

© Ф.Пиццарелли, Т.Церраи, П.Даттоло, Д.Ферро, 2009
УДК 616-085.38:661.728.82

Ф. Пиццарелли¹, Т. Церраи¹, П. Даттоло¹, Д. Ферро¹

ОН-ЛАЙН ГЕМОДИАФИЛЬТРАЦИЯ С АЦЕТАТОМ И БЕЗ НЕГО

F. Pizzarelli, T. Cerrai, P. Dattolo, G. Ferro

ON-LINE HAEMODIAFILTRATION WITH AND WITHOUT ACETATE

¹ Отделение нефрологии и диализа SM Annunziata Hospital, Флоренция, Италия

РЕФЕРАТ

ВВЕДЕНИЕ. У пациентов на он-лайн конвекционном лечении реинфузируется значительное количество диализирующего раствора. Небольшое количество ацетата, присутствующего в замещающем растворе как pH-стабилизирующий фактор может привести к попаданию значительного количества этого аниона пациенту с возможной активацией цитокинов. **МЕТОДЫ.** Для верификации этой гипотезы мы провели он-лайн гемодиализацию (ОЛ-ГДФ) с 3 ммоль/л ацетата и без ацетата в диализирующем растворе двенадцати пациентам в перекрестном рандомизированном исследовании. **РЕЗУЛЬТАТЫ.** В сравнении с исходным уровнем, уровень ацетата плазмы был неизменным во время и после безацетатной ОЛ-ГДФ, тогда как процессе ОЛ-ГДФ с ацетатом он повысился в 5-6 раз в диализирующем растворе. Ацетат плазмы вернулся к базальному уровню через 2 часа по окончании процедуры. Общее повышение оснований у пациентов, получающих ОН-ГДФ с ацетатом составило 36%. Уровень бикарбоната плазмы в конце процедуры был значительно меньше при лечении без ацетата, в сравнении с получавшими ОЛ-ГДФ с ацетатом. Уровень интерлейкина-6 плазмы сравнивали в начале и в процессе процедуры и между двумя методами и была выявлена тенденция к большему повышению через 2 часа после ОЛ-ГДФ с ацетатом. **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Наши предварительные результаты подтверждают предположение, что задержка ацетата в организме особенно высока при конвекционном лечении, тогда как безацетатная ОЛ-ГДФ снижает нагрузку ацетатом. Клинические преимущества этого предстоит оценить в последующих проспективных исследованиях.

Ключевые слова: ацетат, безацетатный диализирующий раствор, цитокины, воспаление, он-лайн гемодиализация.

ABSTRACT

BACKGROUND. In patients on on-line convective treatments, given the considerable quantity of dialysis fluid re-infused, the small amount of acetate present in bicarbonate dialysis fluid as a pH stabilizing factor may allow a significant transfer of that anion to the patient, possibly inducing cytokine activation. **METHODS.** To verify this hypothesis, we performed on-line haemodiafiltration (OL-HDF) with (3 mmol/l) and without acetate in dialysis fluid in a cross-over randomized order on 12 prevalent patients. **RESULTS.** In comparison with the pre-treatment values, plasma acetate levels were unchanged during and after acetate-free OL-HDF, while they were 5–6 times higher in the course of OL-HDF containing acetate in dialysis fluid; plasma acetate levels returned to basal values 2 h after the end of the procedure. The total increase of bases in the patient attributable to acetate was 36%. Plasma bicarbonate values at the end of treatment were significantly lower in treatments without acetate, as compared to those with acetate. Interleukin-6 plasma levels were super-imposable at the beginning and in the course of the two methods compared, but there was a tendency towards a greater increase at an interval of 2 h following OL-HDF with acetate. **CONCLUSIONS.** Our preliminary results confirm the assumption that body gain of acetate is particularly high in convective treatments, while acetate-free OL-HDF slows down acetate burden. Clinical advantages due to these effects should be evaluated in properly designed prospective studies.

Key words: acetate; acetate-free dialysate; cytokines; inflammation; on-line haemodiafiltration.

ВВЕДЕНИЕ

В 1990-х годах были накоплены доказательства того, что при бикарбонатном диализе малое количество ацетата, присутствующее в растворе как pH-стабилизирующий фактор, может привести к попаданию значительного количества этого аниона пациенту [1], вызывая активацию цитокинов с продукцией оксида азота и потенциально негатив-

ными эффектами на сердечно-сосудистую систему [2-4].

