

**ВЛИЯНИЕ МЕТОДА ЛЕЧЕБНОГО ПЛАЗМАФЕРЕЗА У БОЛЬНЫХ
ГЕМОФИЛИЕЙ НА ПОКАЗАТЕЛИ ОКИСЛИТЕЛЬНО -
АНТИОКИСЛИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ КРОВИ**

Алексамян Л.Р., Рыбакова Л.П., Солдатенков В.Е

ФГУ “Российский НИИ гематологии и трансфузиологии” ФМБА России

г. Санкт-Петербург, ул. 2-Советская, д.16, тел. (812) 717- 19-37

forlasy@rambler.ru

Резюме. Окислительно-антиокислительная система крови – важная система, обеспечивающая неспецифическую резистентность организма. В работе проведено изучение состояния окислительно-антиокислительной системы у 30 больных гемофилией до и после пятикратного применения лечебного плазмафереза, которые получали общепринятый курс терапии. Используемый экстракорпоральный метод способен удалять эндотоксины, которые являются свободными радикалами и образуются в результате поражения кроветворной и хрящевой ткани. Избыток свободных радикалов способен вызвать в организме «окислительный стресс». С целью оценки состояния окислительно-антиокислительной системы крови больных гемофилией был определен ряд параметров: содержание малонового диальдегида, одного из интегральных показателей пероксидации липидов, а также некоторых антиоксидантов - ферментативную активность супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионпероксидазы, содержание церулоплазмينا.

Показано, что динамика малонового диальдегида у больных гемофилией после применения курса лечебного плазмафереза была различна. В 60% случаев изначально повышенное содержание малонового диальдегида достигает показателей нормы, вероятно, за счет активации антиокислительной системы. Однако отмеченное отсутствие эффекта - снижение содержания малонового диальдегида после применения лечебного плазмафереза - у 17% и увеличение напряжения окислительно-антиокислительной системы - у 23% больных гемофилией свидетельствуют о необходимости более взвешенного подхода к показаниям применения лечебного плазмафереза при данной патологии. Содержание малонового диальдегида можно рассматривать как один из возможных биохимических критериев эффективности использования плазмафереза при лечении больных гемофилией.

Ключевые слова: гемофилия, плазмаферез, биохимические показатели окислительно-антиокислительной системы.

**THE EFFECT OF THERAPEUTIC PLASMAFERESIS METHOD IN
HAEMOPHILIACS ON BLOOD OXIDANT-ANTIOXIDANT SYSTEM PARAMETERS**

Alexanyan L.R., Ribakova L.P., Soldatenkov V.E.

Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology,
2-Sovetskaya, 16, Saint-Petersburg, Russia, Tel. (812)717-19-37

forlusy@rambler.ru

Abstract. In this paper was studied the state of nonspecific resistance - the state of oxidant-antioxidant system in 30 patients with haemophilia before and after the five-time application of therapeutic plasmaferesis who received conventional therapy. Used extracorporeal treatment method is capable of removing endotoxins, which are free radicals formed as a result of the lesion of the hematopoietic tissue and cartilage. Excess of free radicals can cause the "oxidative stress". In order to assess the state of oxidant-antioxidant system of the blood of patients with haemophilia was identified a number of parameters: malondialdehyde content, one of the integral indicators of lipid peroxidation, and antioxidants: enzymatic activity of superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, ceruloplasmin content. As a criterion for separation of the groups of patients with hemophilia was used indicator of the dynamics of changes in the content of the secondary product of lipid peroxidation - malondialdehyde.

It is shown that only 60% of patients with hemophilia after application of therapeutic plasmapheresis with initially increased malondialdehyde content reaches performance standards, probably, due to activation of antioxidant system. However, the lack of effect in 17% and increased stress of oxidant-antioxidant system in 23% of haemophiliacs demonstrates the need to seek additional biochemical criteria for assessing the effectiveness of the plasmaferesis in the treatment of haemophilia.

Key words: Hemophilia, plasmaferesis, biochemical parameters of the oxidant-antioxidant system.

