

ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ ЛЕЙКОЦИТОВ И ИХ АПОПТОТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ У БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКОЙ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ, НАХОДЯЩИХСЯ НА ГЕМОДИАЛИЗЕ

М. Осиков,
О. Гизингер, доктор биологических наук, профессор,
Л. Телешева, Ю. Агеев,
Д. Черепанов, А. Аклев
 Южно-Уральский государственный
 медицинский университет, Челябинск
E-mail: ogizinger@gmail.com

У 53 больных с синдромом хронической почечной недостаточности, получающих постоянную заместительную терапию в отделении гемодиализа Челябинской областной клинической больницы, изучали методом проточной цитометрии количественный состав лейкоцитов, их функциональную активность, популяционный и субпопуляционный спектр лимфоцитов в периферической крови, апоптоз лимфоцитов при окрашивании конъюгированным с флуорохромом аннексином V- и 7-аминоактиномицином-D.

Ключевые слова: хроническая почечная недостаточность, лимфоциты, поглотительная способность нейтрофилов, кислородзависимый метаболизм, апоптоз.

Одной из сложных клинических ситуаций в нефрологической практике является хроническая почечная недостаточность (ХПН) [1]. В задачи консервативной терапии ХПН входят замедление темпов прогрессирования заболевания, устранение факторов, усугубляющих ее течение, в частности инфекционных осложнений, которые прямо или косвенно связаны с дисфункцией иммунной системы, что проявляется изменением количественного состава лейкоцитов, снижением их функциональной активности, нарушением кооперации между лимфоцитами и антигенпрезентирующими клетками [2, 3]. Патогенез дисфункций иммунной системы у больных с ХПН, получающих заместительную терапию, является многофакторным: имеют значение азотемия, нарушение обмена железа, анемия, активация ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, гемодиализная (ГД) процедура и др. [3–5].

Исследования последнего десятилетия выявили изменение количественного состава лейкоцитов в периферической крови у больных с ХПН, имеющее значение для реализации функциональной активности других клеток крови, развития геморрагического синдрома и прочих патологических состояний [6]. Ряд исследователей полагают, что одним из механизмов изменения количественного состава лимфоцитов периферической крови может быть апоптоз иммунокомпетентных клеток, а основой иммунной дисфункции при ХПН – дисбаланс между про- и антиапоптогенными механизмами [7, 8].

Нами изучены показатели врожденного иммунитета, популяционный и субпопуляционный спектр лимфоцитов периферической крови, их апоптотическая активность у больных с ХПН, находящихся на ГД. Исследовали кровь больных с терминальной стадией ХПН – пациентов отделения ГД Челябинской областной клинической больницы. Первоначально обследованы 150 больных с терминальной стадией ХПН, получающих ГД-терапию на аппаратах Искусственная почка 4008S/BIBAG (Fresenius, Германия) 3 раза в неделю в течение 4 ч. В исследование не включали пациентов: после трансплантации почки; с гнойно-септическими осложнениями; с увеличенными лимфатическими узлами любой локализации; принимающих глюкокортикостероиды и (или) цитостатики; со злокачественными и доброкачественными опухолями любой локализации; с ВИЧ-инфекцией, гепатитом С, гепатитом В; с аутоиммунными и (или) аллергическими заболеваниями.

