

Оценка состояния и качества лечения пациентов после трансплантации почки с помощью мониторинга редокс-потенциала сыворотки крови

А.В. Пинчук, И.В. Александрова, М.М. Гольдин,
А.К. Евсеев, Б.А. Сорокин

НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского, Москва

Контакты: Марк Михайлович Гольдин markmgold@gmail.com

Ранее с помощью мониторинга редокс-потенциала сыворотки крови пациентов после трансплантации печени была обнаружена возможность проведения ранней неинвазивной диагностики острой дисфункции трансплантата за счет фиксирования сдвигов измеряемого потенциала. Нами исследованы сдвиги стационарных потенциалов платинового электрода при лечении пациентов после трансплантации почки. Установлено, что сдвиг редокс-потенциала сыворотки крови > 25 мВ свидетельствует о начале процесса дисфункции трансплантата, также он может быть связан с иными осложнениями или передозировкой лекарственных препаратов. Выявлена связь сдвигов величин редокс-потенциала с результатами лечения методом плазмафереза у пациентов указанной группы.

Ключевые слова: редокс-потенциал, мониторинг, плазмаферез, иммунодепрессанты, антиоксиданты

Assessment of the state and quality of treatment in posttransplant kidney patients, by monitoring the serum redox potential

A.V. Pinchuk, I.V. Aleksandrova, M.M. Goldin, A.K. Evseyev, B.A. Sorokin

Research Institute for Emergency named after N.V. Sklifosovsky, Moscow

Monitoring the serum redox potential (RP) in posttransplant liver patients has previously shown that the early noninvasive diagnosis of acute graft dysfunction could be made by recording the changes in the potential measured. The changes in the steady-state potentials of a platinum electrode were studied in the treatment of patients after kidney transplantation. It has been established that the serum RP change of > 25 mV is indicative of the onset of graft dysfunction and it may be also associated with other complications or drug overdosage. An association was found between the changes in RP values and the results of treatment with plasmapheresis in the above group of patients.

Key words: redox potential, monitoring, plasmapheresis, immunosuppressants, antioxidants

Введение

Известно, что редокс-потенциалы биологических сред служат интегральным показателем, отражающим уровень про- и антиоксидантов в организме [1–4]. Согласно ранее полученным данным [5] диапазон величин редокс-потенциалов сыворотки крови от -50 до -23 мВ является характерным для практически здоровых людей. Добавление в пробу сыворотки крови типичных антиоксидантов приводит к смещению величины редокс-потенциала в отрицательную область, тогда как добавление к указанной пробе окислителей смещает измеряемую величину редокс-потенциала в положительную область [6]. Величина наблюдаемых сдвигов потенциала определяется концентрацией антиоксиданта или оксиданта в пробе. Установлено также, что определенные патологические состояния характеризуются различными диапазонами редокс-потенциалов, измеренных в сыворотке крови. Например, было обнаружено смещение редокс-потенциалов сыворотки крови в положитель-

ную область по сравнению с практически здоровыми лицами у пациентов с острой церебральной патологией и с септическими осложнениями (от -40 до -10 мВ и от -20 до $+30$ мВ соответственно) [7]. Отметим, что эти данные находятся в соответствии с общепринятой оценкой указанных категорий пациентов в отношении наличия или отсутствия у них окислительного стресса [8,9].

Влияние соотношения активности оксидантной и антиоксидантной систем часто является доминирующим признаком при оценке состояния пациента с помощью измерения редокс-потенциала. Однако на величину редокс-потенциала и форму кривых потенциал–время также должны оказывать влияние процессы адсорбции на поверхности рабочего электрода (платины) аминокислот, протеинов, жиров, ферментов, а также ряда лекарственных производных, попадающих в организм при лечении пациента. Например, изменение потенциала платинового электрода при адсорбции на его поверхности альбумина на-

блюдали некоторые авторы [10,11], хотя в указанных работах нет прямых данных о сопутствующих адсорбции изменениях редокс-потенциала исследованных сред.