У пациентов, получающих лечение он-лайн гемодиализацией (ОЛ-ГДФ), перенос ацетата пациенту должно быть еще больше, учитывая значительное количество диализирующего раствора, вводимого пациенту в ходе процедуры. В соответствии с этим тезисом, французские исследователи нашли значительно более высокий уровень ацетата после лечения у пациентов на ОЛ-ГДФ, по сравнению со стандартным бикарбонатным гемодиализом [5].

Исходя из этих предположений, мы провели 3-х фазное исследование для оценки целесообразности безацетатной ОЛ-ГДФ. При этом мы попыта-

Перевод статьи, опубликованной в официальном журнале Европейской Ассоциации Нефрологов - Европейской Ассоциации Диализа и Трансплантации (ERA-EDTA) Nephrol. Dial. Transplant. 2006, 21 (6): 1648-1651. Публикуется с разрешения издательства Oxford University Press.

Correspondence and offprint requests to: Dr Francesco Pizzarelli, Head of Nephrology Unit, SM Annunziata Hospital, Via dell' Antella 58, 50011 Antella-Firenze, Italy. Email: fpizzarelli@yahoo.com

лись количественно оценить ацетатную нагрузку, получаемую пациентом в течение процедуры стандартной ГДФ, и проверить, ассоциируется ли отсутствие ацетатного аниона с меньшей активацией цитокинов.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Двенадцать диализных пациентов дали свое информированное согласие об участии в исследовании. Среди обследованных больных было 6 мужчин и 6 женщин в возрасте 61 ± 14 лет, получающих лечение диализом в течение 83 ± 4 месяцев. У всех была нативная фистула.

Пациентам было рекомендовано воздержаться от еды и алкоголя перед процедурой, так как у людей нарастание ацетатемии может быть также связано с употреблением алкоголя [6]. Пациенты были случайным образом рандомизированы на две группы. Шесть человек получали вначале один сеанс стандартной ОЛ-ГДФ, затем – сеанс безацетатной ГДФ, другим выполняли те же две процедуры в обратном порядке. У одного пациента из группы, в которой первой процедурой была безацетатная ГДФ, был выявлен высокий уровень базальной ацетатемии ($1,5$ ммоль/л). В связи с подобным неадекватным поведением, являющимся результатом потребления больших количеств алкоголя, этот больной был исключен из исследования. Таким образом, для окончательного анализа использовались результаты обследований 11 пациентов.

Лечение проводилось в варианте парной ГДФ с использованием диализаторов из Полиэфирсульфона® [7,8]. Диализирующий раствор при стандартной ОЛ-ГДФ содержал 3 ммоль/л ацетата. При безацетатной ОЛ-ГДФ с кислотный концентрат содержал 3 ммоль/л соляной кислоты. Кислотный и щелочной концентраты смешивались с водой для образования диализирующего раствора. При этом HCl нейтрализовала эквивалентное количество бикарбоната, превращающегося в воду и диоксид углерода, что стабилизировало pH диализирующего раствора. Кроме различий в содержании ацетата, составы диализирующих растворов были идентичны при обеих процедурах (Na^+ 138 ммоль/л, K^+ 2 ммоль/л, 32 ммоль/л, Ca^{++} $1,5$ ммоль/л). Техника выполнения процедур также не различалась: скорость потока замещающего раствора при преддиализации составляла 167 мл/мин, а скорости потоков крови и диализирующего раствора – 300 мл/мин и 500 мл/мин, соответственно, длительность сеанса ГДФ – 210 – 240 мин.

Показатели кислотно-основного баланса и концентрации электролитов определялись с помощью селективных электродов в пробах крови взятых в

начале, в середине и в конце процедуры. Ацетат (спектрофотометрический метод Boehringer Mannheim GmbH, Mannheim, Germany), С-реактивный белок (СРБ, метод нефелометрии, Array® 360, Beckman Coulter Inc., Fullerton, CA, USA) и интерлейкин-6 (ИЛ-6, Quantikine®, R&D Systems, Minneapolis, MN, USA) определялись в пробах крови каждый час в ходе и через 2 часа после процедуры. Для оценки массового баланса ацетата его концентрацию определялся также в диализате, собираемом на выходе из диализатора постоянно в ходе процедуры с помощью насоса. Так как пробы диализата не собирались, под масло мы оценивали массовый баланс бикарбоната, используя математическую модель [9].