После рандомизации в исследование включены 53 больных – 25 женщин и 28 мужчин в возрасте от 24 до 79 лет (средний возраст – $54,09 \pm 1,66$ года). От всех больных получено письменное информированное согласие на участие в исследовании, план которого одобрен Этическим комитетом Южно-Уральского государственного медицинского университета Минздрава России. В 1-ю группу (контроль; $n=12$) включены клинически здоровые добровольцы, не имеющие соматической патологии; контрольная группа сопоставима по возрасту и полу с основными группами; 2-ю группу ($n=53$) составили больные с ХПН до процедуры ГД; 3-ю – больные с ХПН ($n=53$) после процедуры ГД. Кровь для исследований забирали из артериального колена артериовенозной фистулы. Количество лейкоцитов и лейкоцитарную формулу определяли общепринятыми методами, показатели выражали в относительных (%) и абсолютных ($\cdot 10^9/\text{л}$) величинах. Популяционный и субпопуляционный спектры лимфоцитов крови оценивали с помощью иммунофенотипирования методом непрямой иммунофлуоресценции с использованием моноклональных антител серии ICO производства НИИ «Препарат» (Нижний Новгород). Проводили типирование зрелых Т-лимфоцитов ($\text{CD}3^+$) и их субпопуляций: $\text{CD}4^+$ – маркер клеток хелперно-индукторного ряда, $\text{CD}8^+$ – цитотоксических лимфоцитов, $\text{CD}20^+$ – В-лимфоцитов, $\text{CD}16^+$ – НК-клеток, $\text{CD}25^+$ – ранней активации лимфоцитов. Лимфоциты из периферической крови выделяли на двойном градиенте плотности фикола и урографина. Апоптоз лимфоцитов оценивали при окрашивании конъюгированным с флуорохромом аннексином V (Annexin-5-FITC) и 7-аминоактиномицином-D (7-AAD) методом проточной цитометрии с дифференцировкой: интактных клеток (Annexin-5-FITC- / 7-AAD-); клеток с ранними признаками апоптоза (Annexin-5-FITC+ / 7-AAD-); клеток с поздними признаками апоптоза и частично некротических клеток (Annexin-5-FITC+ / 7-AAD+); клеток с признаками некроза (Annexin-5-FITC- / 7-AAD+). Функциональную активность фагоцитов периферической крови исследовали по показателям теста с нитросиним тетразолием (НСТ-тест) и способности клеток поглощать частицы монодисперсного полистирольного латекса; определяли активность (% клеток); интенсивность фагоцитоза (у.е.); фагоцитарное число (у.е.). Кислородзависимый метаболизм оценивали, определяя активность и интенсивность спонтанного и индуцированного НСТ-теста; лизосомальную активность фагоцитов – по интенсивности люминесценции лизосом (у.е.), концентрацию паратиреоидного гормона (пг/л) – методом иммуноферментного анализа

с помощью тест-системы фирмы Biomerica (США), концентрацию фосфатов в плазме – с использованием тест-системы фирмы Вектор-бест методом без депротенинизации с молибденовокислым аммонием, концентрацию общего кальция в плазме – с использованием тест-системы фирмы Sorgamma (Польша) методом с о-крезолфталеинкомплексом. При статистическом анализе применяли пакет прикладных программ Statistica for Windows 6.0. Для оценки различий между группами использовали критерии Манна–Уитни и Краскела–Уоллиса, для установления связей между показателями – коэффициент корреляции Спирмена (r); различия считали значимыми при $p < 0,05$.

У больных с ХПН при исследовании до процедуры ГД в периферической крови наблюдалось повышенное количество лейкоцитов в сравнении с таковым в группе контроля без превышения допустимых референсных значений. При анализе лейкоцитарной формулы в относительных и абсолютных величинах обнаружены изменения количественного состава лейкоцитов: эозинофилия, нейтрофилия за счет палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов (табл. 1).

При исследовании функциональной активности фагоцитов периферической крови пациентов с ХПН установлена активация поглотительной способности: усиление активности фагоцитоза, т.е. увеличение в кровотоке количества активно

фагоцитирующих клеток, повышение интенсивности фагоцитоза и фагоцитарного числа, т.е. способности клеток поглощать частицы латекса (табл. 2). Кроме того, активируется кислородзависимый метаболизм фагоцитов, увеличиваются активность и индекс спонтанного НСТ-теста, что отражает соответственно количество клеток, генерирующих активные формы кислорода (АФК), и интенсивность генерации АФК отдельным фагоцитом. Лизосомальная активность фагоцитов у больных с ХПН не имеет статистически значимых различий с таковой в контроле.

