

РОЛЬ БИОМАРКЕРОВ В ДИАГНОСТИКЕ РЕПЕРФУЗИОННО-ИШЕМИЧЕСКОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ПОЧЕК КАК ПОКАЗАНИЯ К ПРОВЕДЕНИЮ ЛЕЧЕБНОГО ПЛАЗМАФЕРЕЗА У БОЛЬНЫХ ПОСЛЕ РЕЗЕКЦИИ ПОЧКИ В УСЛОВИЯХ ТЕПЛОЙ ИШЕМИИ ПО ПОВОДУ ЛОКАЛИЗОВАННОГО ПОЧЕЧНО-КЛЕТОЧНОГО РАКА

Димитриади С.Н.¹, Ушакова Н.Д.¹, Величко А.В.¹, Франциянц Е.М.¹, Розенко Д.А.¹

¹*Федеральное государственное бюджетное учреждение «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Ростов-на-Дону, e-mail: dimitriadi@yandex.ru*

Острое повреждение почек (ОПП) - патологическое состояние, сопровождающееся быстрым развитием дисфункции почек и характеризующееся высокой распространенностью и летальностью. Основными патогенетическими механизмами формирования ОПП являются реперфузионно-ишемические повреждения. Одним из перспективных подходов в коррекции данного осложнения является включение в программу лечения лечебного плазмафереза. Целью настоящей работы является оценка эффективности применения лечебного плазмафереза в профилактике развития и прогрессирования ОПП на основании измерения концентраций маркеров ОПП: цистатина С, L-FABP и NGAL у больных после резекции почки в условиях тотальной тепловой ишемии по поводу локализованного почечно-клеточного рака. На преклинической стадии ОПП выявлено у 15 из 50 больных. У 6 из 15 больных после проведения лечебного плазмафереза (1 группа) в раннем послеоперационном периоде клинических признаков ОПП не выявили. 9 из 15 больных лечебный плазмаферез не проводили (2 группа). У 6 больных 2 группы в течение 72 часов после оперативного вмешательства выявили клиническую стадию ОПП. Выявлены стереотипные изменения концентраций L-FABP и NGAL у больных с высоким уровнем риска в отношении прогрессирования ОПП. Предложен способ оптимизации коррекции реперфузионно-ишемического повреждения почек, в основе которого лежит выявление ОПП на преклинической стадии с последующим применением лечебного плазмафереза.

Ключевые слова: рак почки, острое повреждение почек, маркеры почечного повреждения, лечебный плазмаферез, реперфузионно-ишемическое повреждение почек.

BIOMARKERS SIGNIFICANCE IN REPERFUSION-ISCHEMIC KIDNEY INJURY DIAGNOSING AS AN INDICATION FOR THERAPEUTIC PLASMAPHERESIS IMPLEMENTING IN PATIENTS WITH LOCALISED RENAL CANCER AFTER PARTIAL NEPHRECTOMY UNDER CONDITIONS OF WARM ISCHEMIA

Dimitriadi S.N.¹, Ushakova N.D.¹, Velichko A.V.¹, Frantsiyants E.M.¹, Rozenko D.A.¹

¹*FGBU "Rostov Research Institute of Oncology, Ministry of Health of Russia", Rostov-on-Don, e-mail: dimitriadi@yandex.ru*

Acute kidney injury (AKI) is a pathological condition accompanied by the rapid development of kidney dysfunction and characterized by high prevalence and mortality. The main pathogenetic mechanisms of AKI formation are reperfusion-ischemic injury. One of the perspective approaches to the correction of this complication is to include the therapeutic plasmapheresis in the treatment regimen. The aim of this work is to evaluate the effectiveness of therapeutic plasmapheresis in preventing the development and progression of AKI based on the measurement of concentrations of AKI markers cystatin C, L-FABP and NGAL in patients with localized renal cell cancer after partial nephrectomy under conditions of total warm ischemia. At the preclinical stage AKI was detected in 15 out of 50 patients. Clinical signs of AKI were not detected in 6 out of 15 patients after conducting therapeutic plasmapheresis (group 1) in the early postoperative period. 9 out of 15 patients did not undergo therapeutic plasmapheresis (group 2). In 6 patients out of the second group the clinical stage of AKI was revealed within 72 hours after surgical treatment. Stereotypical changes in the concentrations of L-FABP and NGAL were detected in patients at risk for AKI progression in the study groups. A proposed method is to optimize the correction of reperfusion-ischemic damage to the kidneys and is based on the detection of AKI at the preclinical stage followed by the use of therapeutic plasmapheresis.

