



УДК 616.63-008.6:616.61-008.64-036.12-06:616.155.194

СПОРНЫЕ ВОПРОСЫ ВЛИЯНИЯ УРЕМИЧЕСКОЙ ИНТОКСИКАЦИИ И СВОБОДНО-РАДИКАЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ НА РАЗВИТИЕ У БОЛЬНЫХ АНЕМИИ ПРИ ТЕРМИНАЛЬНОЙ СТАДИИ ХРОНИЧЕСКОЙ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

Н.А. Лобанова^{1,2}, Н.Н. Боровков²,

¹ГУЗ «Нижегородская областная клиническая больница им. Н.А. Семашко», г. Н. Новгород,

²ГОУ ВПО «Нижегородская государственная медицинская академия Минздравсоцразвития»

Лобанова Надежда Анатольевна – e-mail: lobanovy@inbox.ru

На основании исследования показателей периферической крови и эндогенной интоксикации у 108 пациентов с терминальной хронической почечной недостаточностью (ХПН) уточнены факторы, влияющие на развитие анемии у этих больных. Сопоставление полученных результатов в группе пациентов, находящихся на диализе, и группы больных, не получающих заместительную почечную терапию (ЗПТ), выявило, что в группе пациентов с терминальной ХПН до начала лечения гемодиализом тяжесть анемии связана с уровнем эндогенной интоксикации и окислительным стрессом.

Ключевые слова: терминальная хроническая почечная недостаточность, анемия, свободно-радикальное окисление, перекисное окисление липидов, уремическая интоксикация.

According to the peripheral blood analysis and endogenous intoxication examination of 108 patients with terminal chronic kidney disease (CKD) there were determined the factors effecting on the anemia progress of these patients. The comparison of the results of the group of the patients being on hemodialysis and the group of the patients not receiving substantive renal therapy (SRT) displayed that in the group of the patients with terminal CKD before starting the hemodialysis treatment the disease severity is connected with the intoxication level and oxidative stress.

Key words: end-stage renal disease, anaemia, free-radical oxidation, lipid peroxidation, uremic intoxication.

Введение

Несмотря на прогресс в методах диагностики и лечения хронических болезней почек (ХБП), количество лиц с терминальной хронической почечной недостаточностью (ХПН) ежегодно увеличивается в среднем на 11,7% [1].

Одним из факторов, отягощающих течение ХПН в терминальной стадии, является развитие у больных анемии, влияющей практически на состояние каждого органа. Анемия приводит к ослаблению иммунного ответа [2], гипертрофии левого желудочка сердца (ГЛЖ) [3, 4], снижению переносимости физических нагрузок [5], нарушению когнитивных функций [6] и в целом к снижению качества жизни больных [7]. У пациентов с конечной стадией болезни почек (КСБП) тяжелая анемия также ассоциируется с увеличением сроков госпитализации [8], стоимости лечения [9] и смертностью [4, 8].

Традиционно развитие анемии у больных с терминальной стадией ХПН связывают с относительным дефицитом эндогенного эритропоэтина [10, 11]. Тем не менее, несмотря на проведенные многочисленные исследования и существующие стандарты лечения анемии, проблема ее терапии при ХПН остается весьма актуальной для клинической практики. В частности нет однозначного мнения относительно воздействия процессов свободно-радикального окисления (СРО) на развитие анемии у этих больных, а многочисленные, на первый взгляд логичные, попытки увязать тяжесть анемии с величинами накопления в организме конкретных уремических токсинов не увенчались успехом [11].

Целью настоящей работы с учетом вышеизложенного явилось исследование влияния реакции СРО и уремической интоксикации на развитие анемии при терминальной стадии ХПН у больных как находящихся на гемодиализе, так и не получающих заместительную почечную терапию (ЗПТ).

Материалы и методы

Работа выполнена на базе отделения диализа и гравитационной хирургии крови (ГХК) ГУЗ НОКБ им. Н.А. Семашко.