Введение

Исследования последних лет показали, что тяжелое течение гемофилии, сопровождающееся прогрессированием геморрагического диатеза, артропатий, не всегда напрямую коррелирует с уровнями прокоагулянтной активности факторов свертывания VIII и IX в плазме [1, 2]. Ряд исследователей [3-5] связывают тяжелое течение заболевания с инфицированием вирусами гепатитов В и С, ВИЧ и цитомегаловирусом, образованием антител к вводимым факторам свертывания. Неблагоприятный вклад вносят иммунологические расстройства и воспалительные процессы, обусловленные возникающими при гемофилии кровоизлияниями, повреждением клеток в области суставов и деструкцией костной ткани. Отмеченные осложнения гемофилии могут приводить к гиперпродукции свободных радикалов, в частности, за счет окисления гемоглобина, миоглобина, респираторного взрыва фагоцитирующих клеток, аутоокисления катехоламинов и др. В результате этого в организме больного формируется состояние “окислительного стресса”, который представляет собой дисбаланс между уровнем образования свободных радикалов и активностью антиоксидантной системы организма [6].

Сведения о состоянии окислительно-антиокислительной системы при гемофилии ограничены и недостаточны. Обсуждается роль свободных радикалов в деполимеризации гликозаминогликанов – в частности гиалуроновой кислоты и протеогликанов соединительной ткани, в патогенезе артропатий, в том числе поражения хрящевой ткани при гемофилии [7]. Некоторые патологические процессы, наблюдающиеся при гемофилии, могут быть вызваны несбалансированностью реакций свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты, нарастающим дисбалансом окислительных и антиокислительных реакций. Тяжелое течение гемофилии сопровождается гиперпродукцией свободных радикалов в результате осложнений. В последнее время в программы лечения больных гемофилией активно внедряется метод экстракорпоральной гемокоррекции – лечебный плазмаферез, который может быть эффективным для удаления свободных радикалов [8], которые формируются в результате деструкции тканей и воспалительных процессов.

Цель исследования

Изучить влияние лечебного плазмафереза (ЛПА) на состояние окислительно-антиокислительной системы у больных гемофилией.

Материалы и методы

В условиях стационара (хирургическая клиника Российского НИИ гематологии и трансфузиологии) были изучены показатели окислительно-антиокислительной системы у

30 больных гемофилией, которым проводили по пять операций ЛПА, наряду с общепринятой заместительной терапией (до и после проведения ЛПА). Контрольную группу составили 30 доноров крови.

О состоянии окисления липидов в сыворотке больных судили по уровню вторичного продукта пероксидации липидов – малонового диальдегида (МДА), содержание которого определяли колориметрическим методом по реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой [9]. О состоянии антиоксидантной защиты судили по содержанию или активности ряда компонентов первичной защиты - ферментов супероксиддисмутазы (СОД), каталазы (КАТ), глутатионпероксидазы (ГП) и церулоплазмينا (ЦП). Активность суммарной СОД (КФ 1.15.1.1) плазмы оценивали по степени торможения реакции окисления кверцетина [10]. Активность КАТ (КФ 1.11.1.6) в сыворотке определяли на основании ее способности разлагать перекись водорода, о чем судили по количеству неутилизированной H_2O_2 , образующей стойкий окрашенный комплекс с солями молибдата аммония [11]. Активность ГП (КФ 1.11.1.9) измеряли по расщеплению гидроперекиси третбутила, используя в качестве субстрата восстановленный глутатион [12], содержание ЦП - по окислению фенилендиаминдигидрохлорида в присутствии ЦП [13]. Статистическую обработку данных исследования проводили по общепринятому методу Стьюдента-Фишера, а также в программе Microsoft Excel 2003.

Результаты

Полученные результаты относительно влияния ЛПА у больных гемофилией на показатели окислительно-антиокислительной системы представлены в таблице 1.

Таблица 1

Состояние окислительно-антиокислительной системы у здоровых лиц и больных гемофилией до и после применения лечебного плазмафереза

Группы	Показатели									
	МДА		СОД		КАТ		ГП		ЦП	
	мкмоль/л		усл.ед. акт/мл		усл. ед. акт.		ммоль/мл		г/л	
	$M \pm m$		$M \pm m$		$M \pm m$		$M \pm m$		$M \pm m$	
Контрольная группа (доноры)	$11,0 \pm 0,9$		39 ± 2		$1,9 \pm 0,2$		$0,70 \pm 0,04$		$0,40 \pm 0,02$	
Больные гемофилией	до ЛПА	после ЛПА	до ЛПА	после ЛПА	до ЛПА	после ЛПА	до ЛПА	после ЛПА	до ЛПА	после ЛПА
I n=18	$20,3 \pm 2,1$	$11,5 \pm 1,0^*$	32 ± 2	26 ± 3	$3,6 \pm 0,2$	$6,2 \pm 0,5^*$	0,50	0,69	57 ± 4	$42 \pm 3^*$