Подчеркнем, что до сих пор работы по исследованию редокс-потенциалов биологических систем нуждаются в накоплении данных о корреляциях величины редокс-потенциала с биохимическими параметрами исследуемых сред. В настоящее время четко установлена лишь связь редокс-потенциала с величинами парциального давления кислорода [3] и с содержанием окислителей и восстановителей в исследуемой среде [12]. Поэтому учет влияния указанных адсорбционных процессов на измеряемые величины редокс-потенциала остается одной из важных задач, в особенности при попытках использования этих величин редокс-потенциала в качестве диагностических критериев. Исследование влияния лечебных мероприятий на величину редокс-потенциала также может оказаться весьма ценным для оценки результатов лечения и коррекции лечебного процесса.

Цель исследования — использование мониторинга редокс-потенциала сыворотки крови в качестве диагностического критерия для оценки состояния пациентов с трансплантированной почкой. Основные задачи: исследование влияния некоторых иммунодепрессантов и антиоксидантов, а также влияния лечения пациентов указанной группы с помощью плазмафереза на величину редокс-потенциала.

Материалы и методы

Произведен ежедневный мониторинг редокс-потенциала сыворотки крови 18 пациентов после трансплантации почки за время пребывания их в стационаре. Всего проведено 284 исследования.

Измерения редокс-потенциала производили с помощью платинового электрода согласно разработанной ранее методике [13], электродом сравнения являлся хлоридсеребряный электрод. Для исследований забирали 8 мл крови пациента без добавления стабилизатора, указанную пробу крови для получения сыворотки крови подвергали центрифугированию при 1500 G в течение 15 мин на центрифуге CR 3.12 (Jouan). Для исследования влияния белков на редокс-потенциал был использован 20% раствор альбумина человеческого, который разбавлялся до необходимой концентрации с помощью физиологического раствора. В качестве типичного антиоксиданта была использована L-аскорбиновая кислота (Alfa Aesar).

В качестве исследуемых *in vitro* иммунодепрессантов были использованы препараты селлсепт (микофенолата мофетил) (Roche) и сандиммун неорал (циклоспорин) (Novartis). Указанные препараты растворяли в физиологическом растворе, при этом концентрация иммуносупрессора в растворе составляла 0,5 мг/мл для неорала и 2,5 мг/мл для селлсепта. Далее данные концентрированные растворы разбавля-

ли физиологическим раствором либо плазмой крови в соотношении 1 : 5, таким образом, получали концентрации препаратов в растворе 0,1 мг/мл для неорала и 0,5 мг/мл для селлсепта. Известно, что максимальные суточные дозы препарата составляют: 3 г/сут для селлсепта и 2,5 мг/кг/сут (около 400 мг/сут) для неорала.

Результаты и обсуждение

Весьма интересными оказались наблюдения, сделанные с помощью мониторинга редокс-потенциала при использовании такого активного метода лечения, как плазмаферез.

Ранее было исследовано влияние на редокс-потенциал водных растворов с добавлением различных антиоксидантов и оксидантов [13]. В настоящей работе это исследование было продолжено на биологических объектах: изучено влияние антиоксидантов на редокс-потенциал растворов, содержащих альбумин. При разбавлении 20 % раствора альбумина физиологическим раствором было обнаружено, что происходит постепенное смещение редокс-потенциала в положительную область до достижения редокс-потенциала чистого физиологического раствора (рис. 1). Можно предположить, что обнаруженный эффект смещения величины редокс-потенциала может быть связан с адсорбцией альбумина на поверхности платинового электрода. Подобные явления, как уже отмечалось выше, могут быть связаны с адсорбцией белков на платине [10,11].

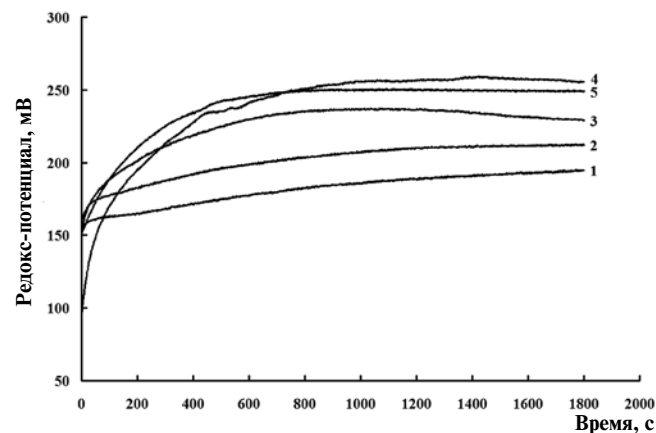


Рис. 1. Влияние концентрации раствора альбумина в физиологическом растворе на редокс-потенциал. Концентрация альбумина, %:
1 — 20; 2 — 10; 3 — 1; 4 — 0,1; 5 — 0