В последнее десятилетие подтвердился тот факт, что ведущей причиной нейтрофильного лейкоцитоза при ХПН является снижение гибели нейтрофильных гранулоцитов путем апоптоза, в результате чего создаются предпосылки для длительной циркуляции в крови активированных клеток. Факторами, подавляющими апоптоз полиморфно-ядерных гранулоцитов при ХПН, являются вне- и внутриклеточный ацидоз, легкие цепи свободного иммуноглобулина, ингибиторы Са-АТФазы в цитоплазматической мембране эритроцитов, С5-компонент комплемента, накопление в крови фенилацетата, парааминогиппуровой кислоты, активация процессов свободнорадикального окисления и др. [1, 7]. Повышение генерации АФК нейтрофилами у больных с ХПН, находящихся на ГД, как установили шведские исследователи,

применив метод проточной цитометрии, связано с блокадой ключевого антиоксидантного фермента супероксиддисмутазы [4, 5]. Кроме того, ацидоз при ХПН является фактором не только пролонгации циркуляции нейтрофилов в крови, но и активации их поглотительной способности и кислородзависимого метаболизма, опосредованного повышением концентрации в цитоплазме Ca^{2+} [5–7]. Активация фагоцитов при терминальной ХПН может быть связана с дисфункцией регуляторных Т-клеток с фенотипом $CD4^+CD25(bright^+)$ FoxP3⁺ [9, 10].

У всех больных с ХПН в периферической крови до процедуры ГД наблюдалась лимфоцитопения, причем содержание лимфоцитов снижено в среднем на 45% по сравнению с таковым в контрольной группе. После процедуры ГД этот показатель достоверно повышается, оставаясь при этом ниже такового у здоровых людей; кроме того, отмечена тенденция к увеличению общего содержания лейкоцитов и нейтрофилов в периферической крови. Увеличение содержания лейкоцитов в крови может являться как отражением, так и следствием гемоконцентрации,

Количественный состав лейкоцитов в периферической крови у больных с ХПН, находящихся на ГД ($M \pm m$)

Таблица 1

Показатели	1-я группа (контроль), n=12	2-я группа (больные с ХПН до ГД), n=53	3-я группа (больные с ХПН после ГД), n=53
Лейкоциты, $\cdot 10^9/\text{л}$	6,05 \pm 0,27	5,41 \pm 0,03	6,21 \pm 0,38
Эозинофилы, $\cdot 10^9/\text{л}$	0,09 \pm 0,01	0,17 \pm 0,03*	0,16 \pm 0,03
Нейтрофилы: п., $\cdot 10^9/\text{л}$ с., $\cdot 10^9/\text{л}$	0,16 \pm 0,04 4,01 \pm 0,19	0,08 \pm 0,01 4,02 \pm 0,26	0,10 \pm 0,02 4,45 \pm 0,29
Общее количество нейтрофилов, $\cdot 10^9/\text{л}$	4,17 \pm 0,21	4,10 \pm 0,26	5,04 \pm 0,53
Лимфоциты, $\cdot 10^9/\text{л}$	1,29 \pm 0,05	0,71 \pm 0,06*	1,01 \pm 0,10*, **
Моноциты, $\cdot 10^9/\text{л}$	0,49 \pm 0,04	0,43 \pm 0,04	0,49 \pm 0,04

Примечание. Здесь и в табл. 2, 3: * – статистически значимые ($p < 0,05$) различия с 1-й группой; ** – со 2-й группой по критерию Краскела–Уоллиса.