II n=7	19,8 ± 1,7	28,6 ± 2,4*	37 ± 4	42 ± 2	4,8 ± 0,4	5,1 ± 0,2	0,52 ±0,05	0,34 ±0,01*	64 ± 3	32 ± 2*
III n=5	10,8 ± 1,1	11,6 ± 1,0	42 ± 3	44 ± 3	4,1 ± 0,3	3,9 ± 0,2	0,55 ±0,02	0,59 ±0,04	59 ± 5	62 ± 5

* - достоверное изменение после лечения $p < 0,05$

Наблюдалась различная динамика МДА, характеризующая состояние перекисного окисления липидов. В связи с этим по данному критерию больных гемофилией можно разделить на 3 группы. Оказалось, что у больных I группы (n=18) после применения ЛПА отмечено снижение содержания МДА с 20,3 до 11,5 мкмоль/л, т.е. до нормы ($11,0 \pm 0,9$ мкмоль/л) на фоне дизрегуляции АОС - сравнительно низких показателей СОД и повышенной активности КАТ (рис. 1, 2, 3). Содержание ЦП и активность ГП после ЛПА изменились до нормы (табл. 1, рис.4, 5).

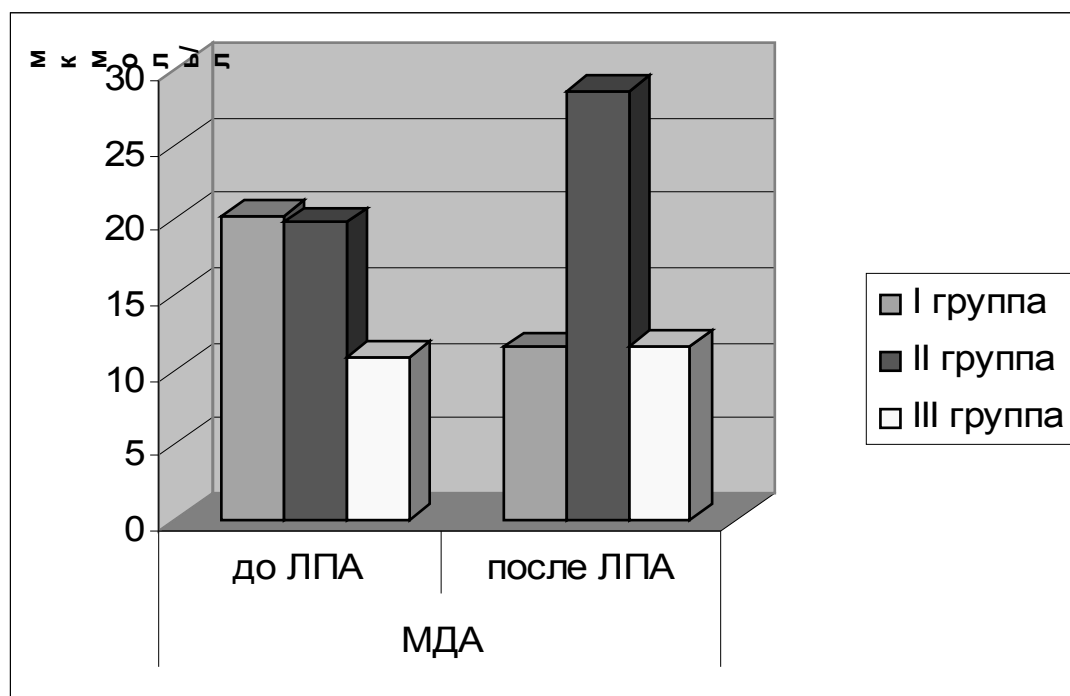


Рисунок 1. Содержание МДА у больных гемофилией до и после применения лечебного

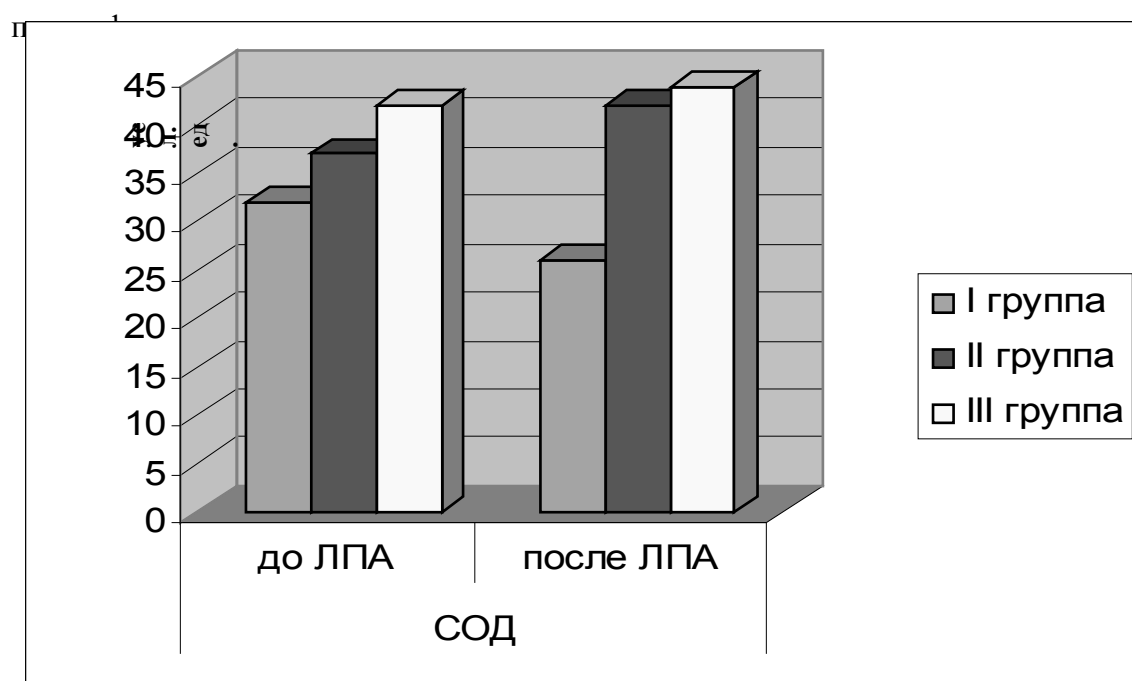


Рис. 2. Активность СОД у больных гемофилией до и после применения лечебного плазмафереза

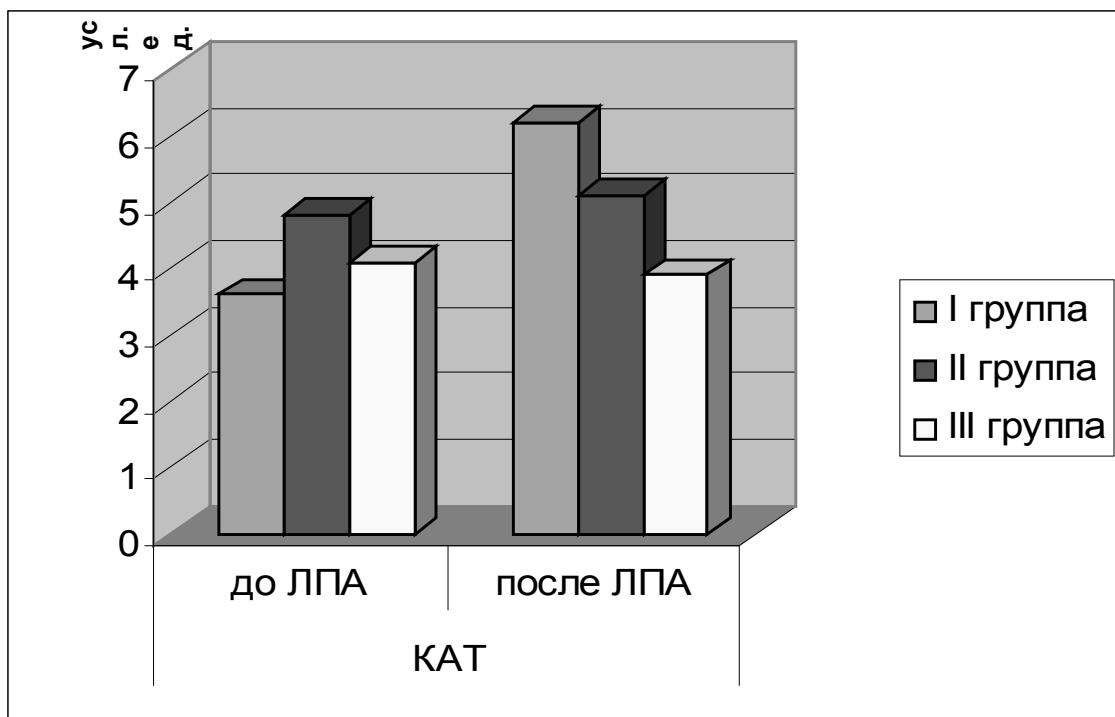


Рис. 3. Активность КАТ у больных гемофилией до и после применения лечебного плазмафереза