Эксперименты по выявлению влияния добавок антиоксидантов на редокс-потенциал биологической среды были проведены в 10 % растворах альбумина в физиологическом растворе, использованных в качестве модели биологической среды. Полученные данные представлены на рис. 2.

Как видно из этих данных, добавление аскорбиновой кислоты существенно влияет на форму кривой: она близка к зависимостям потенциал—время, полученным в реальных биологических средах (на-

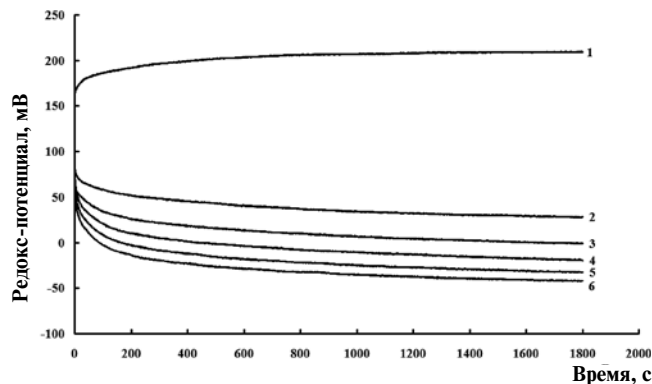


Рис. 2. Влияние аскорбиновой кислоты на редокс-потенциал 10 % раствора альбумина в физиологическом растворе. Добавки аскорбиновой кислоты, г/л: 1 — 0; 2 — 0,1; 3 — 0,2; 4 — 0,3; 5 — 0,4; 6 — 0,5

пример, в сыворотке крови) [14]. Отметим, что величина редокс-потенциала при концентрации аскорбиновой кислоты в растворе 0,4–0,5 г/л соответствует диапазону редокс-потенциала растворов сыворотки крови у практически здоровых людей.

Поскольку для лечения пациентов после трансплантации почки используются иммуносупрессивные препараты, необходимо было исследовать их влияние на величину редокс-потенциала сыворотки крови. Как видно из данных, представленных на рисунке 3, при добавлении суточной дозы препарата к физиологическому раствору имеет место смещение редокс-потенциала в отрицательную область (примерно на -84 мВ).

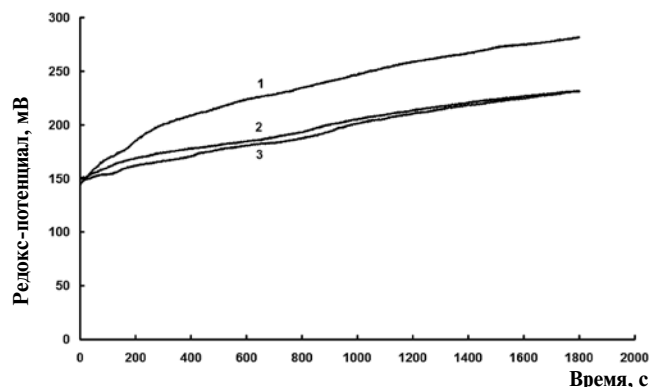


Рис. 3. Влияние усиления иммуносупрессии на редокс-потенциал физиологического раствора: 1 — исходный раствор; 2 — физраствор + 0,5 мг/мл селлсепта; 3 — физраствор + 0,1 мг/мл неорала

Добавление препаратов к плазме крови (рис. 4) приводит к незначительному смещению величины редокс-потенциала в положительную область. Отклонение от исходной величины составляет +33,1 мВ для препарата селлсепт и +20,3 мВ для препарата неорал. Таким образом, имеется возможность вводить поправки для измеренной величины редокс-потенциала сыворотки крови при проведении иммуносупрессивной терапии.

