

ВЛИЯНИЕ ГЕМОДИАЛИЗА НА ПРОЦЕССЫ СВОБОДНО-РАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКОЙ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ

М.В. Осиков, В.Ю. Ахматов*, Л.В. Кривохижина
ЧелГМА, *ГМЛУЗ Челябинская областная клиническая больница,
г. Челябинск

Исследованы процессы свободно-радикального окисления (СРО) у больных ХПН, находящихся на гемодиализе (аппараты «А4008Е» фирмы «Фрезениус», Германия, сеансы по 5 часов 2 раза в неделю, Kt/v $1,37 \pm 0,06$). Процессы СРО в плазме, эритроцитах и лейкоцитах периферической крови исследовали методом хемилюминесценции на приборе «ХЛ-003». Установлено, что у больных ХПН до сеанса гемодиализа происходит усиление процессов СРО в плазме и эритроцитах и угнетение оксидативного потенциала лейкоцитов. Процедура гемодиализа частично восстанавливает оксидативные процессы у больных ХПН.

Оксидативный стресс является неотъемлемой составляющей хронической почечной недостаточности (ХПН). Несмотря на давность изучения данного вопроса, имеющиеся в литературе данные неоднозначны. В пользу присутствия оксидативного стресса говорит повышенный уровень продуктов окисления углеводов, липидов и белков в плазме и тканях больных с уремией. В качестве универсальных механизмов данного явления могут рассматриваться повышение активности НАДФН-оксидазы лейкоцитов и депрессия антиоксидантной системы [16]. По данным Annik et al., при уремии изменяется состояние практически всех основных компонентов антиоксидантной системы и маркеров процессов липопероксидации. Повышен уровень диеновых конъюгатов, гидроперексидей липидов, окисленного глутатиона (GSSG), соотношение GSSG/GSH. Уровень креатинина и мочевины достоверно коррелирует с содержанием GSSG и показателем GSSG/GSH [2]. Повышается уровень МДА в плазме, а также активность каталазы, при этом уровень МДА в эритроцитах достоверно не отличается от нормы [11]. Напротив, Sindhu et al. в эксперименте обнаружили, что при модельной ХПН у крыс снижается системный уровень активности каталазы, а активность глутатионпероксидазы остается неизменной [12]. Мембраны эритроцитов больных с преддиализной ХПН содержат достоверно меньшее количество плазмалогена – чувствительного маркера оксидативного стресса [13]. В тоже время, базисная терапия при ХПН, представленная программным гемодиализом, вносит определенный вклад в реализацию процессов свободно-радикального окисления (СРО). Цель настоящей работы – исследовать влияние процедуры гемодиализа на процессы СРО у больных с ХПН.

Материалы и методы исследования. Под наблюдением находились 25 больных с терминальной стадией ХПН, получающих гемодиализ-

ную терапию в отделении диализа ГМЛУЗ ЧОКБ на аппаратах «А4008Е» («Фрезениус», Германия) 2 раза в неделю сеансами по 5 часов, Kt/v $1,37 \pm 0,06$. Кровь для исследований брали из артериального колена артерио-венозной фистулы до и после сеанса гемодиализа. Группой контроля служили кадровые доноры областной станции переливания крови. Из цельной крови получали плазму, эритроциты и тромбоциты. Процессы СРО исследовали методом хемилюминесцентного анализа (ХЛ) на приборе «ХЛ-003» [1]. ХЛ плазмы и суспензии эритроцитов индуцировали добавлением 25 мМ раствора Fe^{2+} . ХЛ лейкоцитов исследовали в цельной крови, индуцированное свечение оценивали после адгезии клеток к стеклянной поверхности.

Результаты исследования и их обсуждение. У больных ХПН до диализа зафиксированы неоднозначные изменения процессов СРО в клетках крови. ХЛ цельной крови по показателям светосуммы снижается в равной степени как в спонтанном, так и в индуцированном режиме (табл. 1). Данный факт свидетельствует об угнетении способности фагоцитов генерировать активные формы кислорода. Результаты других исследователей также свидетельствуют об угнетении функции фагоцитов. Так, Muniz-Junqueira et al. констатируют снижение функции нейтрофилов у больных ХПН до диализа более чем в 10 раз по сравнению с контролем [9]. Предположительно, уремические нейтрофилы имеют дефект доставки энергии к НАДФН-оксидазной системе. Реакция нейтрофилов на такие стимуляторы, как формил-метгониин-лейцин-фенилаланин, *Staphilococcus aureus*, формил-миристил-ацетат снижена до диализа [15].