Функциональная активность фагоцитов и активность компонентов комплемента у больных с ХПН, находящихся на ГД ($M \pm m$)

Таблица 2

Показатель	1-я группа, контроль (n=12)	2-я группа: больные с ХПН до ГД (n=53)	3-я группа: больные с ХПН после ГД (n=53)
Активность фагоцитоза, %	40,17 \pm 1,62	49,49 \pm 2,21	50,17 \pm 1,12*, **
Интенсивность фагоцитоза, у.е.	1,11 \pm 0,07	1,51 \pm 0,07	1,11 \pm 0,07
Фагоцитарное число, у.е.	2,69 \pm 0,17	2,50 \pm 0,12	3,69 \pm 0,17
НСТ-тест спонтанный, активность, %	19,83 \pm 2,17	28,68 \pm 2,02	29,83 \pm 2,17*, **
НСТ-тест спонтанный, индекс	0,37 \pm 0,05	0,49 \pm 0,04	0,67 \pm 0,05*, **
НСТ-тест индуцированный, активность, %	27,67 \pm 2,73	33,97 \pm 3,25	67,67 \pm 2,73*, **
НСТ-тест индуцированный, индекс	0,47 \pm 0,05	0,48 \pm 0,04	0,77 \pm 0,05*, **
Лизосомальная активность, у.е.	291,17 \pm 13,31	298,97 \pm 12,77	291,17 \pm 13,31

развивающейся в ходе процедуры ГД. Лимфоцитопения, выявляемая у больных с ХПН, находит отражение в изменении как количества популяций лимфоцитов, так и их субпопуляционного состава. В табл. 3 показано значительное снижение содержания Т-лимфоцитов (CD3⁺) и их субпопуляций: Т-цитотоксических (CD4⁺), Т-хелперов (CD8⁺), В-лимфоцитов (CD20⁺), НК-клеток (CD16⁺) до процедуры ГД. Одновременно зарегистрировано снижение количества лимфоцитов, несущих маркер ранней активации (CD25⁺). После процедуры ГД регистрируется тенденция к увеличению количества популяций лимфоцитов, отражающая отмеченный выше феномен гемоконцентрации, а не истинное увеличение количества клеток в крови.

Нарушение количественного состава и функциональной активности различных популяций Т-лимфоцитов, а также В-лимфоцитов приводит к нарушению координации иммунного ответа на первичное и повторное внедрение антигена, прогрессированию почечной недостаточности, угнетению клеточных антиканцерогенных механизмов, что сопровождается увеличением частоты и тяжести инфекционных, сердечно-сосудистых и других осложнений при ХПН. С развитием Т-лимфоцитопении связывают склонность больных с ХПН к инфекционным заболеваниям, аутоиммунной патологии, злокачественным опухолям [6, 7]. Снижение количества и нарушения функции В-клеток лежат в основе дефектов гуморального ответа на инфекционные агенты, вакцинацию, другие антигены и приводят к увеличению частоты инфекционных осложнений у больных с ХПН.

Рядом исследователей установлено, что в плазме больных с ХПН возрастает концентрация росткового фактора для В-лимфоцитов интерлейкина (ИЛ)-7, повышается сыровоточный уровень рецептора В-клеточного фактора активации из семейства TNF (BAFF) [8]. Экспрессия BAFF на поверхности В-лимфоцитов, за исключением переходных В-клеток (CD19⁺, CD10⁺, CD27⁻) и зрелых клеток (CD19⁺, CD10⁺), снижена, возможно, вследствие феномена шеддинга. Кроме того, при терминальной ХПН повышается количество Th2-клеток, продуцирующих ИЛ4 [9]. Таким образом, результаты указанных исследований подтверждают факт дисрегуляции В-клеточного звена иммунитета, проявляющейся повышением уровня ростковых факторов, что, по мнению авторов, может свидетельствовать о запуске компенсаторных механизмов в условиях В-клеточного иммунодефицита. Однако следует отметить, что ответ на эти стимулы у пациентов с ХПН, находящихся на ГД, отсутствует или снижен.

