛ-18, гиалиновых цилиндров и клеток почечного эпителия в моче пациентов 2-й группы с ОПП была достоверно ниже соответствующих значений у пациентов 1-й группы с ОПП.

Таким образом, ранними информативными лабораторными маркерами ОПП после кардиохирургических вмешательств могут служить ИЛ-18, клетки почечного эпителия и гиалиновые цилиндры только у пациентов, у которых скорость клубочковой фильтрации выше 85 мл/мин.

**Ключевые слова:** кардиохирургические вмешательства, острое повреждение почек, фазово-контрастная микроскопия, осадок мочи, клетки почечного эпителия, гиалиновые цилиндры, интерлейкин-18.

## **ELEMENTS OF URINE SEDIMENT AND INTERLEUKIN-18 IN ACUTE KIDNEY INJURY AFTER CARDIAC SURGERY**

Ptitsyna A.I., Kurapeev I.S., Kozlov A.V.

North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov

Contacts: Anna I. Ptitsyna, [anna.ptitsyna@szgmu.ru](mailto:anna.ptitsyna@szgmu.ru), +7-911-007-27-10

### **Abstract**

Changes in the composition of urine sediment and concentration of interleukin-18 (IL-18) in urine were studied 2, 4 and 24 hours after various cardiosurgical interventions in 111 patients divided into 2 groups, taking into account EuroSCORE II scale. In patients of the 1-st group with acute kidney injury (AKI) and glomerular filtration rate (GFR) > 85 ml/min, maximum concentration increase in comparison with initial level (before surgery) was detected 2 hours after surgery for IL-18, through 4 hours for hyaline casts and 24 hours for renal tubular epithelial cells. In urine of patients in this group without AKI, concentration of IL-18, hyaline casts and renal tubular epithelial cells at same time of observation was significantly lower than in patients with AKI.

In patients of 2-nd group (GFR 50 – 85 ml/min) with AKI and without AKI, there were no differences in IL-18 concentration in urine at 2, 4 and 24 hours after cardiac surgery. In patients of 2-nd group with AKI maximum increase in concentration of hyaline casts was detected after 4 hours, and cells of renal epithelium 24 hours after cardiac surgery, and their concentration was significantly higher than in patients without AKI.

The maximal concentration of IL-18, hyaline casts and cells of renal tubular epithelium patients in 2-nd group with AKI was significantly lower than corresponding values in patients of 1-st group with AKI.

Thus, early informative laboratory markers of AKI after cardiac surgery can be IL-18, renal tubular epithelial cells and hyaline casts only in patients whose glomerular filtration rate is above 85 ml/min.

**Key words:** cardiac surgery, acute kidney injury, phase-contrast microscopy, urine sediment, renal tubular epithelial cells, hyaline casts, interleukin-18.

**Введение.** Острое повреждение почек (ОПП) – относительно новое понятие, под которым понимают снижение функции почек в течение 48 часов [1]. Частота развития ОПП после операций на сердце может составлять от 10 до 30 % и более [2]. Согласно клиническим рекомендациям (KDIGO 2012), для диагностики ОПП в качестве лабораторного маркера используют креатинин и/или диурез, однако они не обладают достаточной чувствительностью и специфичностью [3]. В настоящее время для выявления ОПП широко применяют биомаркеры, включая интерлейкин-18 (ИЛ-18), липокалин, ассоциированный с желатиназой нейтрофилов (NGAL), молекулу повреждения почек (KIM-1), белок, связывающий жирные кислоты (L-FABP), либо сочетание маркеров инсулиноподобного фактора роста, связывающего белок 7 (IGFBP7), и тканевого ингибитора металлопротеиназы-2 (TIMP-2), включённых в тест-систему «NephroCheck» [4, 5]. Микроскопия осадка мочи, по мнению ряда исследователей, относится к незаслуженно забытому лабораторному маркеру ОПП [6].

**Цель исследования:**

Сравнить динамику изменений состава осадка мочи и концентрации интерлейкина-18 в моче пациентов в первые сутки после кардиохирургических вмешательств с целью поиска ранних маркеров для выявления острого повреждения почек.

**Материалы и методы**

Проанализированы результаты микроскопии осадка мочи и определения в моче ИЛ-18 у 111 пациентов (74 мужчины и 37 женщин, возраст от 30 до 82 лет, средний возраст  $62,7 \pm 10,2$  лет), которым в плановом порядке выполнялось коронарное шунтирование (60%,  $n = 66$ ). У 45 пациентов (40 %) коронарное шунтирование выполнялось в сочетании с коррекцией клапанной патологии сердца.