Keywords: renal cancer, acute kidney injury, markers of kidney injury, therapeutic plasmapheresis, reperfusion-ischemic kidney injury.

Применение методики тотальной тепловой ишемии почки (ТИП) при резекции почки по поводу локализованного почечно-клеточного рака (ПКР) сопровождается реперфузионно-ишемическим повреждением почечной паренхимы и увеличением риска развития острого повреждения почек (ОПП) [1].

Острое повреждение почек – потенциально обратимое прогрессивное ухудшение почечной функции, приводящее к нарушению системного гомеостаза. Состояние, сопровождающееся увеличением креатинина сыворотки крови на $\geq 26,5$ мкмоль/л в течение 48 часов, и/или увеличением креатинина сыворотки крови в $\geq 1,5$ раза от исходных значений в течение 7 дней и/или снижением диуреза до $< 0,5$ мл/кг/час в течение 6 часов на фоне нормоволемии, указывает на развитие ОПП [2].

Диагностика ОПП основывается на определении скорости клубочковой фильтрации, что позволяет выявить развитие клинической стадии ОПП только через 48–72 часа от момента окончания оперативного вмешательства. Однако в литературе описан способ, диагностики ОПП на преклинической стадии, позволяющий выявить последнее уже через 16 часов после операции путем определения методом ИФА в сыворотке крови больного концентрации ранних маркеров ОПП (цистатина С, L-FABP и NGAL), что предоставляет возможность для поиска способа своевременной коррекции данного осложнения [3-5].

В физиологических условиях почки человека получают до 25% величины сердечного выброса, что позволяет поддерживать электролитный и жидкостный гомеостаз посредством сохранения высокой скорости клубочковой фильтрации. При этом адекватное функционирование почечных канальцев является кислородозависимым процессом. В условиях ишемии кислородный баланс в канальцах поддерживается за счет компенсаторного снижения СКФ и уменьшения канальцевого транспорта растворенных веществ, что приводит к дефициту антиоксидантных веществ, генерации активных форм кислорода, интенсификации процессов перекисного окисления липидов, формированию воспалительного ответа и повреждению эндотелия канальцев нефрона [6].

Более того, восстановление почечного кровотока при снятии зажима с почечной ножки приводит к активному поступлению кислорода к ишемизированным тканям почки, что дополнительно стимулирует процессы перекисного окисления липидов, способствуя ухудшению гемодинамики и нарастанию эндотоксемии [7].

При этом наблюдается усиление эндотелиально-лейкоцитарных взаимодействий, основная роль в которых принадлежит циркулирующим факторам, таким как хемокины и молекулы адгезии (Р- и Е-селектины, ICAM-1, V7-1). Хемотаксис нейтрофилов и макрофагов из эндотелия в гликокаликс формирует стойкий воспалительный ответ, усиливающий действие гипоксии и повышающий отрицательное воздействие токсических радикалов.

Формирование воспалительных реакций также сопровождается синтезом профибротических цитокинов, таких как TGF-1 (*transforming growth factor-1*), вызывающих трансформацию ренальных эпителиальных и эндотелиальных клеток в миофибробласты с формированием тубулоинтерстициального фиброза и атрофии [8].

Лечебный плазмаферез – метод экстракорпоральной детоксикации, реализующийся путем отделения форменных элементов крови от плазмы, содержащей токсины и аутоантитела, с дальнейшим возвращением клеток крови в кровоток и утилизацией плазмы. Основными положительными эффектами данного метода являются: детоксикационный (удаление токсинов, ксенобиотиков, биологически активных веществ, элиминация экзо- и эндотоксинов из клетки, деблокирование биологических систем детоксикации), реокорректирующий (снижение динамической вязкости крови при помощи удаления фибриногена, парапротеинов, глобулинов, грубодисперсных белков), иммунокорректирующий (механическое удаление из кровяного русла аутоантител и циркулирующих иммунных комплексов, оптимизация моноцитарно-макрофагальной системы) [9].