Данные, полученные при мониторинге редокс-потенциала в ходе лечения пациентов после трансплантации почки, показали, что у пациентов, лечение которых протекало без осложнений, диапазон величин редокс-потенциалов составляет от -30 мВ до +30 мВ.

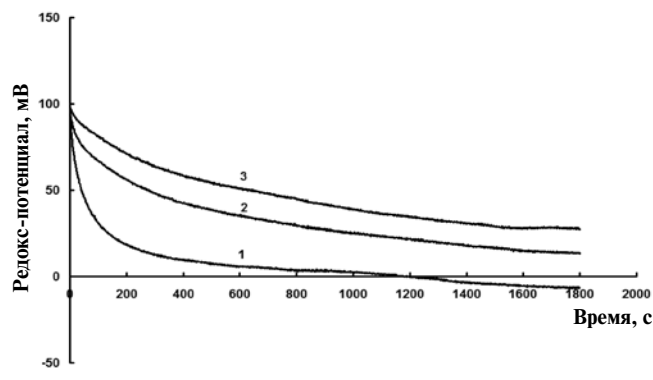


Рис. 4. Влияние усиления иммуносупрессии на редокс-потенциал плазмы крови: 1 — плазма крови + физраствор (5:1); 2 — плазма крови + 0,5 мг/мл селлсепта (5:1); 3 — плазма крови + 0,1 мг/мл неорала (5:1)

Важно также, что изменение этих величин (ΔE) в процессе мониторинга не превышает 25 мВ по абсолютной величине.

Для пациентов с подтвержденным процессом острой дисфункции трансплантата (3 случая из 18 обследованных пациентов) зафиксированы значительно большие величины смещения редокс-потенциала. Так, величины сдвигов редокс-потенциала составляли $\Delta E = 41$ мВ (пациент П.), $\Delta E = 45$ мВ (пациент Д.), $\Delta E = 40$ мВ (пациент Дим.). Подчеркнем, что у упомянутых пациентов наблюдались резкие сдвиги величин редокс-потенциалов в сторону более положительных значений, локализация сдвигов протекала в течение 1–2 дней мониторинга (например, данные для пациента П., рис. 5).

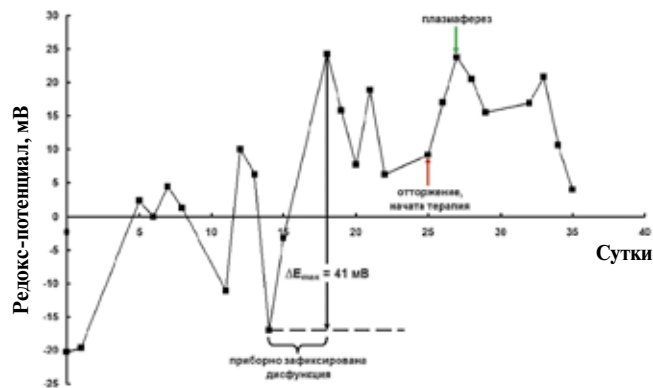


Рис. 5. Мониторинг редокс-потенциала сыворотки крови (пациент П.)

Рассмотрим подробнее 2 случая, когда наблюдавшиеся сдвиги потенциалов протекали медленнее, в то же время сдвиги были больше по абсолютной величине, чем в приведенных выше примерах ($\Delta E = 54$ мВ для пациента Бар. и $\Delta E = 63$ мВ для пациента Быс.). У обоих пациентов сдвиги определялись в течение 13 дней. Как видно из данных, представленных на рис. 6, 7, у пациента Бар. имел место воспалительный процесс (пиелонефрит трансплантата), в то время как у пациента Быс. наблюдавшиеся сдвиги потенциала удалось связать с накоплением в организме иммуно-