Все пациенты, включенные в настоящее исследование, были разделены на 2 группы согласно величине клиренса креатинина (мл/мин) в соответствии с его градацией в шкале EuroSCORE II [7]. Первую группу составили 25 пациентов, у которых скорость клубочковой фильтрации (СКФ), рассчитанная по формуле Кокрофта-Голта [8], превышала 85 мл/мин (20 мужчин и 5 женщин, возраст – от 30 до 81 лет ( $60,1 \pm 12,8$ )). Во вторую группу были включены 86 пациентов, СКФ у которых была от 50 до 85 мл/мин (54 мужчины и 32 женщины, возраст – от 38 до 82 лет ( $63,4 \pm 9,5$ )).

Материалом для исследования служили образцы мочи и сыворотки крови. Элементы осадка мочи и концентрацию ИЛ-18 в моче определяли до операции и через 2, 4 и 24 часа от момента поступления пациента в отделение реанимации и интенсивной терапии.

Осадок получали центрифугированием 10 мл мочи при 400 g в течение 5 мин (центрифуга «СМ-6 МТ» фирмы «ELMI», Латвия). Надосадочную жидкость (9 мл) удаляли, осадок ресуспендировали в оставшемся объеме мочи. Гиалиновые цилиндры и клетки почечного эпителия в осадке мочи подсчитывали в камере Фукса – Розенталя (микроскоп «Leica DM 4000 В» фирмы «Leica Microsystems GmbH», Германия, (увеличение 100×, 400×)), используя метод фазово-контрастной микроскопии. Концентрацию элементов относили к 1 мкл мочи (количество/мкл). Креатинин в крови определяли пикратным методом тест-системами производителя на анализаторе «Olympus AU480 Chemistry Analyzer» фирмы «Beckman Coulter», США. Концентрацию ИЛ-18 в моче определяли иммуноферментным методом тест-системами компании «Вектор-БЕСТ», анализатор «MR-96А» («Mindray», Китай).

Для статистического анализа результатов исследования использовали пакет программы «STATISTICA for Windows» версия Russian Portable 10.0.1011.0, 2001 фирмы «StatSoft Inc», США. Проверку гипотез о равенстве двух средних производили с помощью критерия U-тест Манна – Уитни. Различия считали достоверными при уровне значимости  $p < 0,05$ .

### **Результаты**

О наступлении ОПП судили по нарастанию в крови концентрации креатинина на 26,5 мкмоль/л и более в течение 48 часов после операции [4]. Частота развития острого повреждения почек в обеих группах статистически не отличалась ( $p > 0,05$ ) и составила - в 1-й группе 20% ( $n = 5$ ) и во 2-й группе 26% ( $n = 22$ ). Из данных, представленных на рисунке 1, следует, что у пациентов 1-й группы с ОПП максимум креатининемии наблюдался через 24 часа после операции, затем уровень снижался до исходного через 48 часов, и сохранялся на нем до последнего измерения через 72 часа. Различия в концентрации креатинина в крови у пациентов с ОПП и без ОПП были достоверны через 24 часа после операции.

У пациентов 2-й группы с ОПП концентрация креатинина в крови достоверно ( $p < 0,05$ ) повышалась через 24 часа после операции, достигала максимума через 48 часов, и снижалась практически до исходных значений через 72 часа. Концентрация креатинина в крови у пациентов с ОПП достоверно превышала его концентрацию у пациентов без ОПП через 24 и 48 часов после операции.