Таким образом, основным патогенетическим механизмом формирования ОПП является реперфузионно-ишемическое повреждение почек, сопровождающееся стойким воспалительным ответом с накоплением токсических радикалов и циркулирующих факторов, приводящих к ухудшению гемодинамики и нарастанию эндотоксемии [10]. Принимая во внимание вышесказанное, применение лечебного плазмафереза с целью коррекции реперфузионно-ишемического повреждения является патогенетически обоснованным. В то же время в литературе отсутствуют сведения об эффективности применения лечебного плазмафереза в лечении больных с ОПП на преклинической стадии [11; 12].

Цели исследования:

- оценить перспективность изучения динамики концентраций биомаркеров ОПП (цистатина С, L-FABP и NGAL) как индикаторов развития реперфузионно-ишемического повреждения почек у больных после резекции почки в условиях тотальной тепловой ишемии по поводу локализованного почечно-клеточного рака с целью решения вопроса о целесообразности применения лечебного плазмафереза;

- оценить эффективность лечебного плазмафереза в профилактике развития и прогрессирования ОПП у пациентов с реперфузионно-ишемическим повреждением почек.

Материал и методы исследования. В данное исследование были включены 50 больных (29 мужчин и 21 женщина) в возрасте $57,5 \pm 12,8$ года, проходивших лечение в ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» МЗ РФ с 2018 по

2019 год по поводу локализованного гистологически верифицированного почечно-клеточного рака. Всем больным была выполнена лапароскопическая или открытая резекция почки с использованием стандартной методики тотальной ТИП [13].

Концентрацию ранних биомаркеров ОПП в сыворотке крови определяли методом иммуноферментного анализа при помощи стандартных тестовых систем: цистатин С (BioVendor, Чехия), KIM-1 (BCMDiagnostics, США), NGAL (BCMDiagnostics, США), L-FABP (Hycult Biotechnology, Нидерланды), ИЛ-18 (BenderMedsystems, США). Измерения концентраций биомаркеров выполняли за сутки, через 16 часов и через 24 часа после оперативного вмешательства. Интраоперационно фиксировали длительность ТИП. В течение 7 суток после окончания оперативного вмешательства оценивали динамику концентрации креатинина в сыворотке крови, скорость диуреза.

Наличие или отсутствие преклинической стадии ОПП в раннем послеоперационном периоде определяли при помощи персонифицированной шкалы риска ранней диагностики ОПП [3]. Клиническую стадию ОПП диагностировали согласно общепринятой классификации KDIGO [14].

Лечебный плазмаферез проводили на аппарате MCS+ «Haemonetics», США по протоколу TPE со скоростью перфузии 40-60 мл/мин., V=4800 об./мин.; плазмозамещение проводили путем внутривенных инфузий растворов гелофузина, 5% альбумина, сбалансированных кристаллоидных растворов в суммарном объеме, превышающем количество эксфузированной плазмы в 2 раза в соотношении 1:1 или 2:1 в зависимости от величины гематокрита и уровня общего белка крови в режиме предиллюции. Объем плазмозамещения составлял 800–1200 мл. Стабилизация крови – 4% цитратом натрия в соотношении антикоагулянт/кровь – 1:8.

Результаты исследования и их обсуждение. На основании примененной предикторной модели [3] преклиническую стадию ОПП (при $\alpha = 3$) выявили у 15 больных (9 мужчин и 6 женщин), 6 из которых в послеоперационном периоде провели лечебный плазмаферез. У всех 6 больных после проведения лечебного плазмафереза данные за развитие ОПП в раннем послеоперационном периоде отсутствовали. У 6 из 9 больных, которым лечебный плазмаферез не проводили, в течение 72 часов после оперативного вмешательства развилось ОПП.