Данные представлены как среднее $\pm$ SD. Для статистической обработки использовался статистический пакет SPSS. Зависимые от времени изменения во время каждой процедуры и через 2 часа после неё анализировались методом ANOVA, используя post hoc-тест Бонферрони для множественных сравнений. Сопоставление результатов двух методов лечения в каждый момент времени проводилось методом Краскелла-Уоллиса для множественных независимых параметров. Статистически достоверными считались различия при $p < 0,05$ (двухсторонний тест).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Не было обнаружено различий в клинических данных пациентов и в средних значениях плазматических концентраций во время наблюдения. Междиализная прибавка веса была $2,6 \pm 1,0$ кг и $2,7 \pm 1,1$ кг при безацетатной и стандартной процедурах ОЛ-ГДФ, соответственно. Динамика ацетатемии у 11 пациентов, включенных в исследование, показана на рисунке. Преддиализный уровень ацетата плазмы не менялся во время и после безацетатной ОЛ-ГДФ, но был в 5 – 6 раз выше во время проведения стандартной ОЛ-ГДФ с ацетатом и возвращался к исходным значениям через 2 ч после процедуры.

При ОЛ-ГДФ с ацетатом массовый баланс для ацетата был четко положительным: 75 ± 29 ммоль, тогда как вычисленный для бикарбоната он составил 132 ± 100 ммоль. Таким образом, доля общей задержки оснований, образующихся при метаболизме ацетата, составляет 36% .

Динамика электролитов плазмы и газов крови представлена в табл.1. Ни во время, ни после лечения мы не обнаружили разницы в анализируемых параметрах, но уровень бикарбоната плазмы был значительно ниже в конце безацетатной ОЛ-ГДФ, по сравнению с лечением с использованием содержащего этот буфер раствора.

Таблица 1

Газы и электролиты крови при стандартной и безацетатной процедурах ОЛ-ГДФ

Время измерения	pO ₂ мм Hg		pCO ₂ мм Hg		Na ммоль/л		К ммоль/л		HCO ₃ ммоль/л	
	Ac+	Ac-	Ac+	Ac-	Ac+	Ac-	Ac+	Ac-	Ac+	Ac-
До процедуры	95,6±12,2	94,1±10,1	35,7±4,0	35,5±3,4	138,4±1,4	137,9±2,6	5,0±0,5	5,0±0,6	20,4±3,2	20,8±2,8
Середина процедуры	95,8±14,2	95,9±15,1	36,8±4,0	37,2±1,8	138,4±1,4	138,1±1,3	3,9±0,5	3,8±0,4	24,6±2,1	24,4±1,7
В конце процедуры	92,5±8,3	92,5±10	36,2±3,0	35,6±3,3	138,4±1,6	138,5±1,6	3,6±0,3	3,5±0,4	26,3±1,5	24,9±2,2

Ac+ – стандартная ОЛ-ГДФ; Ac- – безацетатная ОЛ-ГДФ; уровень HCO₃ плазмы в конце процедуры при Ac+ vs Ac- p<0,05; pO₂ и pCO₂ – парциальное давление кислорода (O₂) и углекислого газа (CO₂) в крови, соответственно.

Динамика изменения С-реактивного белка и ИЛ-6 показаны в табл. 2. Плазматические уровни ИЛ-6 сопоставимы в начале и во время лечения. В то же время отмечалась тенденция к большему их увеличению в течение 2-х часов после завершения процедуры ОЛ-ГДФ с ацетат-содержащим раствором. Различия, однако, оказались не значимы. При анализе исходные индивидуальные данных было установлено, что у шести пациентов уровни С-реактивного белка составляли <0,6 мг/дл; у троих показатели колебались в пределах 0,6-0,9 и у двоих – от 0,9 до 2 мг/дл. Существенной вариабельности этих показателей в ходе наблюдения не отмечено.