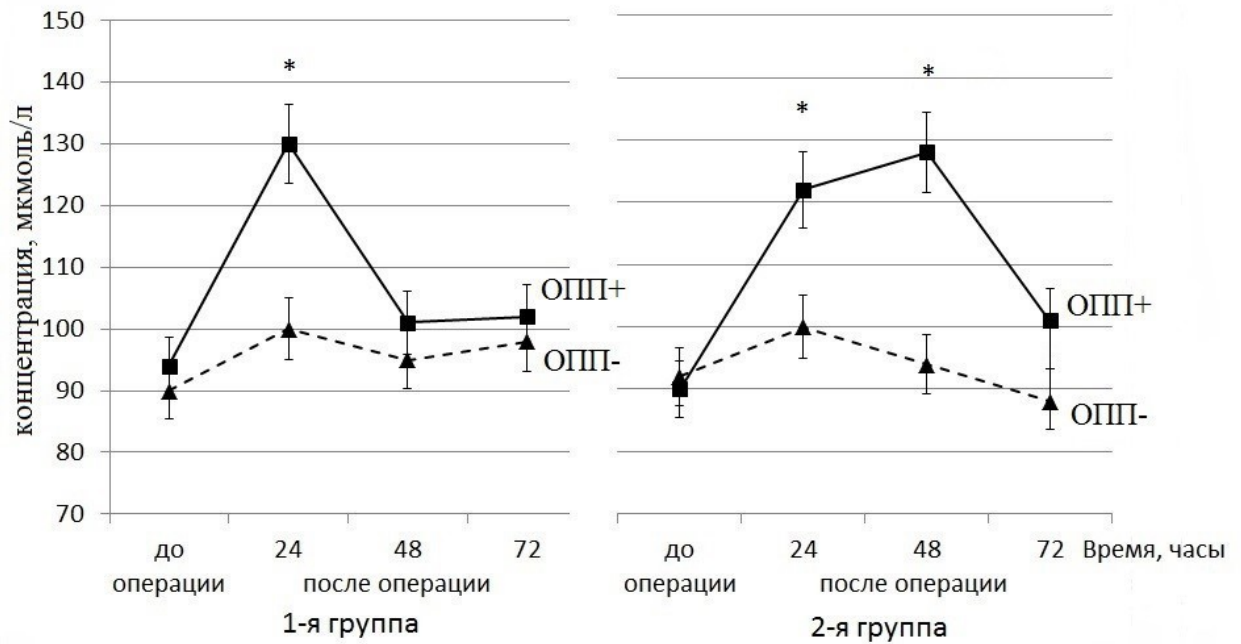


Рисунок 1. Динамика изменения концентрации креатинина в сыворотке крови у пациентов в течение 72 часов после кардиохирургических вмешательств.

\*) достоверные различия между пациентами с ОПП (ОПП+) и без ОПП (ОПП-) в группе ( $p < 0,05$ ).

### Интерлейкин-18 (ИЛ-18)

В 1-й группе концентрация ИЛ-18 в моче у пациентов с ОПП достигала максимума через 2 часа после операции, через 4 часа снижалась, достоверно превышая исходные значения ( $p < 0,05$ ), через 24 часа возвращалась к исходным значениям (рис. 2). У пациентов без ОПП изменений концентрации ИЛ-18 в моче выявлено не было. Достоверные различия в концентрации ИЛ-18 у пациентов с ОПП и без ОПП выявлены через 2 и 4 часа после операции.

Во 2-й группе достоверных различий в концентрации ИЛ-18 в моче у пациентов с ОПП и без ОПП выявлено не было.