На основании результатов клинических и лабораторных исследований предложен способ оптимизации коррекции реперфузионно-ишемического повреждения почек, в основе которого лежит выявление преклинической стадии ОПП с последующим применением лечебного плазмафереза.

Разработка данного способа включала в себя 3 этапа:

1. На первом этапе разработки среди всех больных, вошедших в исследование, при помощи персонифицированной шкалы риска ранней диагностики ОПП [3] выделили тех, у кого в раннем послеоперационном периоде выявили преклиническую стадию ОПП (при $\alpha = 3$), после чего данной группе больных проводили инфузионную нефропротективную терапию, направленную на коррекцию объема циркулирующей крови, анемии, белково-энергетической недостаточности, водно-электролитного и кислотно-основного баланса, а также антиоксидантную терапию. Через 24 часа после оперативного вмешательства у больных данной группы производили повторный забор крови из периферической вены с целью определения концентраций маркеров ОПП (цистатина С, L-FABP и NGAL). Содержание маркеров ОПП в группах исследования представлено в таблице.

Содержание маркеров ОПП в группах исследования

Порядковый номер больного	Концентрация цистатина С (нг/мл)			Концентрация NGAL (нг/мл)			Концентрация L-FABP (пг/мл)			
	I	II	III	I	II	III	I	II	III	
Группа 1	1	1016,8	1196,3	1231,2	2,4	4,1	4,2	369,3	420,4	432,2
	2	1008,2	1254,8	1312,1	2,6	3,3	3,5	352,3	442,1	448,8
	3	1208,9	1455,8	1354,3	3,7	4,4	3,3	564,8	680,3	724,8
	4	1098,7	1267,4	1211,9	2,6	4,0	4,1	502,4	558,8	611,4
	5	1335,3	1835,4	1218,7	2,2	3,6	3,5	340,9	513,1	158,1
	6	1323,6	1490,8	1004,1	2,6	3,9	3,7	297,2	518,1	303,3
Группа 2	1*	1007,6	1109,5	998,6	2,5	4,3	4,0	367,2	473,1	360,3
	2	1024,3	1391,5	1036,4	2,8	5,1	3,1	679,6	832,6	685,4
	3*	1117,6	1302,1	1288,7	2,2	4,8	2,7	442,1	754,7	500,4
	4	1013,8	1223,2	1031,5	2,3	3,9	2,4	326,8	404,4	834,2
	5	1222,6	1486,8	1234,7	2,2	3,1	2,8	356,2	412,1	763,4
	6*	1081,2	1254,9	1322,1	3,7	5,1	5,0	422,9	598,6	575,1
	7*	1043,4	1435,1	1326,6	3,3	4,5	4,3	581,2	724,1	711,6
	8*	1032,8	1198,7	1254,1	3,6	4,8	4,6	487,2	569,3	550,2
	9*	1065,2	1287,2	1230,1	3,4	4,2	4,2	552,6	673,1	574,4

* – больные, у которых в послеоперационном периоде развилась клиническая стадия ОПП; I – концентрация маркера ОПП за 1 час до операции; II – концентрация маркера ОПП через 16 часов после операции; III – концентрация маркера ОПП через 24 часа после операции.

2. На втором этапе больные при выявленной преклинической стадии ОПП были распределены на две группы. В 1-ю группу вошли больные (6 человек), в лечении которых был применен лечебный плазмаферез, во 2-ю контрольную группу (9 человек) вошли

больные без его применения. У всех больных 1-й группы клинических признаков развития ОПП в раннем послеоперационном периоде не выявили.

Как видно из таблицы, клиническую стадию ОПП во 2-й группе диагностировали у 6 больных. Важно подчеркнуть, что у всех больных в обеих группах исследования после проведения инфузионной терапии имело место сохранение прироста концентрации маркеров NGAL и/или L-FABP на 10% или более от исходных предоперационных значений. Динамика концентрации цистатина С через 24 часа после операции изменялась в значительной степени variabelно в обеих группах.

