

УДК 616.61+616.155-073+151.1

## **ВОЗДЕЙСТВИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО ЭРИТРОПОЭТИНА НА ИММУННЫЙ СТАТУС БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКОЙ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ РАЗЛИЧНОЙ ЭТИОЛОГИИ**

### **РЕНАЛЬНАЯ АНЕМИЯ И СОСТОЯНИЕ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ У БОЛЬНЫХ НА ПРОГРАММНОМ ГЕМОДИАЛИЗЕ**

*(сообщение 1)***А.Р.Меликджанян, Л.А.Кцоян, А.С.Баблоян***/Детский лечебный центр "Арабикр" МЗ РА/  
375014, Ереван, ул. Фурманова, 30***Ключевые слова:** нефрология, почечная анемия, гемодиализ, эритропоэтин

Одной из наиболее сложных проблем, возникающих при лечении хронической почечной недостаточности (ХПН) методом программного гемодиализа (ПГ), является ренальная анемия (РА), патогенез которой мультифакториален [9, 10, 13]. Причиной РА является как укорочение периода жизни эритроцитов [6, 9, 10], так и снижение интенсивности эритропоэза [5, 4], причем наиболее значимым фактором развития РА является снижение продукции эритропоэтина (ЭПО) [6, 8, 14].

В человеческом организме ЭПО синтезируется в основном в почках, а синтез экстраренального ЭПО в печени и макрофагах обычно не превышает 10-15% от общего количества синтезируемого ЭПО [8, 12, 14]. С углублением ХПН и нарастанием уремии почечная масса и число функционирующих нефронов значительно снижаются, что является одной из основных причин, приводящих к снижению синтеза ЭПО [6, 8, 10]. При ХПН секреция ЭПО увеличивается лишь в ответ на острую кровопотерю или гипоксию [6, 12, 13], но не в условиях умеренной анемии [6, 8], что ведет к сохранению анемического статуса больных.

РА у больных с ХПН, находящихся на лечении ПГ, — один из наиболее грозных и трудно корригируемых симптомов, ответственных за ухудшение общего состояния больных, снижение их физической активности и невозможность их социальной реабилитации [5, 9, 10].

Адекватное лечение РА у больных с ХПН на ПГ являлось одной из основных задач отделения гемодиализа и трансплантации почки Детского лечебного центра "Арабикр" с 1991г., когда благодаря содействию фирмы "Cilag" (Швейцария) появилась возможность использования в клинике рекомбинантного челове-

ческого эритропоэтина. Результаты годичного использования этого препарата показали его высокую эффективность при лечении РА [1].

Начиная с 1993г. нами проводится работа по исследованию воздействия экзогенного эритропоэтина на иммунный статус организма у больных с ХПН на ПГ, поскольку этот аспект проблемы освещен в литературе недостаточно [3, 4].

Цель данной работы состоит в изучении некоторых показателей уровня анемии и иммунного статуса у больных с ХПН различной этиологии, находящихся на лечении ПГ. Особый интерес представляет группа больных с периодической болезнью (ПБ) и амилоидозом почек, поскольку ПБ является эндемической патологией для Армении.

### Материал и методы

Больные с ХПН различной этиологии (52 пациента), находящиеся на ПГ (из трех центров гемодиализа г. Еревана: Республиканская клиническая больница - 24, больница "Эребуни" - 12, Детский лечебный центр "Арабкир" - 16 человек), были разделены на две группы по этиологическому фактору. Возраст больных - от 12 до 56 лет (28 женщин и 24 мужчины). Первую группу составили 36 больных с хроническим гломерулонефритом (ХГ) и ХПН, вторую - 16 больных с ПБ и амилоидозом почек.

В период обследования физическое и клиническое состояние пациентов находилось под постоянным контролем, регулярно проводился мониторинг стандартных биохимических показателей (мочевина, креатинин, общий белок, белковые фракции, билирубин, тимоловая проба, трансаминазы) и показателей электролитного баланса (Na, K, Ca, P).

Исходный иммунологический статус был определен по следующим показателям клеточного и гуморального иммунитета: содержание лейкоцитов (абс.), лимфоцитов (абс.), Т-лимфоцитов (абс. и процентное), отношение Т-теофиллин-резистентных к Т-теофиллин-чувствительным Т-лимфоцитам ( $T_{рез}/T_{чувст.}$ ), содержание В-лимфоцитов (абс. и процентное), отношение Т-лимфоцитов к В-лимфоцитам (Т/В), уровень сывороточных иммуноглобулинов классов А, М и G.

Иммунологическое обследование выполняли по комплексу методов, изложенных в методических рекомендациях [2]. Лимфоциты выделяли из венозной крови в градиенте плотности фиколл-верографин [7]. Т- и В-лимфоциты определяли методом спонтанного розеткообразования с эритроцитами барана [2]. Уровень сывороточных иммуноглобулинов классов А, М и G анализировали методом радиальной иммунодиффузии по Mancini [16]. Чувствительность рецепторов Т-лимфоцитов определяли методом инкубации с теофилином [2]. Уровень анемии контролировали постоянным мониторингом красной крови (гемоглобин - Hb и гематокрит - Ht). У всех больных исследовали уровень эндогенного эритропоэтина радиоиммунным методом с использованием набора "125 I-EPO COATRIA" фирмы "Bio Merieux" (Франция). Забор крови для анализов проводили в строго фиксированное время суток с учетом циркадных ритмов [15]. Статистическую обработку результатов проводили по стандартной методике Фишера-Стьюдента.