Наряду с этим, отмечена активация процессов СРО в эритроцитах. Процессы СРО в эритроцитах возросли в 4,8 раза (табл. 2). Основным субстратом для процессов СРО в эритроцитах являются липиды цитоплазматической мембраны, состояние которых во многом определяет функциональную

Таблица 1

Влияние гемодиализа на показатели хемилюминесценции лейкоцитов у больных ХПН ($M \pm m; s$)

Показатели светимости, $\cdot 10^5$ фагоцитов	Группы сравнения		
	Группа 1 контроль n = 29	Группа 2 до диализа n = 25	Группа 3 после диализа n = 25
Светосумма спонтанная, у.е. $\cdot$ мин	21,16 $\pm$ 4,75; 25,58	3,44 $\pm$ 0,78; 4,24*	10,79 $\pm$ 2,83; 15,08**
Максимальная светимость спонтанная, у.е.	3,73 $\pm$ 0,81; 4,31	0,96 $\pm$ 0,24; 1,29*	2,03 $\pm$ 0,36; 1,94**
Светосумма индуцированная, у.е. $\cdot$ мин	110,84 $\pm$ 7,77; 41,84	17,95 $\pm$ 2,08; 11,29*	23,27 $\pm$ 6,39; 34,41* **
Максимальная светимость индуцированная, у.е.	11,00 $\pm$ 0,89; 4,35	5,33 $\pm$ 0,52; 2,83*	5,77 $\pm$ 0,69; 3,72* **

Примечание: здесь и далее * – $p < 0,05$ при сравнении с группой 1; ** – $p < 0,05$ при сравнении с группой 2 по критерию Стьюдента (U – критерию Манна-Уитни, W – критерию Вилкоксона).

Таблица 2

Влияние гемодиализа на показатели хемилюминесценции эритроцитов у больных ХПН ($M \pm m; s$)

Показатели	Группы сравнения		
	Группа 1 контроль n = 13	Группа 2 до диализа n = 25	Группа 3 после диализа n = 25
Максимальная светимость, у.е.	0,95 $\pm$ 0,12; 0,41	4,54 $\pm$ 0,79; 3,98*	2,07 $\pm$ 0,44; 2,21* (U) ** (W)
Светосумма, у.е. $\cdot$ мин	5,23 $\pm$ 0,57; 1,90	32,03 $\pm$ 5,39; 26,98*	17,68 $\pm$ 4,93; 24,63* (U) ** (W)

активность клеток в целом. Установлено, что эритроциты больных на гемодиализе характеризуются нарушением липидного состава: повышением соотношения 7-кетохолестерина / холестерина, снижением соотношений арахидонат/холестерин и докозагексанат/холестерин [6]. Gwozdinski et al. с помощью спинных ловушек обнаружили усиление генерации свободных радикалов в мембране эритроцита у больных ХПН и сопутствующее снижение подвижности мембранных белков [5]. При этом в эритроцитах повышено содержание глутатион-редуктазы и восстановленного глутатиона, которые снижаются после диализа [14].

Интегральный показатель процессов СРО – ХЛ плазмы достоверно возростала (табл. 3). Литературные данные относительно базального состояния свободнорадикальных процессов у больных ХПН противоречивы. Так, Ward и McLeish считают, что активация СРО присутствует как у больных с ХПН, так и на диализе и связана только с наличием уремии, а факт проведения диализа не оказывает влияния на эти процессы [17]. Полагают, что диализ лишь усиливает оксидативный стресс, присутствующий при уремии [4].

Таким образом, можно констатировать, что у больных ХПН до сеанса гемодиализа происходит усиление процессов СРО в плазме и эритроцитах и угнетение оксидативного потенциала лейкоцитов.

Процедура гемодиализа приводила к полному восстановлению спонтанной активности фагоцитов и частичному восстановлению их функционального резерва (табл. 1). Другие исследователи также установили восстановление функции фагоцитов после диализа без достижения нормального уровня [8]. Причем, качественные изменения активности лейкоцитов после диализа во многом определяются типом диализной мембраны. Если диализ осуществляется на комплемент-активирующих (купрофановых) мембранах, функция клеток еще больше угнетается. В данном случае используется полисульфовая мембрана, не оказывающая негативного воздействия на лейкоциты. Отмеченные факты позволяют трактовать метаболические изменения в нейтрофилах до и после диализа как следствие уремической интоксикации и детоксикации. На роль одного из механизмов претендует антиапоптотический эффект эфферентной терапии. Так, активность апоптоза нейтрофилов, усиливающаяся у больных с ХПН, возвращается к норме после начала регулярного диализа [10].

После процедуры гемодиализа в эритроцитах уменьшаются процессы СРО по показателям ХЛ (табл. 2). Однако интенсивность СРО в клетках все-таки остается выше, чем в контрольной группе. Описанная у больных с терминальной ХПН утрата фосфолипидной асимметрии мембраны,

Таблица 3

Влияние гемодиализа на показатели хемилюминесценции плазмы
у больных ХПН (M ± m; s)

Показатели	Группы сравнения		
	Группа 1 контроль n = 13	Группа 2 до диализа n = 25	Группа 3 после диализа n = 25
Максимальная светимость, у.е.	2,58 ± 0,14; 0,52	3,95 ± 0,20; 1,01*	3,34 ± 0,14; 0,72* ** (W)
Спонтанная светимость, у.е. • мин	0,89 ± 0,08; 0,29	1,47 ± 0,08; 0,38* (U)	1,20 ± 0,06; 0,29* (U) ** (W)

характеризующаяся экстернализацией фосфатидилсерина, становится еще более выраженной при гемодиализе, а степень ее отрицательно коррелирует с концентрацией гемоглобина и гематокритом [7]. При этом удаление ряда уремических токсинов из крови приводит к снижению экстернализации фосфатидилсерина [3]. Процессы СРО в плазме после диализа статистически значимо снижаются без достижения уровня контрольной группы (табл. 3).

