

© Колесник М.О., Король Л.В., Мигаль Л.Я., Бурдейна О.В., Новаківський В.В., 2015

УДК577.158:616.61-085

**М.О. КОЛЕСНИК, Л.В. КОРОЛЬ, Л.Я. МИГАЛЬ, О.В. БУРДЕЙНА, В.В. НОВАКІВСЬКИЙ**  
**ПОКАЗНИКИ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ ТА РЕЗИСТЕНТНОСТІ ЕРИТРОЦИТІВ**  
**У ХВОРИХ НА ХХН VD ЗАЛЕЖНО ВІД МОДАЛЬНОСТІ НИРКОВОЗАМІСНОЇ ТЕРАПІЇ**

*M. KOLESNYK, L. KOROL, L. MIGAL, O. BURDEYNA, V. NOVAKIVSKYY*

**INDICATORS OF OXIDATIVE STRESS AND RESISTANCE OF ERYTHROCYTES**  
**IN PATIENTS WITH CHRONIC KIDNEY DISEASE STAGE VD DEPENDING ON MODALITY**  
**OF RENAL REPLACEMENT THERAPY**

ДУ «Інститут нефрології НАМН України», Київ

*SI «Institute of Nephrology of NAMS of Ukraine» Kyiv*

**Ключові слова:** *хронічна хвороба нирок, оксидативний стрес, резистентність еритроцитів, нирковозамісна терапія.*

**Key words:** *chronic kidney disease, oxidative stress, resystentance erythrocyte, renal replacement therapy.*

**Резюме.** *Целью работы было изучение влияния оксидативных факторов и методик диализной почечнозаместительной терапии (ДПЗТ) на показатели оксидативного стресса (ОС) и резистентность эритроцитов у больных с хронической болезнью почек VD стадии (ХБП VD) и анемией.*

*Материал и методы исследования. Обследовано 47 больных ХБП VD: 14 больных лечились методом гемодиализа (ГДФ), 14 больных – методом гемодиализа (ГД) и 19 больных – методом перитонеального диализа (ПД). Наличие анемии устанавливали согласно критериям KDIGO (2012).. Контрольная группа - 30 практически здоровых лиц того же возраста и пола. Наряду со стандартными методами диагностики определяли: содержание - малонового диальдегида в сыворотке крови (МДАс) и эритроцитах (МДАэ); содержание белков антиоксидантов сыворотки крови церулоплазмину (ЦПс), трансферрина (ТРС) и SH-групп, индекс ОС (ИОС), активность каталазы в сыворотке крови (КТс), глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ) и в эритроцитах суммарную пероксидазную активность (СПАэ), осмотическую (ОР) и перекисно индуцированную резистентность (ПР), а также проницаемость эритроцитарных мембран (ПЭМ). Статистический анализ проводили с помощью программ Microsoft Excel 5,0 и MedStat .*

*Результаты. Установлено, что у больных с ХБП VD, по сравнению с показателями у практически здоровых лиц, увеличивается содержание МДАс в 3,3 раза и МДАэ - в 1,2 раза, а также снижается содержание ТРС на 34%, SH- групп - на 31%, в эритроцитах СПАэ - на 41% и Г-6-ФДГ - на 58%, растет КТс в 4,6 раза и ИОС; при этом снижается ОР на 30%, ПР на 60%, увеличиваются вдвое перекисный гемолиз и в 1,3 раза ПЭМ.*

*Анализ результатов исследования в зависимости от модальности ДПЗТ показал, что для пациентов, которые лечатся методом ГДФ, характерен рост показателей МДАс в 3,9 раза на фоне снижения ЦПс на 24%, ТРС - на 33%, SH- групп - на 25%, СПАэ - на 51 %, Г-6-ФДГэ - на 42%, увеличение ИОС в сыворотке крови в 5,4 раза и в 2,6 раза в эритроцитах, перекисный гемолиз - в 3,6 раза ( $p < 0,05$ ) и КТс в 3,5 раза ( $p < 0,02$ ); для ГД-пациентов характерны высокие величины МДАэ, ИОС, перекисный гемолиз, ПЭМ и КТс, наряду с более отчетливым снижением показателей ТРС, SH-групп, СПАэ и Г-6-ФДГэ сравнению с показателями у ГДФ больных.*

*Выводы. Для ПД пациентов характерны низкие показатели содержания МДАс и наиболее высокие значения СПАэ и фоне существенного роста ЦПс в 1,7 раза и низких показателей ТРС и Г-6-ФДГэ. Величина ИОС у ПД пациентов свидетельствовал о низком уровне ОС.*

**Колесник Микола Олексійович**  
**director@inephrology.kiev.ua**

Следовательно, у больных ХБП VД, находящихся на ГД, ГДФ или ПД наличие анемии ассоциируется с высокой активностью ОС и увеличением гемолиза. Вместе с этим для ГДФ больных характерны низкие показатели гемолиза и высокая степень защиты эритроцитов, а для ГД больных – высокие показатели ОС.

**Summary.** The object was to study the effect of oxidative factors and methods of renal replacement therapy (RRT) on indices of oxidative stress (OS) and resistance cells in blood in patients with chronic kidney disease stage V (CKD VD) and anemic syndrome.

**Material and methods.** The study involved 47 patients with CKD VD: 14 patients were treated by hemodiafiltration (HDF), 14 patients by hemodialysis (HD) and 19 patients by peritoneal dialysis (PD). The severity of anemia was assessed according to the KDIGO (2012) criteria. The control group consisted of 30 healthy people of the same age and sex. Along with the standard diagnostic methods, we defined the content of malonic dialdehyde in serum (MDAs) and in erythrocytes (MDAe), the content of ceruloplasmin (CPs), transferrin (TRs) and SH-groups in the blood serum, the index of the OS (IOS), catalase activity in serum (CTs), glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-PDHe) and total peroxidase activity (TPA) in erythrocyte, osmotic (OR) and peroxide resistance (PR) of red blood cells and erythrocyte membrane permeability (EMP). Statistical analysis was performed using the programs Microsoft Excel 5,0 and MedStat.