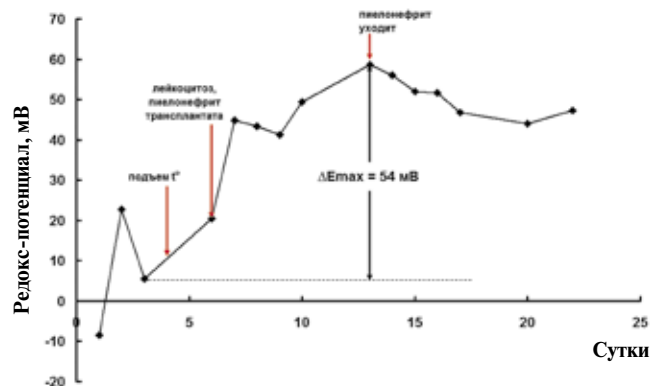


Рис. 6. Пациент Бар. Имел место воспалительный процесс (пиелонефрит трансплантата)

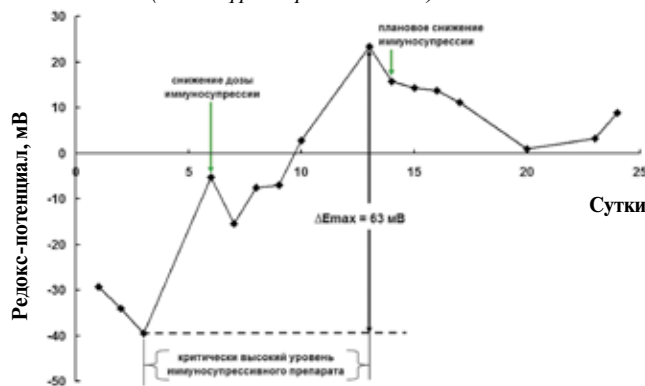


Рис. 7. Пациент Бис. Имел место критически высокий уровень иммуносупрессивного препарата в крови

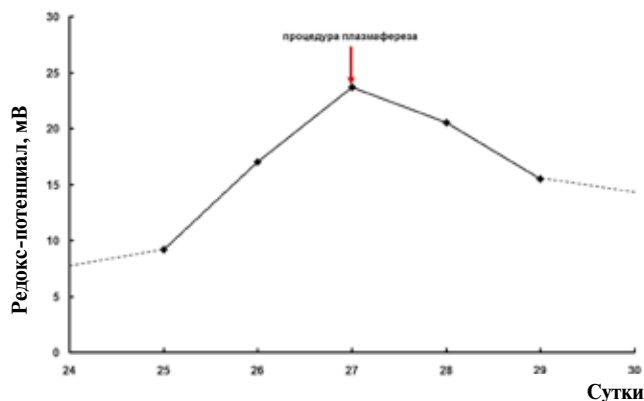


Рис. 8. Пациент П. Влияние процедуры плазмафереза на редокс-потенциал

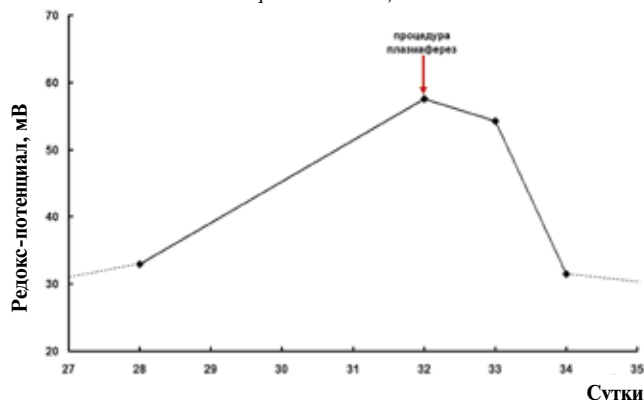


Рис. 9. Пациент Ч. Влияние процедуры плазмафереза на редокс-потенциал

супрессора циклоспорина. Подчеркнем, что успешное лечение пиелонефрита привело к обратному сдвигу редокс-потенциала ($\Delta E = -18$ мВ), снижение концентрации иммуносупрессивного препарата в сыворотке крови пациента Бис. также привело к обратному сдвигу редокс-потенциала (за 7 сут уменьшения концентрации иммуносупрессора суммарный сдвиг редокс-потенциала составил $\Delta E = -23$ мВ).

Данные, представленные на рис. 8–10 четко показывают, что действие плазмафереза во всех случаях приводит к сдвигам редокс-потенциала в отрицательную область. По нашему мнению, эти данные следует связать с успешным процессом выведения токсичных продуктов из организма, т. е. с уменьшением вероятности возникновения в организме состояний, связанных с наличием окислительного стресса.