Проведено обследование 108 больных, средний возраст 51±11,5 года, с терминальной стадией ХПН. Тяжесть ХПН оценивалась согласно классификации K\DOQI (2002 г.). Последнюю (V) стадию ХБП, при которой скорость клубочковой фильтрации (СКФ) ниже 15 мл/мин., в нашей стране обозначают понятием «терминальная ХПН» [4].

Больные были разделены на 2 группы: первая – 50 пациентов – до начала заместительной почечной терапии (ЗПТ) Среди больных было 20 мужчин и 30 женщин, средний возраст составлял 50,9 (27;74) года, средняя продолжительность заболевания почек, приведшего к ХПН, составляла 12 лет (1;42). Вторая группа – 58 пациентов, получающих ЗПТ методом программного гемодиализа. Среди них было мужчин – 32 и 26 женщин, средний возраст составлял 51,8 (27;71) года. Продолжительность заболевания, приведшего к терминальной ХПН, составляла 19 (5;54) лет. Таким образом, обе группы больных были сопоставимы по возрастному-половому составу, характеру патологии.

Пациентам первой группы не проводилось лечение анемии в додиализной стадии ХПН и предполагалось начать ЗПТ после настоящего обследования. Больным второй группы проводилась гемодиализная терапия по стандартной методике (три раза в неделю сеансами по 4 часа на аппаратах «Fresenius 4008В» (Германия). Все эти больные на момент включения в исследование получали лечение анемии при ХПН согласно существующим стандартам. Применялись средства, стимулирующие эритропоэз (ССЭ), препараты железа.

Контрольной группой служили 20 пациентов с заболеванием почек, без почечной недостаточности и анемии, сопоставимые с больными по возрастному-половому составу, характеру патологии.

Обследование больных включало: исследование показателей периферической крови на автоматическом анализаторе «MICROS 60-OT» (Австрия) и определение уровня азотемии на биохимическом анализаторе KONELAB 60i (Финляндия). Содержание продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в сыворотке крови определяли методом И.А. Волчегорского и др. (1989). Анализ СРО и активности антиоксидантной системы (АС) в сыворотке крови проводился биохемилюминесцентным методом. Для регистрации индуцированной хемилюминесценции использовался прибор биохемилюминометр (БХЛ-06), сопряженный с компьютером IBM PC\AT в диалоговом режиме. Оценка выраженности эндогенной интоксикации (ЭИ) у больных и у группы контроля проводилась методом определения уровня веществ низкой и средней молекулярной массы (ВНСММ) (по М.Я. Малаховой, в модификации Т.В. Копытовой).

СКФ рассчитывалась по формуле MDRD (2002 г.). О степени анемии судили на основании критериев ВОЗ (1992 г.). Согласно большинству имеющихся рекомендаций, цель лечения – повышение $Hb > 110$ г/л, и это в равной степени относится к больным как в преддиализных стадиях ХБП, так и к больным на диализе и после трансплантации почки [10].

Для оценки результатов исследований были применены методы статистической обработки, принятые в медико-биологических исследованиях. Для анализа использовался пакет прикладных программ «STATISTICA 6.0».

Выбор критериев проверки гипотез проводился в зависимости от типа распределения. В случае отличия распределения от нормального использовались методы непараметрической статистики. Для нормально распределенных данных для описания приведены средние (М) и среднеквадратичные отклонения (σ): $M \pm \sigma$. Для прочих количественных показателей описание приведено с использованием медианы (Me) и интерквартильного размаха: Me (25p;75p). При проведении множественных сравнений для независимых групп использовался критерий Краскела-Уоллиса, для попарного сравнения независимых групп – критерий Манн-Уитни. Анализ корреляционных взаимоотношений между исследуемыми показателями осуществлялся с помощью критерия

Спирмена. В качестве уровня статистической значимости нами принято $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