**Results.** It has been stated that in the CKD VD patients against the rates in control group the MDAs content increased by 3.3 times and MDAe - 1.2 times, TRs content reduced by 34%, SH-groups - by 31%, TPAe - by 41% and G-6-PDHe - by 58%, markers of OR by 30%, PR-by 60%; 4.6 times increased CTs activity and OSI; 2 times grew peroxide hemolysis (PH) and 1.3 times - EMP. The analysis (depending on the RRT modality) showed that the patients treated by HDF had typical MDAs increase by 3.9 times on a background of CPs by 24%, TRs - 33%, SH-groups - 25%, TPAe - 51%, G-6-PDHe - 42%; the increase in serum OSI - 5.4 times and 2.6 times in erythrocytes, PR - by 3.6 times and CTs activity by 3,5 times; HD group were characterized by the highest value of MDAe, OSI, PH and CTs, along with more expressed decrease of indices TRs, SH-groups, TPA and G-6-PDHe activity compared with rates in patients with HDF. The patients treated with PD had the lowest content of MDAs and the highest values on the background of TPAe, the significant increase of CPs by 1.7 times and lowest TRs and G-6-PDHe. The patients with PD showed twice lower OS activity by OSI.

**Conclusion.** Thus, in patients with CKD VD, who had HD, HDF or PD an anemic syndrome was associated with high OS activity and the increased degree of hemolysis. These changes are stipulated by RRT methods: for patients receiving HDF were typical the lowest rates of hemolysis and the highest degree of protection for erythrocytes, and for patients treated with HD - the highest OS.

**ВСТУП.** Анемія за своїми наслідками є одним з найбільш значимих проявів хронічної хвороби нирок (ХХН) особливо у хворих на ХХН VД стадії, які отримують діалізу нирковозамісну терапію (ДНЗТ). Серед причин розвитку анемії важливою її складовою є гемолиз, що ініційований ДНЗТ та обумовлений прямим контактом крові з чужорідною поверхнею, впливом на кров пацієнта рухомих частин апарату «штучна нирка», дією діалітичних розчинів або речовинами, що використовуються для дезінфекції діалітичної апаратури [1, 14, 32]. Також гемолізу еритроцитів сприяють порушення обміну ліпідів мембран еритроцитів: клітинні мембрани втрачають механічну стійкість і швидше руйнуються [4, 13, 18].

Також однією з причин гемолізу у хворих на ХХН VД стадії є оксидативне ушкодження еритроцитів вільними радикалами та ліпідними пероксидами, що накопичуються в крові при зниженні антиоксидантного захисту клітин та розвитку оксидативного стресу (ОС) [4, 11, 14, 17]. Найбільше оксидативному ураженню піддаються фосfolіпиди та протеїни клітинних мембран [2, 30]. Схильність компонентів мембран до вільнорадикального окислення (ВРО) пов'язана з наявністю подвійних зв'язків в залишках жирних кислот, фосfolіпідів та тіолових груп протеїнів, а також з однорідністю середовища і високим вмістом кисню в біліпідному шарі, проникаючи до якого, вільні радикали ініціюють ланцюгові реакції окислення ліпідів та протеїнів, при цьому залучаючи й гідрофобні ділян-

ки трансмембранних протеїнів -  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФази і  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФази, що сприяє порушенню їх міцності і веде до їх руйнування [2, 5, 16]. Серед параметрів стійкості еритроцитів до різних руйнівних чинників найчастіше використовуються показники їх кислотної, механічної, осмотичної та перекисної резистентності [13, 14, 16, 27].

Виходячи з вище викладеного, метою цього дослідження було вивчення особливостей ОС та резистентності мембран еритроцитів у хворих на ХХН VД стадії з анемією, які лікувались методами ГД, ГДФ та ПД.

#### **МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.**

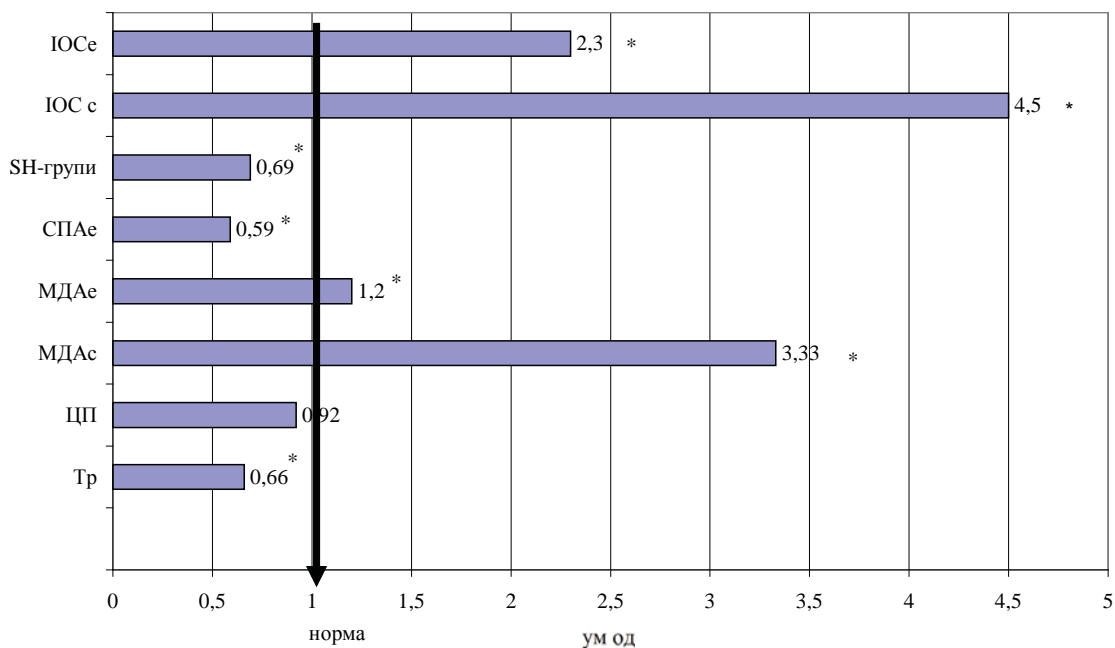
Під спостереженням перебувало 47 хворих на ХХН VД стадії, 14 хворих лікувались методом ГДФ (група I), 14 хворих - методом ГД (група II) та 19 хворих – методом ПД (група III). Виразність анемії у хворих встановлювали згідно з критеріями KDIGO (2012). Контрольна група включала 30 практично здорових осіб того ж віку та статі.