ОБСУЖДЕНИЕ

В последние десятилетия бикарбонатный диализ заменил ацетатный, из-за хорошо известных побочных эффектов ацетата [10-14]. В диализирующем растворе, содержащем бикарбонат, рН раствора стабилизируется при добавлении 4-8 ммоль ацетата. Следует, однако, подчеркнуть, что добавление даже такого «малого» количества ацетата приводит к образованию большого диффузионного градиента между диализирующим раствором и кровью. При этом физиологический уровень в плазме для этого аниона составляет <0,1 ммоль/л.

Как и ожидалось, в данном исследовании, мы не обнаружили никакого нарастания уровня ацетата плазмы при безацетатной ОЛ-ГДФ. Напротив, мы обнаружили, что при ацетат-содержащей ОЛ-ГДФ с содержанием в диализирующем растворе 3 ммоль/л ацетата, суммарное накопление оснований у пациентов, получающих ацетат, составила 36%.

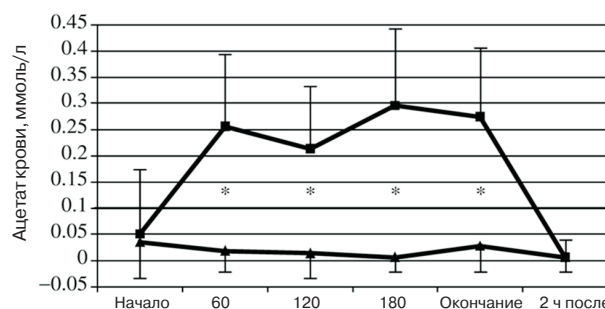
Хотя мы не проводили прямого сравнения с гемодиализом, в исследовании S. Agliata и соавт. было обнаружено значение данного параметра, равное 25% при использовании ацетат-содержащего диализирующего раствора [1]. Таким образом, сравнивая наши и их данные, мы выявили большую ацетатную нагрузку на организм при меньших концентрациях аниона в диализирующем растворе. Эта разница легко объяснима, принимая во

внимание значительное количество диализирующего раствора, применяемое нами – 40 л за процедуру.

При «высокообъемных» конвекционных методах лечения, повышенная скорость поступления ацетата в кровоток превышает возможности метаболизировать его ацетилКоА-синтетазой, константа Михаэлиса (Km) для ацетата у которой 0,7 ммоль [15]. Это объясняет 6-7 кратное нарастание ацетатемии по сравнению с базальными значениями, обнаруженные во время процедуры. Однако 2-х часовой период после лечения достаточен, чтобы метаболизировать накопленный ацетат (см. рис. 1). По окончании стандартной ОЛ-ГДФ мы обнаружили уровень ацетата плазмы в районе 0,3 ммоль/л, что практически совпадает с данными G. Fournier и соавт. (0,32 моль/л), полученными в большой популяции французских пациентов, получавших лечение ОЛ-ГДФ [5].

К сожалению, во французском исследовании баланс массы ацетата не изучался, поэтому сравнить эти показатели не представляется возможным.

При обеих изучаемых методиках концентрация бикарбоната в диализирующем растворе была идентична, 32 ммоль/л. Это означает, что оба ме-



■ --- ■ ОЛ-ГДФ в режиме преддилюции с общим объемом инфузии 40 л замещающего раствора, содержащего 32 ммоль/л бикарбоната и 3 ммоль/л ацетата.

▲ --- ▲ ОЛ-ГДФ в режиме преддилюции с общим объемом инфузии 40 л замещающего раствора, содержащего 32 ммоль/л бикарбоната, без ацетата.

Горизонтальная жирная линия — верхняя граница нормы физиологического уровня ацетата плазмы.

Вертикальные линии: SD; *P<0,01 Ac+ ГДФ vs Ac- ГДФ.

Изменение ацетата плазмы при ОЛ-ГДФ и через 2 часа после ОЛ-ГДФ.

Таблица 2

Изменения СРБ и ИЛ-6 сыворотки крови в ходе лечения и через 2 часа после процедуры

Время измерения	СРБ мг/дл		ИЛ-6 пг/мл	
	Ac+	Ac-	Ac+	Ac-
До	0,8±0,6	0,6±0,3	9,2±8,1	8,4±6,2
1ч	0,9±0,7	0,6±0,4	8,4±7,3	7,5±6,5
2ч	0,9±0,7	0,6±0,4	8,9±8,8	8,7±9,3
3ч	1,0±0,8	0,7±0,4	10,1±8,2	9,8±8,8
В конце	1,0±0,8	0,7±0,4	10,5±7,8	9,9±8,2
2 ч после	0,9±0,7	0,6±0,3	21,4±15,3	15,7±9,5

Ac+ – стандартная ОЛ-ГДФ; Ac- – безацетатная ОЛ-ГДФ.