Выводы

Таким образом, мониторинг редокс-потенциала позволяет сделать выводы о наличии острой дисфункции трансплантата, а также судить о развитии осложнений, связанных со слишком высокой дозой некоторых лечебных препаратов.

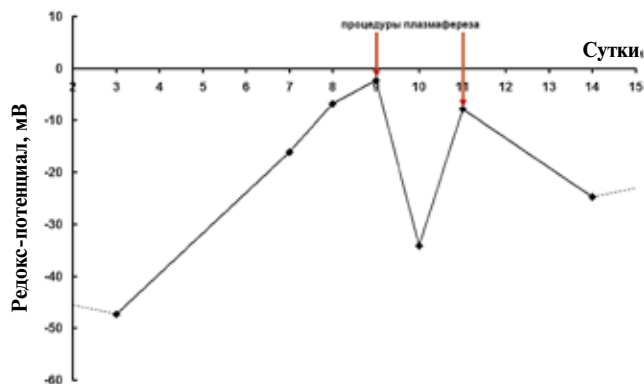


Рис. 10. Пациент Д. Влияние процедуры плазмафереза на редокс-потенциал

Измерение редокс-потенциалов у пациентов до и после процедуры плазмафереза дает представление об эффективности лечения данным методом.

Л и т е р а т у р а

1. Ziegler E. The redox potential of the blood in vivo and in vitro. Springfield, Illinois: Charles C. Thomas Publ., 1965.
2. Marmasae C., Grosz H.J. Direct experimental evidence of a functionally active electron transport system in human blood. *Nature* 1964;202(4927):94.
3. Grosz H.J., Farmer B.B. Reduction—oxidation potential of blood as a function of partial pressure of oxygen. *Nature* 1967;213(5077):717–8.
4. Goldin M.M., Blanchard G.J., Evseev A.K. et al. Redox potential measurement in aqueous solutions and biological media. *Proceedings of 212th ESC Meeting*, october 7–12 Washington, 2007; p. 815.
5. Goldin M.M., Volkov A.G., Khubutiya M.Sh. et al. Redox potential measurement in aqueous solutions and biological media. *ECS Transactions* 2008;11(21):39–49.
6. Khubutiya M.Sh., Krylov V.V., Romasenko M.V. et al. Redox Potential as a Reflection of Hyperbaric Oxygenation Effect on Certain Systems in the Organism. *Proceedings of 216th ESC Meeting*, october 4–9, Vienna 2009: abstr 1894.
7. Хубутия М.Ш., Гольдин М.М., Крылов В.В. и др. Редокс-потенциалы сыворотки крови больных с острой церебральной патологией при лечении методом гипербарической оксигенации. *Гипербар физиол и мед* 2009;4:1–12.
8. Rael L.T., Bar-Or R., Mains C.W. et al. Plasma oxidation-reduction potential and protein oxidation in traumatic brain injury. *J Neurotrauma* 2009;26(8):1203–11.
9. Kolls J.K. Oxidative stress in sepsis: a redox redux. *J Clin Invest* 2006; 116(4):860–3.
10. Anzai J., Guo B., Osa T. Electrochemically accelerated adsorption of serum albumin on the surface of platinum and gold electrodes. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 1994;42(11):2391–3.
11. Dolatshahi-Pirouz A., Rechendorff K., Hovgaard M.B. et al. Bovine serum albumin adsorption on nano-rough platinum surfaces studied by QCM-D. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 2008;66(1):53–9.
12. Khubutiya M.Sh., Chzhao A.V., Goldin M.M. et al. The monitoring of blood serum redox potential in patients after liver transplantation. *Proceedings of 61st Annual Meeting of the International Society of Electrochemistry*, sept 26 – oct 01 Nice 2010;11:81.
13. Khubutiya M.Sh., Goldin M.M., Romasenko M.V. et al. Redox potentials of blood serum in patients with acute cerebral pathology. *ECS Transactions* 2010;25(19):63–71.
14. Khubutiya M.Sh., Evseev A.K., Kolesnikov V.A. Measurements of platinum electrode potential in blood and blood plasma and serum. *Russian J Electrochem* 2010;46(5):537–41.