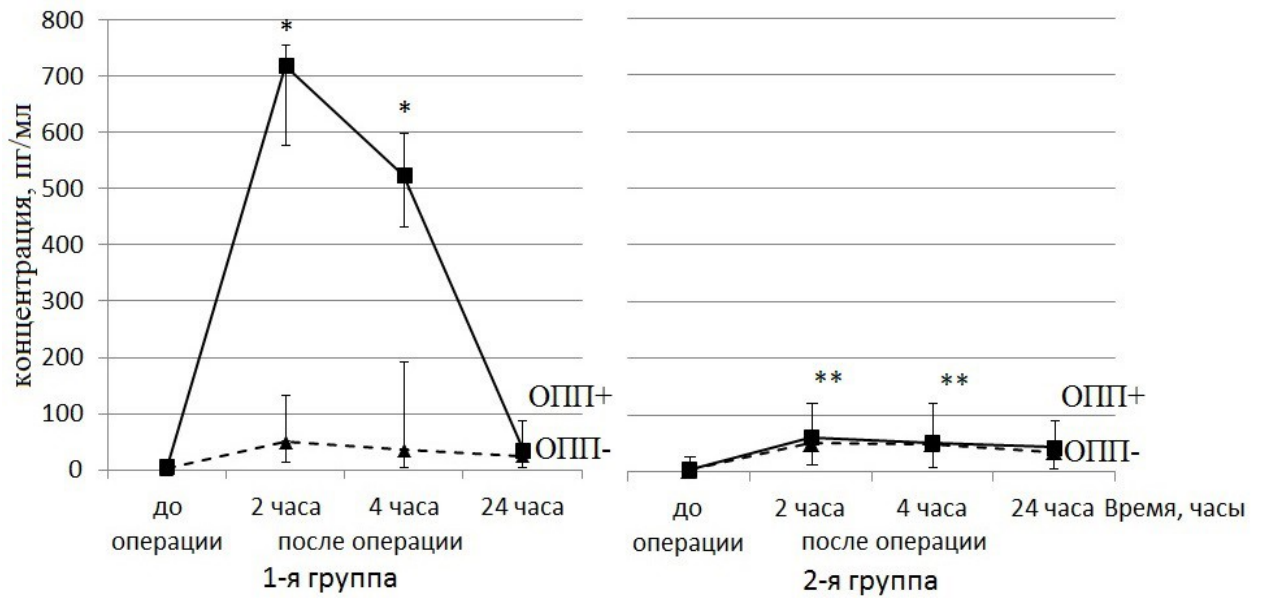


Рисунок 2. Динамика изменения концентрации интерлейкина-18 в моче у пациентов в течение 24 часов после кардиохирургических вмешательств.

\*) достоверные различия между пациентами с ОПП (ОПП+) и без ОПП (ОПП-) в группе ( $p < 0,05$ ).

\*\*) достоверные различия между пациентами с ОПП в 1-й и 2-й группе ( $p < 0,05$ ).

### Элементы осадка мочи:

#### 1. Гиалиновые цилиндры

В 1-й группе концентрация гиалиновых цилиндров в моче пациентов с ОПП и без ОПП достоверно превысила исходные значения через 2 часа после операции ( $p < 0,05$ ), данный уровень сохранялся через 4 и 24 часа (рис. 3). Концентрация гиалиновых цилиндров в моче у пациентов с ОПП была достоверно выше их концентрации у пациентов без ОПП через 2, 4 и 24 часа после операции.

Во 2-й группе динамика изменения концентрации гиалиновых цилиндров в моче была менее выраженной, чем в 1-й группе. Их концентрация в моче пациентов с ОПП и без ОПП достоверно превышала исходные значения через 2 часа после операции ( $p < 0,05$ ) и сохранялась на данном уровне через 4 и 24 часа после операции. У пациентов 2-й группы с ОПП концентрация гиалиновых цилиндров в моче была достоверно выше их концентрации у пациентов без ОПП через 2 и 4 часа после операции.