тогда лечения не были сбалансированы в отношении общего содержания оснований, поскольку при безацетатной ОЛ-ГДФ содержится на 3 ммоль/л меньше буферов в диализирующем растворе, по сравнению со стандартной. Это, видимо, может объяснить значительное снижение концентрации бикарбоната в плазме в конце процедуры безацетатной ОЛ-ГДФ, по сравнению, с ОЛ-ГДФ с использованием ацетата (см. табл.1). Поэтому при безацетатной ОЛ-ГДФ оптимальная концентрация бикарбоната и/или HCl в растворе должна быть пересмотрена. Мы проводим исследование по этой проблеме.

В конце 1980-х годов было продемонстрировано, что высокая концентрация ацетата в диализирующем растворе при ацетатном диализе вызывает продукцию различных цитокинов активированными моноцитами [13,14]. Вероятно, то же происходит и при значительно меньших концентрациях ацетата на бикарбонатном диализе, при котором обнаружено увеличение синтеза TNF [2], уровня ИЛ-1в [4], активности NO-синтетазы [2,3] и активация полиморфноядерных нейтрофилов и моноцитов [4]. Напротив, подобных изменений не выявлено при безацетатной биофильтрации [2-4], диффузионно-конвекционном диализе, основанном на безбуферном диализате и постдилюционной инфузии бикарбоната в зависимости от потребности пациента [16].

Преддиализный уровень ИЛ-6 у наших пациентов совпадал с ожидаемым для диализной популяции [17,18]. Уровень оставался стабильным и совпадал при двух методах лечения во время процедуры, но наблюдалась тенденция к нарастанию через 2 часа после окончания лечения, особенно при ОЛ-ГДФ с ацетатом. (см. табл. 2). Хотя эта разница статистически не достоверна, она может иметь клиническое значение, так как уровень ИЛ-6 в плазме строго ассоциирован с коморбидностью у диализных пациентов и является важным предиктором сердечно-сосудистой и общей смертности [17,18].

Как и по литературным данным [19], почти у половины наших пациентов отмечался повышенный преддиализный уровень СРБ. Мы не нашли никаких различий в величинах СРБ у пациентов, получавших как ацетатную так и безацетатную ОЛ-ГДФ, ни во время процедуры, ни через 2 часа после её окончания. Следует, однако, отметить, что указанный период наблюдения, возможно, недостаточен для регистрации острого воспалительного ответа, для которого обычно требуется много часов, по крайней мере, не меньше четырех для выявления повышения уровня СРБ после повреждения тканей [20]. Кроме того, разный характер изменения сывороточного содержания СРБ и ИЛ-6 через 2 часа после диализа было уже описано [21] и, возможно, объясняется особенностями синтеза печеночных белков после индуцированного диализом воспалительного ответа.

В нашем исследовании мы проводили лечение в варианте парной ОЛ-ГДФ [7,8]. В связи с этим, остается открытым вопрос, можно ли распространить наши результаты на другие ОЛ-техники.

Мы признаем несколько ограничений нашего исследования, основное из которых – малая выборка. Кроме того, вопрос о возможной активации цитокинов исследовался на ограниченном временном интервале. Однако это пилотное исследование впервые убедительно демонстрирует, что задержка ацетата особенно высока при конвекционных методах лечения и, кроме того, подтверждает негативные эффекты ацетата.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Наш предварительный клинический опыт демонстрирует возможность безацетатной ОЛ-ГДФ, но оставляет открытым вопрос о возможности меньшей активации цитокинов при таком методе лечения. Для этого необходимо проведение многоцентровых исследований на больших популяциях и в течение необходимого периода времени. Преимущества и недостатки новых технологий по сравнению с существующими методами терапии должны быть выявлены до их широкого распространения.