Під час дослідження всім хворим поряд зі стандартними методами обстеження, що включали загальноклінічні, біохімічні та інструментальні методики обстеження, додатково в крові визначали маркери ОС: вміст вторинних продуктів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) – вміст малонового діальдегіду (МДА) в сироватці крові та еритроцитах; в сироватці крові визначали концентрацію церулоплазміну (ЦП), трансферину (ТР) і SH-груп, активність каталази; в еритроцитах - активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (Г-6-ФДГ)

та сумарну їх пероксидазну активність (СПА) [3]. Паралельно визначали осмотичну резистентність еритроцитів уніфікованим методом в модифікації Л.І. Ідельсона та їх перекисну резистентність, проникність еритроцитарних мембран (ПЕМ) та перекисний гемоліз [8-9]. На основі отриманих даних розраховували індекс ОС (ІОС), що є показником інтенсивності ОС [3, 10]. Статистичний аналіз отриманих результатів проводили за допо-

могою комп'ютерних програм Microsoft Excel 5,0 і MedStat.

**РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** В ході досліджень було відзначено, що у хворих на ХХН ВД стадії, які лікуються методами ДНЗТ в сироватці крові майже у 3,3 рази ( $p < 0,001$ ) та в еритроцитах в 1,2 рази ( $p < 0,05$ ) збільшується вміст МДА порівняно з середніми величинами у групі практично здорових осіб (рис 1).



Примітка \* - статистично достовірна різниця в порівнянні з нормою.

Рис 1. Коливання (відхилення від норми) показників прооксидантно-антиоксидантного балансу в крові хворих на ХХН ВД стадії.

Поряд з підвищенням продукції МДА у хворих на ХХН ВД стадії порівняно з показниками у групі практично здорових осіб констатовано зниження в сироватці крові вмісту ТР на 34% ( $p < 0,01$ ), SH-груп - на 31% ( $p < 0,02$ ) та СПА еритроцитів - на 41% ( $p < 0,01$ ), що в певній мірі обумовлює активність зниження антиоксидантної ємкості крові, що сприяє підтриманню високої концентрації продуктів пероксидації та їх негативному пролонгованому впливу на клітини, зокрема еритроцити. Такий стан сприяє високій інтенсивності ОС, що підтверджується й досить високими величинами ІОС: розрахунок якого показав підвищення інтенсивності ОС майже в 4,5 рази в позаклітинному секторі крові та в 2,3 рази безпосередньо в еритроцитах (див. рис. 1).

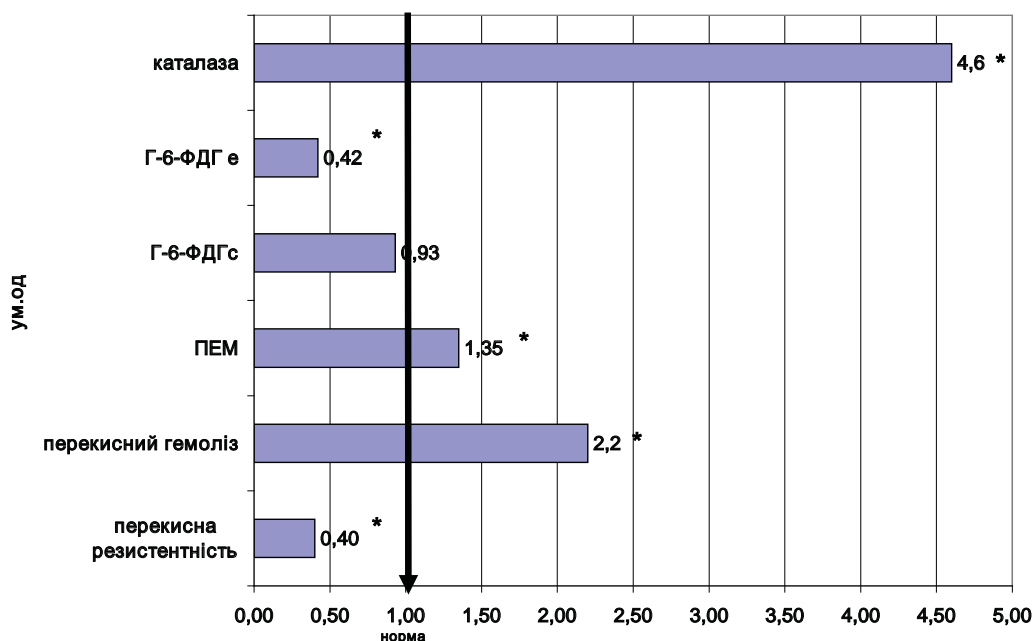
Оцінюючи активність ОС у хворих на ХХН ВД стадії необхідно враховувати активний патологічний процес в нирках, наявність хронічного запалення, вплив безпосередньо самих процедур ДНЗТ на рівень продуктів пероксидації [15,18 ] та вміст антиоксидантних протеїнів в крові, враховуючи той факт, що саме ЦП та ТР відіграють особливу

роль як основні антиоксидантні маркери сироватки крові, беручи участь у окисленні  $Fe^{2+}$  та його знешкодженні, а також виступаючи, в свою чергу, як основні білки еритропоезу. Відомо, що їх недостатність призводить до накопичення в крові досить потужного оксиданта -  $Fe^{2+}$ , що ініціює розвиток реакцій ВРО та сприяє надмірному утворенню АФК [6,16], а за умов ще й недостатнього антипероксидного захисту (наприклад, при зниженні СПА еритроцитів) призводить до пероксидного ушкодження компонентів мембран еритроцитів, до їх руйнації та збільшення відсотку гемолізу [7, 14]. Цей факт також підтверджується змінами показників, що характеризують активність гемолітичних процесів в крові хворих (рис. 2).