Как уже упоминалось, ряд исследователей полагают, что одной из причин снижения количества лимфоцитов в крови больных с ХПН может быть активация апоптоза. Так, с использованием метода измерения длины теломер у больных с ХПН показано преждевременное старение CD8⁺ Т-лимфоцитов [12]. В табл. 4 показано, что у больных с ХПН количество интактных клеток в периферической крови статистически значимо превышает таковое у здоровых людей. Данный факт связан со снижением количества лимфоцитов с ранними признаками апоптоза: фосфолипидной асимметрией цитоплазматической мембраны; презентруемой экспрессией фосфатидилсерина, который связывается с Annexin-5-FITC. Однако при этом в 27 раз возрастает количество лимфоцитов с поздними признаками апоптоза: повышенной проницаемостью мембраны для 7-ААД; в 2 раза также увеличивается количество лимфоцитов с признаками некроза. Вероятно, снижение количества клеток с ранними признаками апоптоза отражает

повышение интенсивности гибели клеток путем апоптоза и (или) некроза.

Полагают, что апоптоз Т-лимфоцитов и Т-лимфоцитопения при терминальной ХПН могут быть обусловлены влиянием уремических токсинов, избытка свободного железа, окислительного стресса, гиперфосфатемии в условиях вторичного гиперпаратиреоза. Проапоптотические свойства уремической плазмы связывают с окисленными липопротеидами низкой плотности, которые активируют Fas-опосредованный апоптоз CD4⁺ Т-лимфоцитов в связи со снижением экспрессии рецептора к ИЛ2 [13, 16]. Кроме того, В-лимфоцитопения у больных с терминальной ХПН может быть связана с гибелью клеток путем апоптоза в связи с пониженной экспрессией Bcl-2 [9, 13].

Один из механизмов Т-лимфоцитопении – повышение концентрации в плазме крови больных с ХПН, находящихся на ГД, индоламина-2,3-диоксигеназы (IDO) и аргиназы 1-го типа (ARG), участвующих в катаболизме соответственно триптофана и аргинина. Установлено проапоптотическое и антипролиферативное действие IDO и ARG на Т-клетки; их концентрация в крови обратно пропорциональна абсолютному количеству Т-лимфоцитов у больных, проходящих лечение ГД [11, 12, 14]. IDO рассматривают как фермент с иммуномодулирующими свойствами, возможно, участвующий в регуляции выраженности воспалительного процесса, прогрессировании атеросклероза и ишемической болезни сердца при ХПН; уровень IDO в плазме отрицательно коррелирует с концентрацией ИЛ6 и С-реактивного белка.

Учитывая известную роль азотемии в развитии и прогрессировании осложнений при ХПН, включая инфекцион-

Таблица 3
Популяционный спектр лимфоцитов периферической крови у больных с ХПН, находящихся на ГД (M±m)

Показатель, ·10 ⁹ /л	1-я группа (контроль), n=12	2-я группа (больные с ХПН до ГД), n=53	3-я группа (больные с ХПН после ГД), n=53
CD3 ⁺	0,77±0,04	0,39±0,05*	0,55±0,07*
CD4 ⁺	0,57±0,04	0,28±0,03*	0,38±0,05*
CD8 ⁺	0,47±0,04	0,21±0,02*	0,29±0,03*
CD16 ⁺	0,27±0,03	0,12±0,02*	0,17±0,02*
CD20 ⁺	0,26±0,02	0,12±0,02*	0,16±0,02*
CD25 ⁺	0,18±0,02	0,09±0,01*	0,14±0,02

Таблица 4
Показатели апоптоза лимфоцитов периферической крови у больных с ХПН (M±m)

Показатель	1-я группа (контроль), n=12	Больные с ХПН, n=53
Количество клеток, %:		
интактных	80,83±0,83	88,37±1,88*
с ранними признаками апоптоза	19,06±0,82	10,17±1,58*
с поздними признаками апоптоза	0,05±0,01	1,33±0,31*
с признаками некроза	0,06±0,01	0,12±0,02*

Примечание. * – статистически значимые (p<0,05) различия с группой контроля по критерию Краскела–Уоллиса.