Таким образом, в целом больные ХПН, получающие диализную терапию, находятся в состоянии оксидативного стресса, который частично корректируется процедурой гемодиализа

Литература

1. Фархутдинов, Р.Р. Хемилюминисцентные методы исследования свободнорадикального окисления в биологии и медицине / Р.Р. Фархутдинов, В.А. Лиховских. – Уфа, 1998. – 90 с.
2. Annuk, M. Oxidative stress markers in pre-uremic patients / M. Annuk, B. Fellstrom, O. Akerblom et al. // *Clin. Nephrol.* – 2001. – Vol. 56(4). – P. 308–314.
3. Bonomini, M. Removal of uraemic plasma factor(s) using different dialysis modalities reduces phosphatidylserine exposure in red blood cells. / M. Bonomini, E. Ballone, S. Di Stante et al. // *Nephrol. Dial. Transplant.* – 2004. – Vol. 19(1). – P. 68–74.
4. Chugh, S.N. Evaluation of oxidative stress before and after haemodialysis in chronic renal failure / S.N. Chugh, S. Jain, N. Agrawal et al. // *J. Assoc. Physicians India.* – 2000. – Vol. 48(10). – P. 981–984.
5. Gwozdziński, K. Changes in red blood cell membrane structure in patients with chronic renal failure / K. Gwozdziński, M. Janicka, J. Brzeszczynska et al. // *Acta Biochim. Pol.* – 1997. – Vol. 44(1). – P. 99–107.
6. Hashimoto, H. Lipid abnormalities of erythrocyte membranes in hemodialysis patients with chronic renal failure / H. Hashimoto, T. Mio, K. Sumino // *Clin. Chim. Acta.* – 1996. – Vol. 252(2). – P. 137–145.
7. Kong, Q Y Loss of phospholipids asymmetry in red blood cells contributes to anemia in uremic patients / Q Y. Kong, X. Wu, J. Li et al. // *Adv. Perit. Dial.* – 2001 – Vol. 17 – P. 58–60.
8. Mahajan, S. Phagocytic polymorphonuclear function in patients with progressive uremia and the effect of acute hemodialysis / S. Mahajan, O.P. Kalra, K.T. Asit et al. // *Ren. Fail.* – 2005. – Vol. 27(4). – P. 357–360.
9. Muniz-Junqueira, M.I. Acute and chronic influence of hemodialysis according to the membrane used on phagocytic function of neutrophils and monocytes and pro-inflammatory cytokines production in chronic renal failure patients / M.I. Muniz-Junqueira, C. Braga Lopes, C.A. Magalhaes et al. // *Life Sci.* – 2005. – Vol. 77(25). – P. 3141–3155.
10. Sardenberg, C. Effects of uraemia and dialysis modality on polymorphonuclear cell apoptosis and function / C. Sardenberg, P. Suassuna, M.C. Andreoli et al. // *Nephrol. Dial. Transplant.* – 2006. – Vol. 21(1). – P. 160–165.
11. Da Silva, A.C. Oxidative stress and delta-ALA-D activity in chronic renal failure patients / A.C. da Silva, J.B. Rocha, A.L. Morsch et al. // *Biomed. Pharmacother.* – 2007 – Vol. 61(2–3). – P. 180–185.
12. Sindhu, R.K. Expression of catalase and glutathione peroxidase in renal insufficiency / R.K. Sindhu, A. Ehdaie, F. Farmand et al. // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2005. – Vol. 1743(1–2). – P. 86–92.
13. Stenvinkel, P. A study of plasmalogen as an index of oxidative stress in patients with chronic renal failure. Evidence of increased oxidative stress in malnourished patients / P. Stenvinkel, I. Holmberg, O. Heimbürger et al. // *Nephrol. Dial. Transplant.* – 1998. – Vol. 13(10). – P. 2594–2600.
14. Stepniowska, J. Erythrocyte antioxidant defense system in patients with chronic renal failure according to the hemodialysis conditions / J. Stepniowska, B. Dolegowska, K. Ciechanowski et al. // *Arch. Med. Res.* – 2006. – Vol. 37(3). – P. 353–359.
15. Vanholder, R. Contributing factors to the inhibition of phagocytosis in hemodialyzed patients / R. Vanholder, W. Van Biesen, S. Ringoir // *Kidney Int.* – 1993. – Vol. 44(1). – P. 208–214.
16. Vaziri, N.D. Oxidative stress in uremia: nature, mechanisms, and potential consequences / N.D. Vaziri // *Semin. Nephrol.* – 2004. – Vol. 24(5). – P. 469–473.
17. Ward, R.A. Oxidant stress in hemodialysis patients: what are the determining factors? / R.A. Ward, K.R. McLeish // *Artif. Organs.* – 2003. – Vol. 27(3). – P. 230–236.