При оценке свободнорадикальной активности (СРА) определялись продукты ПОЛ и показатели биохемилюминесценции (БХЛ) плазмы. При исследовании ПОЛ наиболее диагностически значимыми, на наш взгляд, являются первичные молекулярные продукты ПОЛ-диеновые конъюгаты (ДК), триеновые конъюгаты (ТК) и конечные продукты – основания Шиффа (ОШ) и индексы биохемилюминесценции:

1. I max, показывающий потенциальную способность биологического объекта к перекисному окислению липидов;

2. S-светосумма хемилюминесценции обратно пропорциональна антиоксидантной активности пробы крови; светосумма зависит от соотношения свободных радикалов и антиоксидантов в биологическом образце. Содержание антиоксидантов пропорционально скорости торможения каскадных окислительных процессов.

3. tg2 α , характеризующий скорость снижения процессов свободнорадикального окисления в плазме.

По полученным нами данным, для больных с терминальной стадией ХПН характерно достоверное увеличение ($p < 0,05$) всех трех изучаемых показателей БХЛ. Четко представлено, что свободнорадикальная активность плазмы крови пациентов с терминальной ХПН до начала гемодиализной терапии достоверно увеличивается в 1,7 раза, а на диализе – в 2,3 раза по сравнению с группой контроля ($p < 0,05$). При этом достоверно пропорционально увеличивается и величина, обратная антиоксидантной активности пробы в 1,4 и в 2 раза соответственно в этих группах ($p < 0,05$). Полученные данные представлены на рисунке 1.

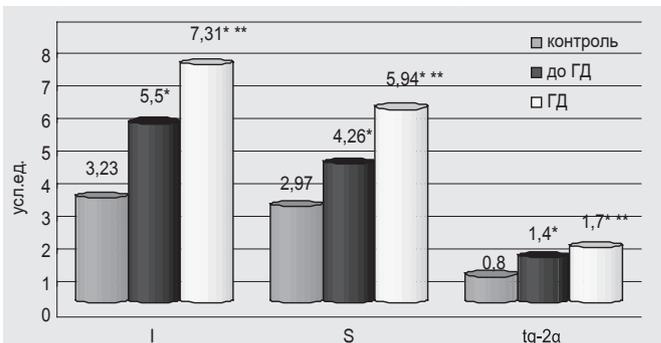


РИС. 1. Показатели биохемилюминесценции в группах пациентов с терминальной ХПН до гемодиализа (ГД) и при лечении программным гемодиализом (показатель S представлен 1:10).
* - $p < 0,05$ по сравнению с группой контроля,
** - $p < 0,001$ по сравнению с додиализной группой.

Возможно, повышение I max и S в группе пациентов на ГД связано с применением в комплексной терапии анемии внутривенного препарата железа (сахарат железа). Железо (Fe) как металл переменной валентности способен индуцировать СРО и усугублять окислительный стресс в условиях нарушения нормального метаболизма и угнетения антиоксидантных систем.

У пациентов с терминальной ХПН, не получающих ЗПТ, было установлено значительное достоверное ($p < 0,05$) увеличение конечных продуктов пероксидации (ОШ) в плазме по сравнению с группой контроля и группой пациентов на гемодиализе. Обращает на себя внимание, что уровень первичных продуктов пероксидации (ДК и ТК) в плазме больных, не получающих гемодиализ, достоверно не отличался от группы контроля. У пациентов на ГД количество ТК по отношению к показателям группы додиализных пациентов и контроля было даже достоверно ниже ($p < 0,05$). Уровень ДК достоверно в наблюдаемых группах не отличался. Полученные результаты свидетельствуют о том, что, очевидно, реакции ПОЛ при терминальной ХПН идут до образования большого количества конечных продуктов (ОШ), которые в свою очередь, возможно, разрушаются во время процедуры ГД (рис. 2).