Як доказ вищесказаного, у хворих на ХХН ВД стадії було відмічено зниження осмотичної резистентності еритроцитів, перекисної резистентності еритроцитів та ПЕМ ( див. рис. 2). Якщо в контролі час повного руйнування еритроцитів в гіпоосмолярному середовищі становив  $35,7 \pm 1,4$  сек, то у хворих із ХХН ВД стадії цей час склав  $25,0 \pm 1,8$  сек ( $p < 0,01$  порівняно з контролем). Також,

для хворих на ХХН ВД стадії було характерне зниження перекисної резистентності еритроцитів на 60% ( $p < 0,01$ ), збільшення майже вдвічі перекис-

ного гемолізу та в 1,3 рази ( $p < 0,05$ ) ПЕМ порівняно з показниками у практично здорових осіб (див. рис. 2).



Примітка \* - статистично достовірна різниця порівняно з показниками норми.

Рис. 2. Показники резистентності еритроцитів та активності Г-6-ФДГ в крові хворих на ХХН ВД стадії.

Поряд з цим, було встановлено, що у хворих на ХХН ВД стадії зростає активність каталази в сироватці крові майже у 4,6 рази ( $p < 0,001$ ) порівняно з середніми величинами у групі практично здорових осіб (див. рис. 2).

Враховуючи той факт, що каталаза є ферментом антипероксидного захисту, міститься переважно в еритроцитах (в сироватці крові в незначній кількості) і відповідає за утилізацію перексиду водню, на нашу думку, виявлене підвищення її активності у даному випадку обумовлено, скоріш за все, вивільненням саме каталази з еритроцитів та надходженням до судинного русла при їх руйнуванні. Тому даний показник може використовуватися як один із маркерів резистентності еритроцитів, а його збільшення характеризує підвищення активності гемолітичних процесів (див. рис. 2).

Також, у хворих із ХХН ВД стадії констатовано суттєве зниження активності Г-6-ФДГ в еритроцитах майже на 58% ( $p < 0,01$ ) порівняно з показниками у групі практично здорових осіб (див. рис. 2). З одного боку, Г-6-ФДГ виступаючи в ролі антиоксидантного ферменту, регулює рівень НАДФ+, а з іншого, її зниження в еритроцитах пов'язують з розвитком анемії. До того ж, Г-6-ФДГ є одним з найважливіших ферментів пентозофосфатного шляху в еритроцитах, впливаючи на активність глутатіонредуктази та глутатіонпероксидази, вона захищає еритроцити від ушкодження при окислен-

ні та відіграє важливу роль у підтриманні цілісності їх мембран [5]. Справа в тому, що єдиним джерелом НАДФН в цих клітинах є пентозофосфатний шлях, тому при нестачі або зниженні активності Г-6-ФДГ в еритроцитах суттєво знижується пул відновленого НАДФН, головна ж функція якого в еритроцитах полягає у відновленні дисульфідної форми глутатіону в сульфгідрильну форму, внаслідок чого порушується захист еритроцитів від окислення гемоглобіну, утворюються тільця Гейнца, що сприяє руйнуванню еритроцитів селезінкою [28, 31]. Тому відсутність або зниження активності Г-6-ФДГ може бути причиною гемолітичної анемії. До того ж, при дефіциті Г-6-ФДГ цей захисний механізм втрачається і може викликати гемоліз, що й було нами встановлено: поряд зі зниженням активності Г-6-ФДГ зростає відсоток гемолізу еритроцитів та знижувалася їх резистентність (див. рис. 2). Крім того, гемоліз викликаний дефіцитом Г-6-ФДГ також може бути спричинений прийомом ліків (сульфаніламідів, нітрофуранів, нестероїдних протизапальних препаратів) або інфекцією, ацидозом при цукровому діабеті чи нирковою недостатністю.

Аналіз показників ОС та резистентності еритроцитів залежно від модальності ДНЗТ виявив різну спрямованість змін показників ОС, його інтенсивність та ступінь руйнівного впливу на еритроцити (табл. 1).

Таблиця 1

**Показники ОС та резистентності еритроцитів в крові хворих на ХХН ВД стадії при лікуванні методами ДНЗТ (M±m).**

| Показник        | Умовно-здорові особи     | Хворі на ХХН ВД ст., які лікуються |                                       |   |  |
|-----------------|--------------------------|------------------------------------|---------------------------------------|---|--|
|                 |                          | ГДФ                                | ГД                                    | ПД  |  |
| СИРОВАТКА КРОВІ | МДА (мкмоль/л)           | 119±22                             | 463±23<br>p <sub>1-2</sub> < 0,01     | 477±24<br>p <sub>1-3</sub> < 0,01   | 302±22<br>p <sub>1-4</sub> < 0,01<br>p <sub>2-4</sub> < 0,01<br>p <sub>3-4</sub> < 0,01      |
|                 | Трансферин (ум.од)       | 5,14±0,31                          | 3,14±0,24<br>p <sub>1-2</sub> < 0,01  | 2,47±0,19<br>p <sub>1-3</sub> < 0,01  | 1,86±0,23<br>p <sub>1-4</sub> < 0,01<br>p <sub>2-4</sub> < 0,02<br>p <sub>3-4</sub> < 0,05   |
|                 | Церулоплазмін (г/л)      | 0,218±0,015                        | 0,167±0,02<br>p <sub>1-2</sub> < 0,05 | 0,177±0,015<br>p <sub>1-3</sub> < 0,05  | 0,354±0,022<br>p <sub>1-4</sub> < 0,02<br>p <sub>2-4</sub> < 0,02<br>p <sub>3-4</sub> < 0,02 |
|                 | Г-6ФДГ (мкмоль/л)        | 2,97±0,2                           | 2,92±0,33                             | 3,2±0,37  | 4,07±0,25<br>p <sub>1-4</sub> < 0,02<br>p <sub>2-4</sub> < 0,02                              |
|                 | Каталаза (мкат/л)        | 16,6±1,5                           | 58,1±11<br>p <sub>1-2</sub> < 0,01    | 72,08±12<br>p <sub>1-3</sub> < 0,01   | 38,87±3,91<br>p <sub>1-4</sub> < 0,02<br>p <sub>3-4</sub> < 0,05                             |
|                 | SH- групи (ммоль/л)      | 2,22±0,1                           | 1,66±0,25<br>p <sub>1-2</sub> < 0,02  | 1,38±0,29<br>p <sub>1-3</sub> < 0,02  | 1,34±0,31<br>p <sub>1-4</sub> < 0,02   |
| ЕРИТРОЦИТИ      | Г-6ФДГ (мкмоль/ гНв)     | 37,7±1,43                          | 21,3±2,5<br>p <sub>1-2</sub> < 0,01   | 20,5±3,45<br>p <sub>1-3</sub> < 0,01  | 14,58±2,0<br>p <sub>1-4</sub> < 0,01<br>p <sub>2-4</sub> < 0,02                              |
|                 | СПА (мкмоль/годину/г Нв) | 457±19                             | 228±38<br>p <sub>1-2</sub> < 0,01     | 211±41<br>p <sub>1-3</sub> < 0,01   | 354±40<br>p <sub>1-4</sub> < 0,02<br>p <sub>2-4</sub> < 0,05<br>p <sub>3-4</sub> < 0,05      |
|                 | МДА (мкмоль/л)           | 549±31                             | 586±25                                | 658±29<br>p <sub>1-3</sub> < 0,05<br>p <sub>2-3</sub> < 0,05<br>p <sub>4-3</sub> < 0,02 | 522±31   |
|                 | ПЕМ (%)                  | 10±1                               | 12,9±1,5                              | 16,58±2,9   | 15,8±3,1   |