ные, сердечно-сосудистые и др., в формировании которых приоритетная роль принадлежит факторам иммунной системы, мы предположили, что азотемия может способствовать и изменению количественного состава лимфоцитов в крови. Ранее нами зафиксированы изменения уровня метаболизма азотистого обмена у таких больных [2, 15, 16]. Для верификации высказанного предположения проведен корреляционный анализ (табл. 5). Установлено, что снижение количества CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺-лимфоцитов прогрессирует по мере увеличения концентрации креатинина и мочевины в сыворотке крови.

Для подтверждения роли факторов крови у больных с ХПН в активации апоптоза лимфоцитов в условиях *in vitro* было исследовано влияние плазмы, полученной от больных с ХПН, на апоптоз лимфоцитов здоровых людей. Результаты исследования (табл. 6) показали, что инкубация интактных лимфоцитов с уремической плазмой в течение 30 мин при 37°С приводит к увеличению количества лимфоцитов с поздними признаками апоптоза и некроза.

Таким образом, у больных с ХПН, находящихся на ГД, в периферической крови наблюдаются нейтрофильно-эозинофильный лейкоцитоз и лимфоцитопения, активируются поглотительная способность и кислородзависимый метаболизм фагоцитов, увеличивается количество эозинофилов и снижается количество лимфоцитов за счет фенотипов CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD20⁺, CD16⁺. Снижение количества лимфоцитов в периферической крови у больных с ХПН, находящихся на ГД, прогрессирует по мере увеличения концентрации креатинина и мочевины в сыворотке крови. Один из механизмов снижения количества лимфоцитов в крови у больных с ХПН,

находящихся на ГД, – активация апоптоза; установлено увеличение в крови таких больных количества лимфоцитов с поздними признаками апоптоза и некроза. При инкубации лимфоцитов здоровых людей с уремической плазмой среди них возрастает количество клеток с поздними признаками апоптоза и некроза.

Литература

1. Волгина Г.В. Вторичный гиперпаратиреоз при хронической почечной недостаточности. Лечение активными метаболитами витамина D // Нефрология и диализ. – 2004; 6 (2): 116–24.
2. Осиков М.В., Григорьев Т.А., Агеев Ю.И. Эфферентные и антиоксидантные свойства эритропоэтина при хронической почечной недостаточности // Эфферентная терапия. – 2011; 17 (4): 7–13.
3. Осиков М.В., Григорьев Т.А., Федосов А.А. Роль эритропоэтина в реализации тромбоцитарно-клеточных взаимодействий в крови при хронической почечной недостаточности // Фундаментальные исследования. – 2012; 10–2: 285–9.
4. Осиков М.В., Григорьев Т.А., Федосов А.А. Современные представления о гемостазиологических эффектах эритропоэтина // Фундаментальные исследования. – 2013; 5–1: 196–200.
5. Betjes M., Immune cell dysfunction and inflammation in end-stage renal disease // Nat. Rev. Nephrol. – 2013; 5: 255–65.
6. Carrero J., Stenvinkel P. Inflammation in end-stage renal disease--what have we learned in 10 years? // Semin. Dial. – 2010; 23: 498–509.
7. Chung B., Kim K., Sun I. et al. Increased interleukin-17 producing effector memory T cells in the end-stage renal disease patients // Immunol. Lett. – 2012; 141: 181–9.
8. Cohen G., Hörl W. Immune Dysfunction in Uremia-An Update // Toxins (Basel). – 2012; 24 (4): 962–90.
9. Eleftheriadis T., Kartsios C., Pissas G. et al. Increased plasma angiogenin level is associated and may contribute to decreased T-cell zeta-chain expression in hemodialysis patients // Ther. Apher. Dial. – 2013; 17 (1): 48–54.
10. Eleftheriadis T., Yiannaki E., Antoniadi G. et al. Plasma indoleamine 2,3-dioxygenase and arginase type I may contribute to decreased blood T-cell count in hemodialysis patients // Ren. Fail. – 2012; 34 (9): 1118–22.
11. Fernandez-Fresnedo G., Ramos M., Gonzalez-Pardo M. et al. B lymphopenia in uremia is related to an accelerated *in vitro* apoptosis and dysregulation of Bcl-2 // Nephrol. Dial. Transplant. – 200; 15: 502–10.
12. Kato S., Chmielewski M., Honda H. et al. Aspects of immune dysfunction in end-stage renal disease // Clin. J. Am. Soc. Nephrol. – 2008; 3 (5): 1526–33.
13. Litjens N., Huisman M., van den Dorpel M. et al. Impaired immune responses and antigen-specific memory CD4⁺ T cells in hemodialysis patients // J. Am. Soc. Nephrol. – 2008; 19: 1483–90.
14. Meier P., Golshayan D., Blanc E. et al. Oxidized LDL modulates apoptosis of regulatory T cells in patients with ESRD // J. Am. Soc. Nephrol. – 2009; 20: 1368–84.
15. Meijers R., Litjens N., de Wit E. et al. Uremia causes premature ageing of the T cell compartment in end-stage renal disease patients // Immun. Ageing. – 2012; 9 (1): 19.
16. Pahl M., Gollapudi S., Sepassi L. et al. Effect of end-stage renal disease on B-lymphocyte subpopulations, IL-7, BAFF and BAFF receptor expression // Nephrol. Dial. Transplant. – 2010; 25: 205–12.