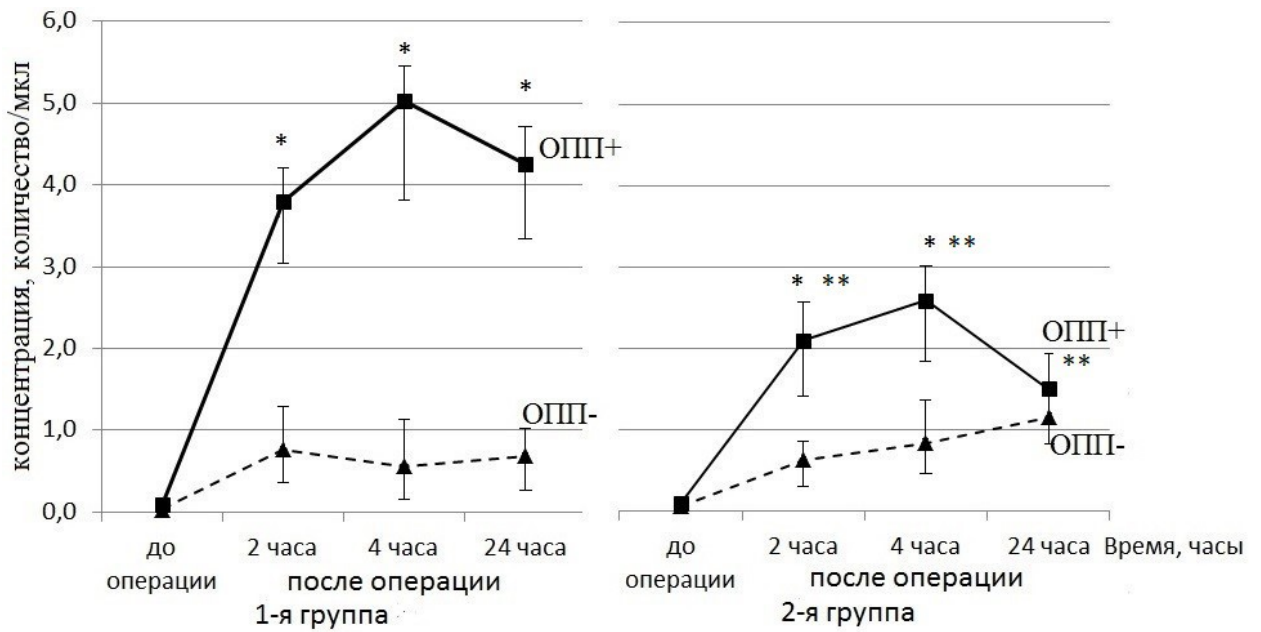


Рисунок 3. Динамика изменения концентрации гиалиновых цилиндров в моче у пациентов в течение 24 часов после кардиохирургических вмешательств.

\*) достоверные различия между пациентами с ОПП (ОПП+) и без ОПП (ОПП-) в группе ( $p < 0,05$ ).

\*\*) достоверные различия между пациентами с ОПП в 1-й и 2-й группе ( $p < 0,05$ ).

## 2. Клетки почечного эпителия

В 1-й группе у пациентов с ОПП через 2 часа после операции было обнаружено достоверное увеличение концентрации клеток почечного эпителия в моче по сравнению с исходным уровнем ( $p < 0,05$ ), концентрация возрастала до максимальных значений через 24 часа после операции (рис. 4).

У пациентов 2-й группы с ОПП через 2 часа после операции концентрация клеток почечного эпителия в моче также достоверно превышала исходный уровень через 2 часа ( $p < 0,05$ ), оставалась на этом уровне через 4 часа и достигала максимума через 24 часа после операции.

У пациентов обеих групп без ОПП концентрация клеток почечного эпителия практически не менялась, и была достоверно ниже ( $p < 0,05$ ) значений у пациентов с ОПП через 2, 4 и 24 часа.

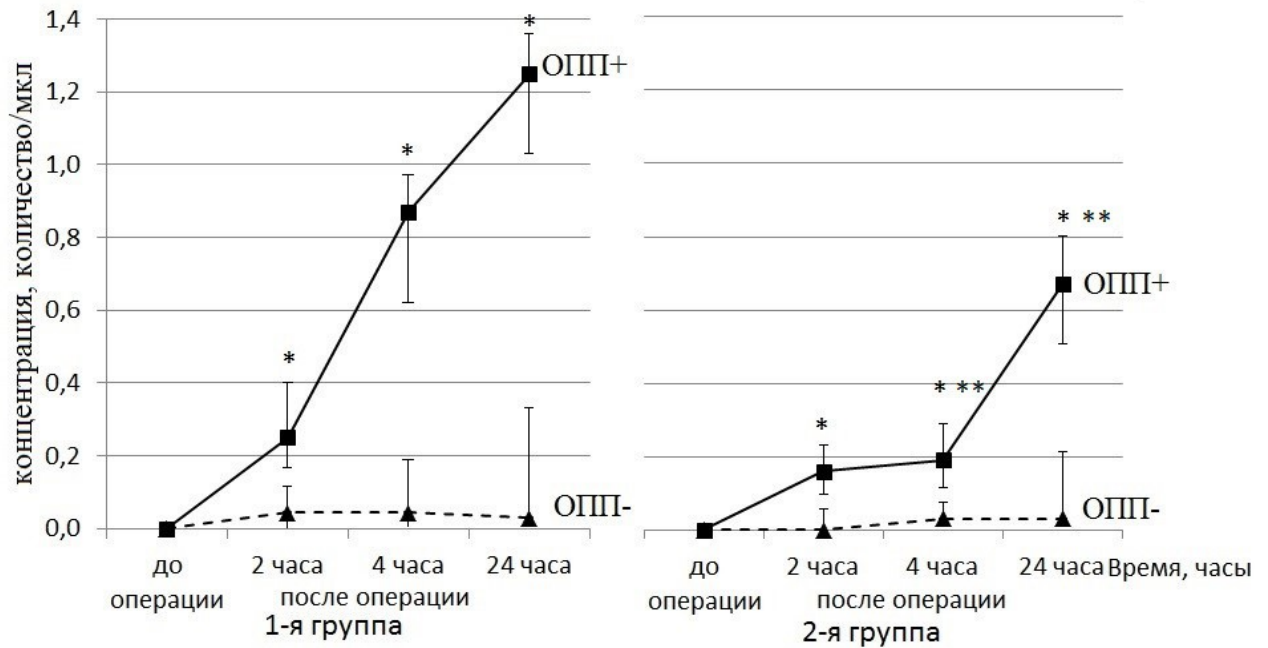


Рисунок 4. Динамика изменения концентрации клеток почечного эпителия в моче у пациентов в течение 24 часов после кардиохирургических вмешательств.