3. Принимая во внимание особенности динамики маркеров ОПП среди больных обеих групп, на 3-м этапе разработки выделили предикторные факторы риска развития клинической стадии ОПП у больных с преклиническим ОПП после резекции почки по поводу локализованного рака в условиях тепловой ишемии, при наличии которых больному рекомендуется проведение лечебного плазмафереза.

Таким образом, алгоритм применения лечебного плазмафереза заключается в следующем:

1) производят подсчет показателя α при помощи персонифицированной шкалы риска ранней диагностики ОПП: за 1 час до операции в сыворотке крови определяют концентрацию цистатина С (обозначается символом Z), а также концентрации L-FABP и NGAL, интраоперационно фиксируют продолжительность тепловой ишемии почки (ТИП, обозначается символом Y), через 16 часов после операции определяют скорость диуреза больного (обозначается символом a), концентрацию цистатина С (обозначается символом b), концентрации NGAL (обозначается символом c) и L-FABP (обозначается символом d) в венозной крови. Символом X обозначают сумму произведений a, b, c и d на соответствующие весовые коэффициенты, затем для каждого из показателей (X, Y, Z) вычисляют условное числовое значение в баллах от 0 до 1, затем по формуле

$$\alpha = X + Y + Z$$

рассчитывают сумму баллов (α), где

$$X = a*0,4 + b*0,2 + c*0,2 + d*0,2,$$

0,4; 0,2; - весовые коэффициенты,

a = 0, если через 16 часов после операции диурез будет составлять ≥ 70 мл/час; a = 1, если через 16 часов после операции диурез будет составлять < 70 мл/час;

b = 0, если через 16 часов после операции прирост концентрации цистатина С крови составит $< 10\%$; b = 1, если через 16 часов после операции прирост концентрации цистатина С крови составит $\geq 10\%$;

$c = 0$, если через 16 часов после операции прирост концентрации NGAL крови составит $< 10\%$; $c = 1$, если через 16 часов после операции прирост концентрации NGAL крови составит $\geq 10\%$;

$d = 0$, если через 16 часов после операции прирост концентрации L-FABP крови составит $< 10\%$; $d = 1$, если через 16 часов после операции прирост концентрации L-FABP крови составит $\geq 10\%$;

$Y = 0$, если продолжительность ТИП < 15 мин.; $Y = 1$, если продолжительность ТИП = 15–21 мин.;

$Z = 0$, если концентрация цистатина С крови до операции составила менее чем 1000 нг/мл, $Z = 1$.

При получении значения $\alpha < 3$ по результатам использования предикторной модели диагностики риск развития клинического ОПП у больного отсутствует, и, соответственно, проведение дополнительной терапии не требуется; при значении $\alpha = 3$ больному проводят инфузионную нефропротективную терапию, направленную на коррекцию объема циркулирующей крови, анемии, белково-энергетической недостаточности, водно-электролитного и кислотно-основного баланса, а также антиоксидантную терапию;

2) через 24 часа после хирургического лечения производят повторную оценку концентраций ранних маркеров ОПП: L-FABP и NGAL в сыворотке крови: при сохранении прироста более 10% от предоперационных значений L-FABP или NGAL больному проводят лечебный плазмаферез.

Заключение. Таким образом, оценка динамики биомаркеров L-FABP и NGAL у больных через 24 часа после резекции почки в условиях тотальной тепловой ишемии по поводу локализованного почечно-клеточного рака позволяет выявить пациентов с повышенным риском в отношении развития и прогрессирования ОПП. Применение лечебного плазмафереза у больных ОПП на преклинической стадии показало его высокую эффективность в коррекции реперфузионно-ишемического повреждения почек. Это послужило основанием для разработки способа коррекции преклинической ОПП у больных после органосохраняющего лечения локализованного рака почки в условиях ТИП, базирующегося на включении лечебного плазмафереза в программу лечения. Предполагаем, что внедрение лечебного плазмафереза в клиническую практику при лечении данной категории больных в значительной мере позволит сократить период госпитализации и реабилитации.