FUNCTION OF WHITE BLOOD CELLS AND THEIR APOPTOTIC ACTIVITY IN PATIENTS WITH CHRONIC RENAL FAILURE ON HEMODIALYSIS

M. Osikov; Professor **O. Gizinger**, *Biol.D.*; **L. Telesheva**; **Yu. Ageev**; **D. Cherepanov**; **A. Akleev**
South Ural State Medical University, Chelyabinsk

The quantitative composition of white blood cells, their functional activity, the populations and subpopulations of peripheral blood lymphocytes, apoptosis of the latter when stained with fluorochrome-conjugated annexin V and 7-aminoactinomycin D by flow cytometry were studied in 53 patients with chronic renal failure who received continuous renal replacement therapy at the Hemodialysis Unit of the Chelyabinsk Regional Clinical Hospital.

Key words: chronic renal failure; lymphocytes; absorption capacity of neutrophils; oxygen-dependent metabolism, apoptosis.

Таблица 5

Корреляция между популяционным спектром лимфоцитов и показателями азотемии у больных с ХПН до процедуры ГД

Показатель, •10 ⁹ /л	Мочевина, ммоль/л	Креатинин, мкмоль/л
CD3 ⁺	r=-0,21; p>0,05	r=-0,38; p<0,05
CD4 ⁺	r=-0,22; p>0,05	r=-0,34; p<0,05
CD8 ⁺	r=-0,39; p<0,05	r=-0,41; p<0,05
CD16 ⁺	r=-0,07; p>0,05	r=-0,08; p>0,05
CD20 ⁺	r=-0,10; p>0,05	r=-0,14; p>0,05
CD25 ⁺	r=-0,08; p>0,05	r=-0,19; p>0,05

Таблица 6

Влияние плазмы больных с ХПН на показатели апоптоза лимфоцитов здоровых людей в условиях *in vitro* (M±m)

Показатель	Лимфоциты здоровых людей + плазма здоровых людей (n=14)	Лимфоциты здоровых людей + плазма больных с ХПН (n=14)
Количество клеток, %:		
интактных	80,83±0,83	81,51±1,54
с ранними признаками апоптоза	19,06±0,82	18,26±1,53
с поздними признаками апоптоза	0,05±0,01	0,11±0,02*
с признаками некроза	0,06±0,01	0,13±0,03*

Примечание. * – статистически значимые (p<0,05) различия с группой контроля по критерию Краскела–Уоллиса.