Заявление о конфликте интересов. F.P. принимал участие в конференциях, спонсируемых фирмой Bellco.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Agliata S, Atti M, Fortina F et al. Acetate in the dialysate in bicarbonate dialysis. *Blood Purif* 1992; 10: 88
2. Amore A, Cirina P, Mitola S et al. Acetate intolerance is mediated by enhanced synthesis of nitric oxide by endothelial cells. *J Am Soc Nephrol* 1997; 9: 1431-1436

3. Noris M, Todeschini M, Casiraghi F et al. Effect of acetate, bicarbonate dialysis and acetate-free biofiltration on nitric oxide synthesis: implications for dialysis hypotension. *Am J Kidney Dis* 1998; 32: 115-124
4. Todeschini M, Macconi D, Garcia Fernandez N et al. Effect of acetate-free biofiltration and bicarbonate hemodialysis on neutrophil activation. *Am J Kidney Dis* 2002; 40: 783-793
5. Fournier G, Potier J, Thebaud HE et al. Substitution of acetic acid for hydrochloric acid in the bicarbonate buffered dialysate. *Artif Organs* 1998; 22: 608-613
6. Lundquist F, Tygstrup N, Winkler K, Mellemegaard K, Munck-Petersen S. Ethanol metabolism and production of free acetate in the human liver. *J Clin Invest* 1962; 41: 955-961
7. Pizzarelli F, Tetta C, Cerrai T, Maggiore Q. Double-chamber on-line hemodiafiltration: a novel technique with intra-treatment monitoring of dialysate ultrafilter integrity. *Blood Purif* 2000; 18: 237-241
8. Pizzarelli F, Cerrai T, Tetta C. Paired hemodiafiltration: technical assessment and preliminary clinical results. In: Ronco C (ed.), *Contributions to Nephrology*, Vol. 138, Karger: Basel 2003; 99-105
9. Fernandez PC, Cohen RM, Feldman GM. The concept of bicarbonate distribution space: the crucial role of body buffers. *Kidney Int* 1989; 36: 747-752
10. Novello A, Kelsh RC, Esterling RE. Acetate intolerance during hemodialysis. *Clin Nephrol* 1976; 5: 29-32
11. Graefe U, Milutinovich J, Follette WC, Vizzo JE, Babb AL, Scribner BH. Less dialysis-induced morbidity and vascular instability with bicarbonate in dialysate. *Ann Intern Med* 1978; 88: 332-336
12. Veech R. The untoward effects of the anions of dialysis fluids. *Kidney Int* 1988; 34: 587-597
13. Bingel M, Koch KM, Lonnemann G, Dinarello CA, Shaldon S. Enhancement of in vitro human interleukin-1 production by sodium acetate. *Lancet* 1987; 1: 14-16
14. Anderson J, Briefel G, Jones JM, Ryu JH, McGuire M, Pyo Yun Y. Effects of acetate dialysate on transforming growth factor (3., interleukin and Pi-mkroglobulin plasma levels. *Kidney Int* 1991; 40: 1110-1117
15. Campagnari F, Webster LT. Purification and properties of acetyl coenzyme A synthetase from bovine heart mitochondria. *J Biol Chem* 1963; 238: 1628-1633
16. Zucchelli P, Santoro A, Ferrari G, Spongano M. Acetate-free biofiltration: hemodiafiltration with base-free dialysate. *Blood Purif* 1990; 8: 14-22
17. Kaizu Y, Kimura M, Yonemana T et al. Interleukin-6 may mediate malnutrition in chronic hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 1998; 31: 93-100
18. Rao M, Guo D, Perianayagam MC et al. Plasma Interleukin-6 predicts cardiovascular mortality in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2005; 45: 324-333
19. Panichi V, Migliori M, De Pietro S et al. The link of biocompatibility to cytokine production. *Kidney Int* 2000; 58: S96-S103
20. Kushner I, Broder ML, Karp D. Control of the acute phase response: serum C-reactive protein kinetics after acute myocardial infarction. *J Clin Invest* 1978; 61: 235-242
21. Caglar K, Peng Y, Pupim LB et al. Inflammatory signals associated with hemodialysis. *Kidney Int* 2002; 62: 1408-1416

Перевод с английского Зверьков Р.В.

Поступила в редакцию 27.04.2009 г.
Принята в печать 06.05.2009 г.