Так для, пацієнтів, які лікуються методом ГДФ (група I), характерне зростання МДА в сироватці крові в 3,9 рази (p < 0,01) на фоні зниження вмісту ЦП на 24% (p < 0,05), ТР - на 33% (p < 0,01), SH-груп - на 25% (p < 0,02), СПА - на 51% (p < 0,01), Г-6-ФДГ в еритроцитах – на 42% (p < 0,01) порівняно з

групою практично здорових осіб. Показники ІОС в сироватці крові збільшувалися в 5,4 рази (p < 0,01), в еритроцитах – в 2,6 рази (рис. 3). При цьому показники перекисного гемолізу в 3,6 рази (p < 0,05) та каталази в 3,5 рази (p < 0,02) перевищували показники у групі практично здорових осіб.

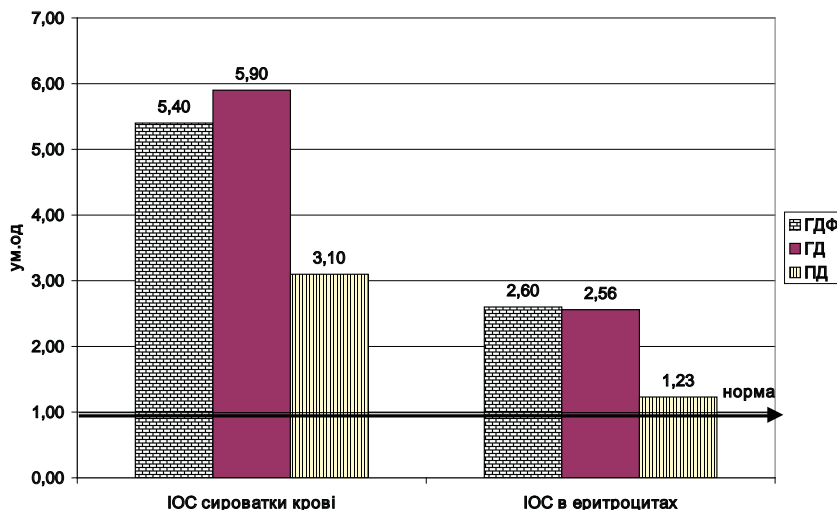


Рис. 3. Зміни показників активності ОС крові у хворих на ХХНВД залежно від модальності ДНЗТ.

При порівнянні показників ОС поміж групами хворих, які лікуються методом ГДФ (група I) та ГД (група II), встановлено, що для групи II характерні найбільш високі величини перекисного гемолізу, зростання показника ПЕМ та активності каталази, поряд з більш виразним зниженням в сироватці крові рівня TP, SH-груп, СПА та Г-6-ФДГ в еритроцитах порівняно з показниками у хворих з групи I (див. табл.). Також для хворих, які лікуються ГД, характерні найвищі (серед груп порівняння) показники вмісту МДА в еритроцитах та величини ІОС, найвищий перекисний гемоліз та показники ПЕМ (див. табл., рис.3). Тобто у хворих, які отримують ГДФ констатовані найнижчі показники гемолізу та найвища ступінь захисту еритроцитів, а для хворих, які лікуються ГД характерні найвищі показники ІОС, що характеризує виразність ОС.

При порівнянні показників у пацієнтів, які лікувалися методом ПД (група III), було встановлено, що для них характерні найнижчі показники вмісту МДА в сироватці крові - в середньому на 30-35% нижчі за середні показники у групах II та III ( $p < 0,02$ ). Рівень МДА в еритроцитах на 20% ( $p < 0,05$ ) нижчий за показники у групі II (див. табл.). Також у хворих, які отримували ПД, спостерігалися більш високі значення СПАе (в середньому на 25%,  $p < 0,05$ ) порівняно з показниками у групах I та II. Крім цього, у хворих з групи III відмічено суттєве зростання в сироватці крові вмісту ЦП в 1,7 рази ( $p < 0,01$ ) порівняно з середніми величинами у групі практично здорових осіб, що майже вдвічі перевищувало середні показники у хворих, які лікувалися методом ГД або ГДФ. Показники вмісту TP в сироватці крові у хворих, які отримували ПД, були найнижчими серед груп порівняння: на 60% ( $p < 0,01$ ) нижчі за середні величини у групі практично здорових осіб, на 40% ( $p < 0,02$ ) - за показники у хворих з групи I та на 25% ( $p < 0,05$ ) - за показники у групі II (див. табл.1). Також, для ПД-пацієнтів були характерні найнижчі показники активності Г-6-ФДГ в еритроцитах - в середньому на 62% ( $p < 0,02$ ) нижчі за середні величини у групі практично здорових осіб та на 30% ( $p < 0,02$ ) - у групі I, а також зростання активності цього ферменту в сироватці крові майже на 30% ( $p < 0,02$ ) порівняно з середніми показниками у I та II групах. При цьому, розрахунок ІОС у пацієнтів з групи III показав майже вдвічі нижчу активність ОС (див. рис.3).