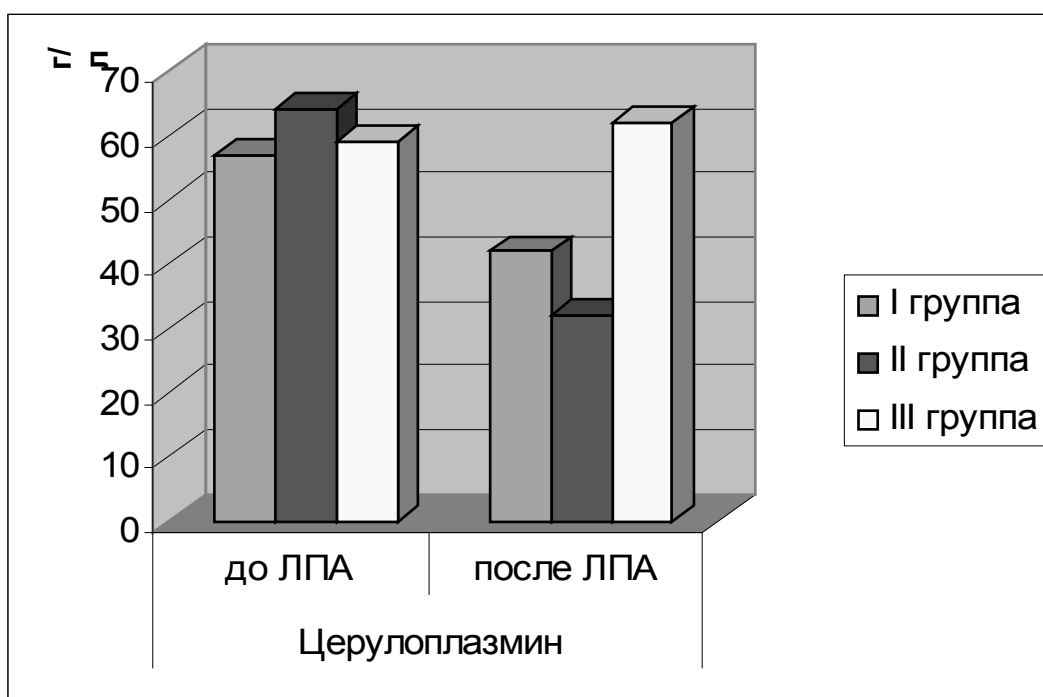


Рис. 4. Содержание ЦП у больных гемофилией до и после применения лечебного плазмафереза