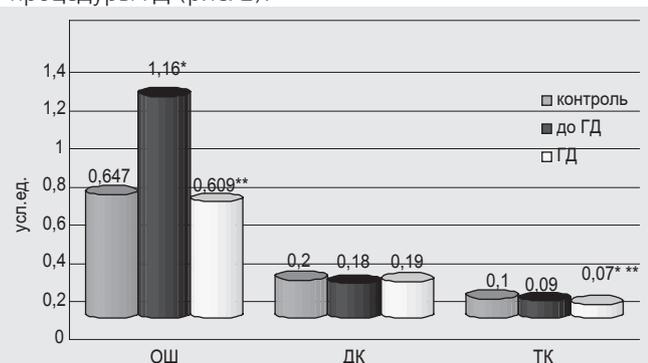


РИС. 2. Уровень продуктов пероксидации у больных с терминальной ХПН и в группе контроля (показатель ОШ представлен в масштабе 1:10).

*- $p < 0,05$ по сравнению с группой контроля,
**- $p < 0,005$ по сравнению с додиализной группой,

Таким образом, в крови пациентов с терминальной ХПН зарегистрирована интенсификация свободно-радикальных процессов и снижение антиоксидантной активности, причем у больных, получающих диализную терапию, этот дисбаланс более выражен.

Для характеристики процесса ПОЛ в обеих группах пациентов с терминальной ХПН нами введены коэффициенты I/S и ОШ/ДК. Введение этих коэффициентов позволило дать интегральную оценку направленности процесса ПОЛ. Коэффициенты I/S в группе пациентов с терминальной ХПН до ГД и при ЗПТ методом программного гемодиализа достоверно не различались. Это свидетельствует об одинаково выраженном нарушении баланса анти- и прооксидантной систем в сторону преобладания последней в обеих группах пациентов с терминальной ХПН. Коэффициент ОШ/ДК в группе пациентов до ГД достоверно отличался от группы диализных более чем в два раза выше, чем у пациентов на ГД (таблица 1).

Особенности полученных данных могут быть связаны с выведением конечных продуктов ПОЛ во время сеанса ГД и, соответственно, с меньшим их токсическим эффектом. Наши

данные отличаются от результатов, полученных другими исследователями, которые отметили возрастание количества конечных продуктов ПОЛ – в виде Шиффовых оснований, снижения у больных активных кислородных метаболитов при гемодиализе, вероятнее всего в связи с их адекватным выведением, эффективной работой ферментативной антиоксидантной защиты [12].

ТАБЛИЦА 1. Показатели интегральных коэффициентов перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы защиты организма у больных с терминальной стадией ХПН, получающих и не получающих ЗПТ ($M \pm t$)

Показатель	Группа больных		
	до ГД	ГД	p
I/S	0,125±0,03	0,13±0,048	p>0,05
ОШ/ДК	67,1±21,3	32,64±8,4	p<0,05

При оценке взаимосвязи анемии и параметров свободнорадикальной активности в группе пациентов с терминальной ХПН до диализа следует указать на обратную корреляционную зависимость между уровнем Hb и показателем I/S ($r = -0,62$; $p = 0,0001$), а также умеренную обратную корреляционную связь Hb с I max ($r = -0,4$; $p = 0,02$), tg2α ($r = -0,44$; $p = 0,01$). Кроме того, у этих же пациентов отмечалась обратная корреляционная зависимость между количеством эритроцитов и показателем I/S ($r = -0,54$; $p = 0,0001$). В группе диализных пациентов данных корреляционных взаимодействий не обнаружено.

Уровень эндоинтоксикации оценивался нами по количеству веществ низкой и средней молекулярной массы (ВНСММ) в плазме и эритроцитах, расчетных показателях (коэффициент расчета эндогенной интоксикации (КРЭИ), катаболического пула), содержанию азотистых метаболитов в крови.