Отже, для хворих які лікувалися методом ГДФ, характерні найнижчі показники гемолізу еритроцитів та менш виразні зміни показників АОЗ, що може бути пояснено перевагами ГДФ, а саме кращим видаленням середньомолекулярних сполук, зокрема запальних та гострофазних протеїнів, зменшенням явищ хронічного запалення, позитивним впливом на мінеральний обмін, позитивним впливом на еритропоез і ліпідний профіль пацієнтів (зниженням рівня тригліцеридів та ліпопротеїдів низької щільності) [18, 21, 26, 29].

Для хворих, які лікуються методом ПД, характерна найнижча активність ОС порівняно з хворими, які лікуються методами ГДФ та ГД, що є позитивною ознакою, оскільки у цих хворих менш виразний вплив ОС на еритроцити, що, в певній мірі, зменшує необхідність призначення лікарських засобів для корекції оксидативних порушень та фармавантаження на організм хворого.

Для хворих, які отримували ГД, характерна найвища активність процесів ПОЛ в еритроцитах та найвищий ступінь їх гемолізу.

Відомо, що висока активність ОС у хворих, які лікуються методом ГД, призводить до формування надлишку кінцевих продуктів гліколізу і ліпопероксидації, до активації нейтрофілів та надмірної продукції АФК при контакті з діалізною мембраною [18, 21, 32]. Крім того, системна гепаринізація під час ГД викликає розщеплення жирних кислот, що в умовах агресії АФК підтримує ланцюгові реакції ВРО та справляє детергентну дію на мембрани еритроцитів. Активізація оксидативних процесів та накопичення МДА, для якого характерні мембранотоксичні властивості, призводить до пошкодження мембранних протеїнів, зокрема до інактивації SH-груп, що за умов приєднання карбонільної групи до протеїнів стимулює карбонільний стрес і призводить до дисфункції мембранних білків, включаючи інактивацію ферментів, зниження зв'язування імуноглобулінів з рецепторами [1, 20, 22, 24, 25]. До того ж, зниження вмісту білків-антиоксидантів ЦП та TP у пацієнтів на ХХН ВД стадії, призводить до недостатньої утилізації  $Fe^{2+}$ , що не було використано в еритропоезі, а вільно циркулюючи в крові  $Fe^{2+}$  здатне ініціювати ланцюгові реакції ВРО та руйнування еритроцитів, поглиблюючи таким чином анемію [3, 5, 14, 20, 24].

Підвищений гемоліз еритроцитів, в певній мірі, може бути обумовлений активацією процесів ПОЛ при застосуванні методів ДНТЗ (ГДФ, ПД чи під час сеансу ГД). Зазвичай, стабільність мембран еритроцитів розглядається як їх здатність протистояти значній деформації, а модифікуючим фактором може бути ПОЛ в мембранах еритроцитів. За умов деформаційного стресу спостерігається збільшення кількості аденозиніфосфату в плазмі крові, причому це надходження залежить від інтенсивності ПОЛ мембран еритроцитів [6,13,27]. При незначній активації ПОЛ надходження аденозиндіфосфату знижується, при глибокій окисній деструкції - зростає. Збільшення продукції пероксидних сполук супроводжується зниженням здатності мембран еритроцитів до деформації, що обумовлено модифікацією в'язкоеластичних властивостей їх білкового цитоскелета [2, 13, 16, 34]. Вторинні продукти ПОЛ, зокрема МДА, здатні викликати підвищення в'язкості цитозоля еритроцитів за рахунок утворення зшивок з білками, зниження ступеня насиченості жирних кислот; інактивації SH-груп білків та пригнічення окислювального фосфорилування. Біологічні наслідки втрати бар'єрної функції клітинної мембрани внаслідок ПОЛ неможливо недооцінювати. Так, по-

рушення переносу іонів  $\text{Na}^+$  та  $\text{K}^+$  проти градієнтів їх концентрації призводить до набряків клітини та її органел, що в свою чергу порушує їх біоенергетичну функцію та енергетичний потенціал. Проникність мембран для іонів  $\text{Ca}^{2+}$  означає входження надлишку цих іонів у клітину з міжклітинного простору, що призводить до накопичення  $\text{Ca}^{2+}$  і активації фосфоліпаз, які руйнують мембранні фосфоліпіди і цим прискорюють загибель клітин [30].

Одним з поширених методів оцінки стану фізико-хімічних властивостей мембран еритроцитів є їх осмотична резистентність і сорбційна ємність [2, 6, 13]. Осмотична стійкість еритроцитів залежить від ступеня їх зрілості, форми і від зміни складу плазми та від умов ультрафільтрації води в клітині [13, 9]. У гіпотонічному оточенні, коли осмотичний тиск молекул та іонів у навколишньому середовищі нижчий, ніж у клітині, відбувається збільшення об'єму клітини (набухання), розтягнення і, нарешті, розрив клітинних мембран. Тобто гіпотонічний розчин є в даному випадку мембранотропним пошкоджуючим агентом, що викликає порушення структури й функції мембран у живому організмі. Осмотична резистентність характеризує стійкість еритроцитів до гемолізу при додаванні сольових розчинів, а її порушення відбувається внаслідок змін структурних та функціональних властивостей мембран еритроцитів. Це може бути наслідком вроджених або набутих захворювань, що призводять до змін структури мембран (дефіцит Г-6-ФДГ в еритроцитах, мікросфероцитоз, захворювання печінки, активація ПОЛ).

Відомо, що одним з факторів, що визначають порушення структури мембран еритроцитів у ГД-хворих, є інтенсифікація ПОЛ [1, 4, 14, 25], а в якості іншої причини розглядають пошкодження і декомпозицію мембранних білків [20,32].