Финансирование. Исследование было поддержано грантом Президента Российской Федерации для поддержки молодых российских ученых МД-5060.2018.7 на тему: «Новый подход к ранней диагностике

острого повреждения почек на основе анализа биомаркеров у больных почечно-клеточным раком после резекции почки в условиях тепловой ишемии».

Список литературы

1. Дряженков И.Г., Комлев Д.Л., Лось М.С. Факторы ишемического повреждения почки при ее резекции // Клиническая медицина. 2013. Т. 91. № 6. С. 21-25.
2. Смирнов А.В., Добронравов В.А., Румянцев А.Ш., Шилов Е.М., Ватазин А.В., Каюков И.Г., Кучер А.Г., Есаян А.М. Национальные рекомендации. Острое повреждение почек: основные принципы диагностики, профилактики и терапии. Часть I // Нефрология. 2016. Т. 20. № 1. С. 79-104.
3. Кит О.И., Димитриади С.Н., Франциянц Е.М., Ушакова Н.Д. Биомаркеры в диагностике острого повреждения почек после органосохраняющего хирургического лечения локализованного рака почки // Медицинский вестник Юга России. 2018. Т. 9. № 3. С. 77-83. DOI: 10.21886/2219-8075-2018-9-3-77-83.
4. Кит О.И., Франциянц Е.М., Димитриади С.Н., Каплиева И.В., Трепитаки Л.К. Экспрессия молекулярных маркеров острого повреждения почек в динамике экспериментальной ишемии // Экспериментальная и клиническая урология. 2014. № 4. С. 12-15.
5. Мирошкина И.В., Грицкевич А.А., Байтман Т.П., Пьяникин С.С., Аревин А.Г., Калинин Д.В., Демидова В.С., Теплов А.А. Роль маркеров острого повреждения почки в оценке функции почки при ее ишемии // Экспериментальная и клиническая урология. 2018. № 4. С. 114-120.
6. Морозов Ю.А., Марченко Т.В. Патологические аспекты острого почечного повреждения // Почка. 2012. № 2. С. 72-77.
7. Артёмов Д.В., Зулкарнаев А.Б. Современное представление о патогенезе и подходы к профилактике и лечению ишемического и реперфузионного повреждения почечного трансплантата // Практическая медицина. 2018. Т. 16. № 9. С. 28-33. DOI: 10.32000/2072-1757-2018-9-28-33.
8. Кит О.И., Франциянц Е.М., Димитриади С.Н., Шевченко А.Н., Каплиева И.В., Трепитаки Л.К. Экспрессия маркеров неоангиогенеза и фибринолитической системы в динамике экспериментальной ишемии почки у крыс. // Экспериментальная и клиническая урология. 2015. № 1. С. 20-23.
9. Александрова И.В., Марченкова Л.В., Рей С.И., Бердников М.Е., Ильинский Г.А. Плазмаферез в комплексном лечении синдрома позиционного сдавления мягких тканей // Вестник новых медицинских технологий. 2011. Т. 18. № 4. С. 114-117.

10. Соколов Д.В., Полушин Ю.С. Острое почечное повреждение в периоперационном периоде // Вестник анестезиологии и реаниматологии. 2018. Т. 15. № 1. С. 46-53. DOI: 10.21292/2078-5658-2018-15-1-46-54.
11. Салимов Э.Л., Рагимов А.А., Каабак М.М., Байрамалибейли И.Э., Нечаев И.А. Использование плазмафереза с целью коррекции реперфузионной травмы при трансплантации почки // Гематология и трансфузиология. 2014. № 1-S1. С. 61.
12. Колесников С.В., Борисов А.С. Острое почечное повреждение: новые аспекты известной проблемы // Патология кровообращения и кардиохирургия. 2013. № 4. С. 69-73.
13. Димитриади С.Н. Новые возможности проведения лапароскопической резекции почки по поводу почечно-клеточного рака с вовлечением чашечно-лоханочной системы // Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Серия: Естественные науки. 2014. № 4 (182). С. 82-86.
14. Acute Kidney Injury Work Group. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) KDIGO Clinical Practice Guideline for Acute Kidney Injury. Kidney Int Suppl. 2012. no 2. P. 1-126.