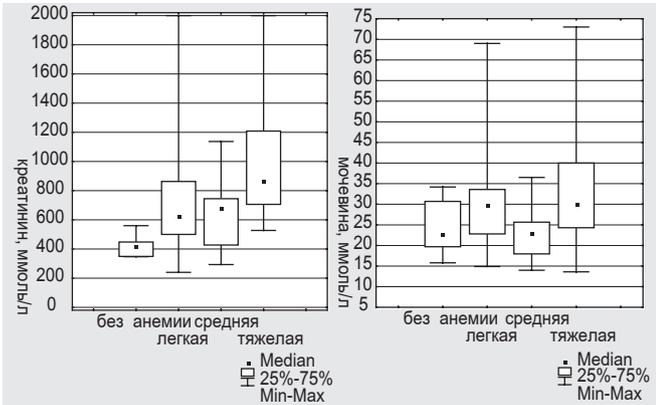
Мочевина и креатинин крови у больных с ХПН в обеих группах были значительно повышены. Показатели представлены в таблице 2.

ТАБЛИЦА 2. Показатели мочевины и креатинина крови у больных с терминальной стадией ХПН, не получающих ЗПТ, находящихся на гемодиализе и в группе контроля (Me(25%;75%))

Показатель	Контрольная группа	Группа больных	
		До ГД	ГД
мочевина, ммоль/л	4,3 (2,9;5,8)	26 (21,1;34,8) *	22,45 (18,1;25,7) * **
креатинин, мкмоль/л	75 (63;87)	722 (527;880) *	794,5 (726;952) * **

*- $p < 0,001$ по сравнению с группой контроля,
**- $p < 0,05$ по сравнению с додиализной группой.

Небезынтересно, что при разделении группы додиализных пациентов по степени тяжести анемии отмечалась достоверная ($p = 0,0007$) связь ее тяжести с увеличением креатинина (рис. 3).



$p = 0,0007$ по Краскела - Уоллиса $p = 0,0752$ по Краскела - Уоллиса

РИС. 3. Показатель креатинина (1) и мочевины (2) у пациентов с терминальной ХПН до ГД при анемии различной степени тяжести.

При исследовании азотемии у больных, получающих ЗПТ методом программного гемодиализа при разной степени тяжести анемии, мы не выявили достоверных отличий в уровне мочевины и креатинина.

Остальные показатели эндогенной интоксикации у больных с терминальной стадией ХПН значимо были выше в группе пациентов, находящихся на диализе, несмотря на проводимую ЗПТ (таблица 3).

ТАБЛИЦА 3.

Показатели эндогенной интоксикации у больных с терминальной стадией ХПН, не получающих ЗПТ; больных, находящихся на гемодиализе; в группе контроля (M±m)

Показатель	Контрольная группа	Группа больных	
		До ГД	ГД
ВНСММ пл, усл. ед.	23,83±2,18	35,5±15,2 *	43,24±6,75 * **
ВНСММ эр, усл. ед.	33,43±3,37	37,22±10,0	42,36±6,79 * **
Катаболический пул, усл. ед.	13,69±1,69	16,8±6,48 *	21,7±2,96 * **
КРЭИ	0,7±0,07	0,98±0,37*	1,04±0,18*

* - $p < 0,05$ по сравнению с группой контроля,
** - $p < 0,05$ по сравнению с додиализной группой.

Согласно приведенным в таблице данным, количество ВНСММ в плазме пациентов на ГД достоверно ($p = 0,001$) в 1,2 раза выше, чем у пациентов до ГД и достоверно ($p = 0,001$) в 1,8 раз выше, чем в группе контроля. Количество ВНСММ в эритроцитах пациентов, находящихся на ГД, достоверно ($p = 0,012$) в 1,1 раза выше, чем у пациентов до ГД и в 1,3 раза достоверно ($p = 0,001$) выше, чем в группе контроля.