Отже, основний ушкоджуючий ефект вільних радикалів полягає в руйнуванні мембран еритроцитів, а найбільша їх концентрація виявляється саме в сироватці крові. На наявність гемолізу еритроцитів у хворих під час сеансу ГД вказують багато авторів [1, 4, 13, 14, 25]. Одні автори виводять на перший план інтоксикацію алюмінієм і вплив на еритроцити різних токсичних речовин [17]. Інші пов'язують деструкцію еритроцитів під час процедури ГД з механічним контактом клітин крові з мембраною діалізатора [1, 4, 32]. Встановлено, що в результаті контакту крові з мембраною діалізатора відбувається активація імунно-компетентних клітин і вивільнення з них прозапальних субстанцій, а це, в свою чергу, тісно пов'язано з ОС та хронічним запаленням [32, 35].

Таким чином, висока активність ОС в організмі хворих на ХХН ВД стадії, які лікувались методами ГД, ГДФ або ПД має прямий взаємозв'язок з анемією. Розвиток патології мембрани еритроцитів веде в свою чергу до того, що вони не справляються зі своєю головною функцією: вибірково пропускати в клітину одні іони і молекули і затри-

мувати інші. Внаслідок чого еритроцити стають менш стійкими і швидко руйнуються, а у хворого розвивається і прогресує анемія. Результатами даного дослідження також підтверджено, що однією з причин розвитку ОС у хворих на ХХН ВД стадії є недостатня протективна активність системи АОЗ, причому на ступінь її недостатності також асоціюється з методикою ДНЗТ.

**ВИСНОВКИ.** У хворих на ХХН, які лікувались ГД, ГДФ або ПД анемія асоціюється з високою активністю ОС.

ГДФ хворі, які мають найнижчі показники гемолізу та найвищу ступінь захисту еритроцитів; для ПД хворих – найнижчу інтенсивність ОС; для ГД хворих – найвищий рівень

#### ЛІТЕРАТУРА:

1. *Гоженко А.І.* Вплив сеансу гемодіалізу на структурно-функціональний стан ендотелію у хворих із термінальною нирковою недостатністю / А.І.Гоженко, О.Б.Сула, А.А. Клим, О.Я. Яремчук // Укр. Жур. Нефрології та діалізу . – 2013 . - №3 (39), додаток 1. – С. 102-107.
2. *Глушков В.С., Сторожок С.А., Петровец А.М.* Модификация структуры мембран клеток крови как модулятор изменения проницаемости мембран для АДФ при их сдвиговой деформации // Известия Челябинского научного центра.- 2004.- Вып. 1 (22).- С. 22
3. *Король Л.В.* Біохімічні методи оцінки оксидативного статусу у хворих на хронічну хворобу нирок: Методичні рекомендації / Л.В. Король, Л.Я. Мигаль, Г.Г. Нікуліна, М.О. Колесник . – Київ, 2013. – 30с.
4. *Крутиков Е.С.* Оксидативный стресс у больных ХБП V стадии с анемией, находящихся на заместительной терапии гемодиализом / Е.С. Крутиков, Т.Ф. Полищук, Л.В. Польская, А.А. Шахназаров / Укр. Жур. Нефрології та діалізу . – 2013 . - №1 (37) – С. 21 - 25.
5. *Меньшикова Е.Б.* Окислительный стресс: Патологические состояния и заболевания. / Е.Б. Меньшикова, Н.К. Зенков, В.З. Ланкин [и др.] – Новосибирск: АР-ТА, 2008. – 284 с.
6. *Муравлёва Л.Е.* Зарядовый баланс эритроцитов крови больных с хроническим пиелонефритом и на фоне артериальной гипертензии / Л.Е. Муравлёва, В.Б. Молотов-Лучанский, Е.А. Колесникова, Д.А. Ключев и др // Фундаментальные исследования. - 2011.- № 10.- С. 126-130
7. *Муравлёва Л.Е.* Сравнительная оценка функциональных параметров эритроцитов крови больных хроническим пиелонефритом и гломерулонефритом / Л. Е. Муравлёва, В.Б. Молотов-Лучанский, Д.А. Ключев, Е.А. Колесникова и др // Современные проблемы науки и образования. – 2011. – № 2; URL: www.science-education.ru/96-4586
8. Пат 2134420 Российской Федерации Способ определения перекисной резистентности эритроцитов Михайлов С.С.; Романчук Л.А.; Фактор Э.А. ; заявитель и патентообладатель Санкт-Петербургская государственная академия физической культуры им.П.Ф.Лесгафта. - 97105596/14 G01N33/50; заявлен 09.04.1997 опубл 09.04.1997; Бюл. 4.