\*) достоверные различия между пациентами с ОПП (ОПП+) и без ОПП (ОПП-) в группе ( $p < 0,05$ ).

\*\*) достоверные различия между пациентами с ОПП в 1-й и 2-й группе ( $p < 0,05$ ).

### Обсуждение

Полученные результаты указывают на то, что динамика изменений концентрации трех маркеров – интерлейкина-18, клеток почечного эпителия и гиалиновых цилиндров существенно отличалась у пациентов в 1-й (СКФ > 85 мл/мин) и 2-й (СКФ от 50 до 85 мл/мин) группах. Различия были наиболее выражены для ИЛ-18 в моче у пациентов 1-й группы с ОПП, у которых пиковые значения концентрации были выявлены через 2 часа после операции ( $p < 0,05$ ) с постепенным снижением до исходных значений через 24 часа. Во 2-й группе достоверных различий концентрации ИЛ-18 в моче у пациентов с ОПП и без ОПП на протяжении 24 часов после операции не наблюдалось.

Для клеток почечного эпителия в моче пациентов с ОПП в 1-й группе было характерно постепенное и достоверное ( $p < 0,05$ ) нарастание концентрации через 2, 4 и 24 часа после операции по сравнению с исходным уровнем. У пациентов 2-й группы с ОПП концентрация клеток почечного эпителия через 4 и 24 часа была достоверно ниже ( $p <$



0,05), чем у пациентов с ОПП 1-й группы (рис. 4). Различий в концентрации клеток почечного эпителия в моче пациентов в 1-й и 2-й группах без ОПП обнаружено не было.

Концентрация гиалиновых цилиндров у пациентов с ОПП в 1-й группе была достоверно выше их концентрации в моче пациентов с ОПП во 2-й группе через 2, 4 и 24 часа после операции ( $p < 0,05$ ) (рис. 3). Различий в концентрации гиалиновых цилиндров в моче пациентов без ОПП в 1-й и 2-й группе обнаружено не было.

Таким образом, полученные нами данные в определенной мере подтверждают обнаруженные ранее различия в динамике выделения с мочой биомаркеров, используемых для прогнозирования ОПП [9, 10], и позволяют выдвинуть ряд положений о механизмах их поступлении в мочу.

В частности, обнаружение в моче пациентов с ОПП в раннем послеоперационном периоде интерлейкина-18 указывает на повреждение канальцев и его поступление в мочу из клеток эпителия канальцев в ответ на ишемическое повреждение мембран, повышение их проницаемости и «утечке» белковых молекул и ИЛ-18. Появление клеток канальцевого эпителия в моче в начале развития ОПП обусловлено запуском процессов апоптоза, позднее некроза и «соскальзыванием» клеток с базальной мембраны [11]. Различия по времени обнаружения в моче интерлейкина-18 и клеток почечного эпителия обусловлены тем, что процесс апоптоза и некроза клеток требует определенного времени для запуска и завершения. Несмотря на то, что их появление обусловлено разными патохимическими механизмами, мы считаем возможным отнести оба маркера к разряду специфичных для повреждения канальцев при ОПП. Дополнительным аргументом этому служит тот факт, что в моче пациентов 1-й и 2-й группы без ОПП изменений концентрации изученных показателей не было обнаружено.

Обнаружение в моче гиалиновых цилиндров мы связываем с нарушением метаболических процессов в эпителиальных клетках канальцев, вызванных ишемией, ранним развитием внутриклеточного, затем и внутритубулярного ацидоза, способствующего ускорению денатурации различных белков, в частности, белка Тамма – Хорсфалла, играющего роль своеобразного каркаса для формирования структуры цилиндров [12].