При исследовании взаимосвязи анемии и выраженности эндогенной интоксикации в группе пациентов с терминальной ХПН до диализа отмечалась достоверная обратная корреляционная зависимость между уровнем Hb и всеми параметрами эндогенной интоксикации. При анализе взаимосвязи Hb с уровнем креатинина выявлена достоверная обратная корреляционная связь ($r = -0,6$; $p = 0,00001$) с ВНСММ в плазме ($r = -0,5$; $p = 0,002$). А также существует

достоверная обратная корреляционная связь Hb с ВНСММ в эритроцитах ($r = -0,44$; $p < 0,05$), с мочевиной ($r = -0,3$; $p < 0,05$), с веществами катаболического пула ($r = -0,4$; $p = 0,005$). В этой же группе пациентов до ГД отмечалась достоверная обратная связь количества эритроцитов (RBC) с креатинином ($r = -0,5$; $p = 0,0006$) и мочевиной крови ($r = -0,3$; $p = 0,04$).

Выявление достоверной связи Hb с мочевиной, на наш взгляд, доказывает, что и мочевина играет существенную роль в эндогенной интоксикации у пациентов с ХПН и вносит свой вклад в генез анемии. Следовательно, нельзя считать мочевины только маркером элиминации других токсинов и не принимать в расчет ее уровень при решении вопроса о начале ЗПТ.

При проверке гипотезы о том, что накопление молекул средней массы в крови, как основного субстрата эндогенной интоксикации у больных с ХПН, связано с активацией процессов перекисного окисления липидов, нами обнаружены взаимосвязи показателей СРО и ВНСММ в группе пациентов с терминальной ХПН до диализа отмечалась достоверная корреляционная зависимость между I max ($r = 0,82$; $p = 0,001$), S ($r = 0,6$; $p = 0,002$), tg 2α ($r = 0,8$; $p = 0,001$) и ВНСММ в плазме, регистрируемых на длине волны 238 нм.

Выводы

Накопление при ХПН избыточного количества токсических продуктов, биологически активных веществ и продуктов протеолиза, в том числе продуктов ПОЛ, влияет на выраженность анемии. На наш взгляд, в комплексном лечении этих пациентов обоснованно включать препараты с антиоксидантной активностью.



ЛИТЕРАТУРА

1. Бикбов Б.Т., Томилина Н.А. Состояние заместительной терапии больных с хронической почечной недостаточностью в Российской Федерации в 1998-2007 гг. Нефрология и диализ. 2009. № 11 (3). С. 144-233.
2. Gafter U., Kalechman Y., Orlin J.B. Anemia of uremia is associated with reduced in vitro cytokine secretion. Kidney Int. 1994. № 45. P. 224-230.
3. Levin A., Thompson C.R., Ethier J. Left ventricular mass index increase in early renal disease: impact of decline in hemoglobin. Am j Kidney Dis. 1999. № 34. P. 125-134.
4. Foley R.N., Parfrey P.S et al. Cardiovascular disease and mortality in ESRD. Nephrol. 1998. № 11. P. 239-245.
5. Clyne N., Jogestrand T. Effect of erythropoietin treatment on physical exercise capacity and on renal function in predialytic uremic patients. Nephrol. 1992. № 60. P. 390-396.
6. Nissenson A.R. Epoetin and cognitive function. Am j Kidney Dis. 1992. № 20. P. 21-24.
7. Revicki D.A., Brown R.E., Feeny D.H. Health-related quality of life associated with recombinant human erythropoietin therapy for predialysis chronic renal disease patients. Am j Kidney Dis. 1995. № 25. P. 548-554.
8. Xia H., Ebben J., Ma J.Z. Hematocrit levels and hospitalization risks in hemodialysis patients. J Am Soc Nephrol. 1999. № 10. P. 1309-1316.
9. Collins A.J., Li S., Ebben J., et al. Hematocrit levels and associated Medicare expenditures. Am J Kidney Dis. 2000. № 36. P. 282-293.
10. Нефрология: национальное руководство. /Под ред. Н.А. Мухина. М. 2009. 720 с.
11. Шостка Г.Д. Анемия при почечной недостаточности. Нефрология. 1997. № 1. С. 12-18.
12. Ахматов В.Ю. «Свободнорадикальное окисление, дисфункция и дезрегуляция клеток крови у больных хронической почечной недостаточностью, находящихся на гемодиализе». Дис...канд. мед. наук. Челябинск. 2008. 163 с.