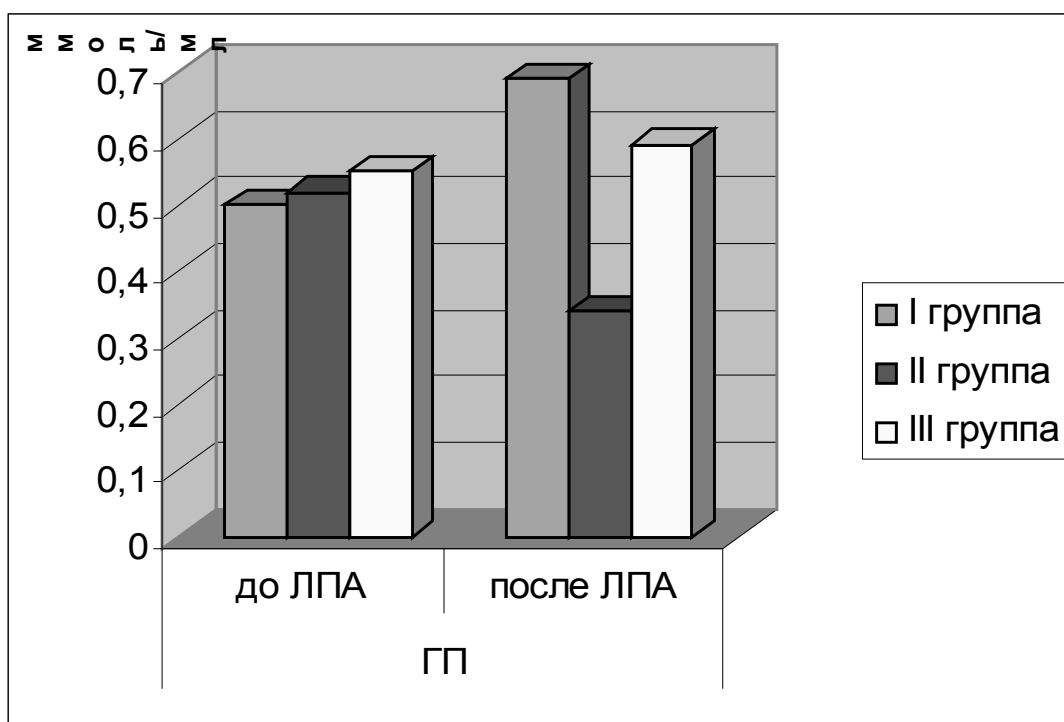


Рис. 5. Активность ГП у больных гемофилией до и после применения лечебного плазмафереза

У больных II группы (n=7) содержание МДА изначально было близко к таковому больных I группы, но после ЛПА возросло в среднем на 44%, что свидетельствует об увеличении в кровеносном русле свободных радикалов (рис. 1). При этом дисрегуляция антиоксидантной системы усиливается не только в результате дисбаланса между СОД и КАТ (рис. 2, 3), но и в связи с выраженным снижением активности ГП и содержания ЦП (рис. 4, 5).

У больных III группы (n=5) с изначально близкими к норме показателями содержания МДА (рис. 1) после применения ЛПА не были отмечены изменения в состоянии окислительно-антиокислительной системы (рис. 2-5).

Таким образом, полученные данные показали, что применение ЛПА неоднозначно влияет на показатели окислительно-антиокислительной системы. У 60% больных эта

процедура оказывала положительный эффект. Отсутствие эффекта у 17% и увеличение напряжения окислительно-антиокислительной системы у 23% свидетельствуют о необходимости в дальнейшем совершенствования дополнительных показаний с учетом биохимических и клинических критериев для применения ЛПА в лечении больных гемофилией. В частности, одним из таковых может быть содержание МДА в сыворотке крови.

Литература

1. Баркаган З.С. Физиология и патология системы гемостаза. - М. - 2001. – 506 с.
2. Каргин В. Д., Егорова Л.В., Харченко М.Ф. и др. Патогенетические особенности в течении гемофилии// Гематол. и трансфузиол. - 1997. № 3. - С. 29-32.
3. Гематология: Новейший справочник/ Под общ. ред. К.М. Абдулкадырова.- М.: Изд-во Эксмо; СПб.: Изд-во Сова, 2004.- 928 с.
4. Андреев Ю.Н. «Гемофилия на рубеже двух столетий» // Гематол. и трансфузиол. – 2002. - № 3. - С. 3-4.
5. Нильссон И.М. // Гемофилия. – СПб, 1999. - 101 с.
6. Buico A, Cassino C, Ravera M, Betta PG, Ossella D. Oxidative stress and total antioxidant capacity in human plasma// Redox Rep. – 2009. - N 14. – С. 125-31.
7. Hooiveld M., Roosendaal ., Lafeber J.G. et al. Cartilage damage secondary to recurrent joint bleeds in patients with haemophilia is mediated by hidroxil radicals// Suppl J/ Thrombosis and Haemostasis. - 2001- Vol. 11. - P. 723-726.
8. Чечеткин А.В., Бойцов С.А., Данильченко В.В. и др. Динамика иммуновоспалительных и реологических параметров крови у больных ишемической болезнью сердца под влиянием сочетанного плазмолейкоцитафереза// Трансфузиол., 2002, № 3. – С. 23-26.
9. Андреева Л.И., Кожемякин Л.А., Кишкун А.А.. Модификация метода определения перекиси липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой.// Лаб. дело.- 1988.-№11.-С. 41-43.
10. Костюк В.А., Потапович А.И., Ковалева Ж.В.. Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцетина// Вопр. мед. химии.- 1990.- Т. 36,№2.- С. 88-91.
11. Королук М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарева В.Е. Метод определения активности каталазы// Лаб. дело.-1988.- №1.- С.16-48

12. Арутюнян А.В., Дубинина Е.Е., Зыбина Н.Н.. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма.-СПб. 2000.- 103 с.
13. Ravin H., Harvard M. Rapid test for hepatolenticular degeneration// Lancet. – 1956. - Vol. 1. - P. 726-727.