Особого внимания заслуживает обнаруженная нами взаимосвязь между достоверно более высокой концентрацией гиалиновых цилиндров, клеток почечного эпителия и интерлейкина-18 в моче пациентов 1-й группы (СКФ  $>85$  мл/мин) с ОПП, чем у пациентов с ОПП 2-й группы (СКФ 50 до 85 мл/мин). Объяснением данных различий может служить

тот факт, что 2-ю группу составили пациенты со скоростью клубочковой фильтрации в интервале 50 – 85 мл/мин, характерной для 2 и 3А стадии хронической болезни почек, при которой снижается масса функционирующих нефронов. Последнее может лежать в основе падения реакции канальцевых клеток на повреждающие факторы [13].

По нашему мнению, микроскопия осадка мочи обладает рядом существенных достоинств: доступностью в любое время суток, невысокой стоимостью и приемлемой воспроизводимостью. В свое время падение интереса к микроскопии осадка было вызвано стремлением его проведения в централизованных лабораториях [6]. Представленные результаты заставляют согласиться с мнением ряда известных нефрологов о необходимости проведения углубленного микроскопического изучения осадка мочи при выявлении острого повреждения почек [6, 10].

### **Выводы**

1. Ранними лабораторными маркерами острого повреждения почек у пациентов после кардиохирургических вмешательств являются интерлейкин-18, клетки почечного эпителия и гиалиновые цилиндры.
2. Максимальными аналитическими характеристиками для выявления острого повреждения почек после кардиохирургических вмешательств указанные маркеры обладают у пациентов со скоростью клубочковой фильтрации выше 85 мл/мин.
3. Поиск новых маркеров острого повреждения почек после кардиохирургических вмешательств следует проводить с учетом стадии хронической болезни почек.

### **Литература**

1. Соколов Д.В. Острое почечное повреждение в периоперационном периоде / Д.В. Соколов, Ю.С. Полушин // Вестник анестезиологии и реаниматологии. – 2018. – № 1. – С. 46–54.
2. Cardiac surgery-associated acute kidney injury / H. Mao, N. Katz, W. Ariyanon, et al. // Cardio Renal Medicine – 2013. – Vol. 3. – P. 178–199.
3. Khwaja A. KDIGO Clinical Practice Guidelines for Acute Kidney Injury / A. Khwaja // Nephron Clinical Practice – 2012. – Vol. 120. – P. 179–184.
4. Recent developments in the detection and management of acute kidney injury / J. McCaffrey, A. Dhaka, D. Milford et al. // Arch. Dis. Child. – 2017. – Vol. 102. – P. 91–96.

5. Смирнов А.В. Острое повреждение почек / А.В. Смирнов, В.А. Добронравов, А.Ш. Румянцев, И.Г. Каюков. – М.: Изд-во Медицинское информационное агентство, 2015. – 488 с.
6. Perazella M.A. The Urine Sediment as a Biomarker of Kidney Disease / M.A. Perazella // American Journal of Kidney Diseases. – 2015. – Vol. 66. – P. 748–755.
7. The new EuroSCORE II does not improve prediction of mortality in high-risk patients undergoing cardiac surgery: a collaborative analysis of two European centres / N. Howell, S. Head, N. Freemantle et al. // European Journal of Cardio-Thoracic Surgery. – 2013. – Vol. 44. – P. 1006–1011.
8. Cockcroft D.W. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. / D.W. Cockcroft, M.H. Gault Nephron. – 1976. – Vol. 16. – P. 31–41.
9. Fogazzi G.B. The urinary sediment an integrated view / G.B. Fogazzi. – Trento: Printer Trento, 2010. – 289 p.
10. Urinary Sediment Cast Scoring Index for Acute Kidney Injury: A Pilot Study / L.S. Chawla, A. Domm, A. Berger et al. // Nephron Clinical Practice. – 2008. – Vol. 110. – P. 145–150.
11. Bonventre J.V. Cellular pathophysiology of ischemic acute kidney injury / J.V. Bonventre // The Journal of Clinical Investigation. – 2011. – Vol. 121. – P. 4210–4221.
12. Caleffi A. Cylindruria / A. Caleffi, G. Lippi // Clinical Chemistry Laboratory Medicine. – 2015. – Vol. 53. – P. 1471–1477.
13. Schnaper H.W. Remnant nephron physiology and the progression of chronic kidney disease / H.W. Schnaper // Pediatr. Nephrol. – 2014. – Vol. 29. – P. 1–17.