9. Патент. №2134420 Россия Определение перекисной резистентности эритроцитов» / Бахова А.К., Лазарева С.А., Редеева Е.М. МКИ G01N 33/50 // МРЖ. - 2000. - ч.1, №2. - С. 1096 .
10. Патент № 102192UA Спосіб інтегральної оцінки окисдантно-антиоксидантного балансу у сироватці крові / Л.В.Король, Л.Я. Мигаль // МПК G01N 33/48 (2006.01), ДУ «ІН НАМНУ»; N а 2012 05647, 08.05.2012; Опубл. 10.06.2013.- Бюл. N11. - 4с.
11. Саенко Ю. В. Изучение органоспецифичных механизмов окисдательного стресса : Дис. ... канд. биол. наук : 03.00.13, 14.00.25 Ульяновск, 2005 168 с. РГБ ОД, 61:06-3/196
12. Суглобова Е.Д. Кинетический физико-химический подход к оценке качества клеточных мембран у больных хронической почечной недостаточностью, получающих лечение гемодиализом - Автореф. Дис.докт. биологических наук - Санкт-Петербург. 2007.- 48 с.
13. Спиридонов В.Н. Кислотная, осмотическая и ультразвуковая резистентность эритроцитов больных, получающих лечение регулярным гемодиализом. / В.Н. Спиридонов, Ю.А. Борисов, Е.Н. Левыкина, Е.Д. Суглобова // Нефрология. - Т. 8, № 3. - 2004. - С. 22 - 31;
14. Толстоухова М. В. Особенности продуктов пероксидации, антиоксидантной защиты и деформации эритроцитов у больных с терминальной стадией хронической почечной недостаточности, получающих программный гемодиализ / М. В. Толстоухова, В. А. Жмуров, С. А. Сторожок, Д. Е. Ковальчук, Д. А. Ефимов, Г. Ю. Сыпачова // Нефрология и диализ. - 2008. - Т. 10, № 1. - С. 75 - 76
15. Acute effects of hemodialysis on oxidative stress parametrs in chronic uremic patients : comparison of two dialysis membranes / H.I. Varan, B.Dursun, E.dursun [et.al] //Int. J. Nephrol. Renovasc. Dis . - 2010. - N3.- P. 39 - 45.
16. An X. Disorders of red cell membrane / X.An, N.Mohandas, // British Journal of Haematology. - 2008. - Vol. 141. - P. 367 - 375
17. Beddhu S. Association of serum albumin and atherosclerosis in chronic hemodialysis patients / S. Beddhu, G. A. Kaysen, G. Gay. // American Journal of Kidney Disease. - 2002. - V. 40, N 4. - P. 721 - 727
18. Blankestijn P.J. High-flux dialysis membranes improve lipid profile in chronic hemodialysis patients / P.J. Blankestijn, P.F. Vos, T.J. Rabelink et al. // Journal of the Am Soc of Nephrology. - 1995.-Vol. 5 . - №9. - P. 1703 - 1708.
19. Brown CD. Association of reduced red blood cell deformability and diabetic nephropathy / C.D. Brown, H.S. Ghali, Z. Zhao et al.// Kidney Int.- 2005.- Vol. 67 (1). - P. 295 - 300.
20. Brzeszczynska J. Alterations of erythrocyte structure and cellular susceptibility in patients with chronic renal failure: Effect of haemodialysis and oxidative stress / J Brzeszczynska, M. Luciak, K Gwozdziński // Free Radical Research -2008.- Vol.42.- N 1.- P. 40 - 48
21. Garozzo M. Hyperhomocysteinemia and the adequacy of standart hemodialysis and ON-LINE hemodiafiltration / M. Garozzo, S. Urso, F. Milone, G. Battaglia // World Congres of Nephrology 2003 World Congres of Nephrology 2003 W. 476
22. Donate T. Protein oxidative stress in dialysis patients / T. Donate, A. Herreros, E. Martinez et al. // Adv Perit Dial. - 2002. - № 18. - P. 15 - 17.
23. Herrera J. Melatonin prevents oxidative stress resulting from iron and EPO-administration / J. Herrera, M. Nava // American Journal of Kidney Disease. - 2001. - V. 37, N 4. - P. 750 - 757
24. Jones Dean P. Radical-free biology of oxidative stress / Dean P..Jones //Am. J. Physiol. Cell Physiol. - 2008.- Vol. 295: P. 849 - 868 <http://ajpcell.physiology.org/cgi/content/full/295/4/C849>
25. Jakić M. Osmotic resistance in erythrocytes in patients with chronic renal insufficiency/ M Jakić, V Rupčić, S Stipanić, V. Slanovic // Lijec Vjesn.- 1991. - Vol.113 (11-12) . - P. - 398 - 401.
26. Jirka T. The impact of on-line haemodiafiltration (HDF) on patient survival: results from a large network database / T. Jirka, S. Cesare, A. De Benedetto //The XLII ERA/EDTA Congress; June 4-7, 2005; Istanbul, Turkey. Abstract SO44. 14].
27. Kao M. P. Oxidative stress in renal dysfunction: mechanisms, clinical sequelae and therapeutic options / M. P. Kao, D. S. Ang, A. Pall, A. D. Struthers // J. Hum. Hypertens. - 2010. - Vol. 24(1). - P. 1 - 8.
28. Kluyev D.A Structural and functional changes in hemograms of patients with tubulopathy associated with arterial hypertension / D.A. Kluyev, L.E. Muravlyova, V.B. Molotov-Luchanskiy // EUROPEAN JOURNAL OF NATURAL HISTORY .- 2009 .- № 6.- P. 17-20
29. Krieter D.H. Clinical cross-over comparison of mid-dilution hemodiafiltration using a novel dialyzer concept and postdilution hemodiafiltration / D.H. Krieter, S. Falkenhain, L. Chalabi et al. // Kidney Int. - 2005. - Vo.67. - P. 349 - 356.
30. Liu X. Biochemical relevance between oxidative/carbonyl stress and elevated viscosity of erythrocyte suspensions / X. Liu, W. Qin, D. Yin // Clinical Hemorheology and Microcirculation. - 2004. - Vol. 31, N 2. - P. 149 - 156.
31. Morena M. Oxidative stress in hemodialysis patients: Is NADPH oxidase complex the culprit?/ M. Morena, J. Cristol, L. Senécal et al. // Kidney International. - 2002. - V.61, №7. - P.109 - S114.
32. Ramakrishna P. Effect of reuse of polysulfone membrane on oxidative stress during hemodialysis / P.Ramakrishna, E.P. Reddy, M.M. Suchitra [et.al] // Indian J. Nephrol. - 2012. - Vol. 22 , N3. - P. 200 - 205.
33. Roberts C.K. Oxidative stress and dysregulation of NAD(P)H oxidase and antioxidant enzymes in diet-induced metabolic syndrome / C.K. Roberts // Metabolism. - 2006. - Vol. 55. - P. 928 - 934
34. Utegenov N. Pathogenetic value of electric disruption changes and erythrocyte membrane microviscosity in calculous pyelonephritis in children and ways of their corrections / N Utegenov., M Aliev., A.Nasirov, B Terebaev. // Medical and Health Science Journal. - 2011.- Vol. 5.- P. 2-6
35. Walsh N. Position Statement. Part One: Immune Function and Exercise / N. Walsh, M. Gleeson // Exercise Immunology Review. - 2011. - №17 - P.6-63.

Надійшла до редакції 26.07.2015  
Прийнята до друку 25.08.2015