### Результаты и обсуждение

В процессе сравнительного обследования двух групп больных были получены следующие результаты. Общее физическое и клиническое состояние больных

и показатели стандартных биохимических анализов и электролитного баланса в двух группах существенно не различались. Уровень анемии (Hb, Ht) и концентрация эндогенного ЭПО сыворотки крови в двух группах различались статистически недостоверно (рис.). В обеих группах уровень Hb и Ht был крайне низким, что свидетельствовало о глубокой анемии и соответствовало низкой концентрации эндогенного ЭПО, что характерно именно для ХПН.

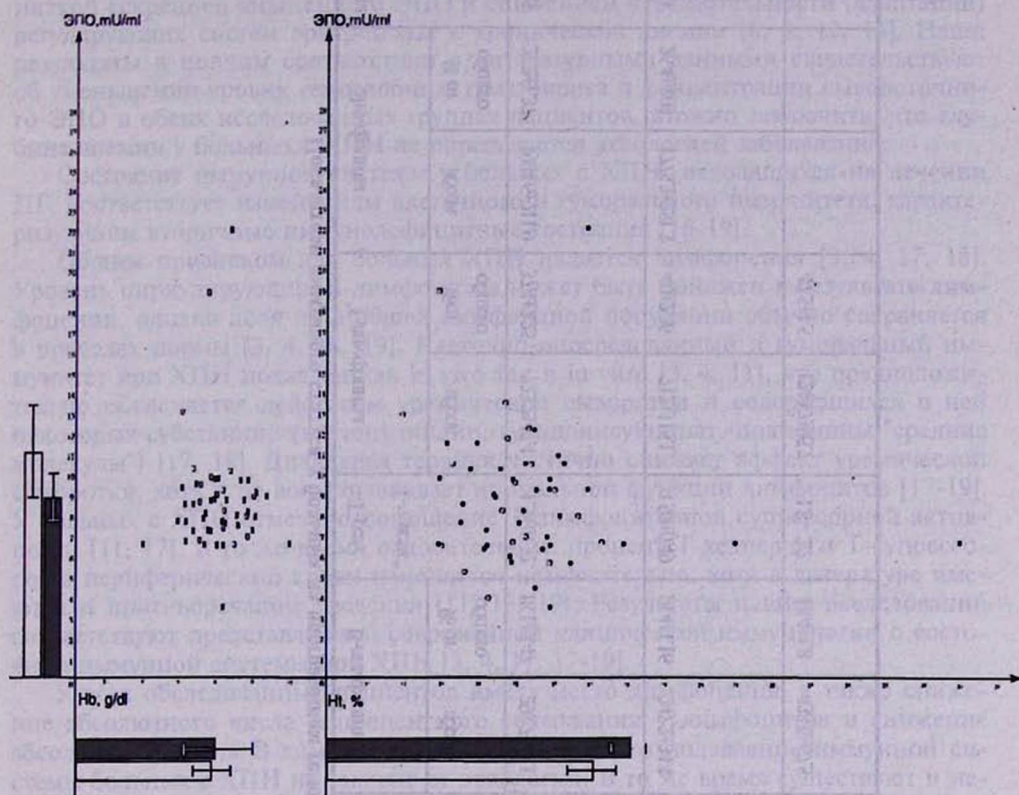


Рис. Зависимость концентрации Hb и Ht от уровня сывороточного ЭПО и их средние концентрации:

черные квадратик и черные кружочки — уровень Hb и Ht у больных с ХГ, белые — у больных с ПБ. Черные столбики — средняя концентрация уровня ЭПО, Hb и Ht у больных с ХГ, белые — у больных с ПБ.

Данные иммунологического обследования (таблица) свидетельствуют о том, что у всех больных отмечается относительная лейкопения, лимфопения, а также значительное снижение уровня Т-лимфоцитов. В группе с ХГ отмечалось статистически достоверное снижение показателя  $T_{рез}/T_{чувст.}$  Т-лимфоцитов как по отношению к нормальным показателям, так и по отношению к группе больных с ПБ.

Таблица

## Показатели иммунного статуса у больных на программном гемодиализе

| Группы                    | Лейкоциты  | Лимфоциты      |              | Т-лимфоциты   |             | Т-рез/<br>Т-чувств.* | В-лимфоциты    |            | Т-лимф/<br>В-лимф. | Иммуностимуляторы |           |            |
|---------------------------|------------|----------------|--------------|---------------|-------------|----------------------|----------------|------------|--------------------|-------------------|-----------|------------|
|                           |            | % от<br>общего | абсол.       | %от<br>общего | абсол.      |                      | % от<br>общего | абсол.     |                    | G                 | A         | M          |
| Больные<br>с ХГ<br>(n=36) | 6610±205.5 | 27.2±1.37      | 1984.6±211.9 | 37.4±2.25     | 723.2±47.4  | 1.38±0.32            | 18.1±2.47      | 298.7±34.1 | 2.71±0.32          | 16.7±0.32         | 22±0.11   | 1.4±0.09   |
| Больные<br>с ПБ<br>(n=16) | 6620±517.1 | 26.4±4.03      | 1775.2±251.3 | 40±2.26       | 712±115.1   | 1.92±0.49            | 14.4±1.16      | 247.2±34.4 | 2.82±0.18          | 14.7±0.49         | 2.1±0.22  | 1.4±0.04   |
| Норма                     |            |                |              | 47.5±1.5      | 1240.7±95.7 | 1.8 - 2.2            | 16.4±1.8       | 438.6±67.5 | 3 - 1              | 12.7±0.78         | 1.71±0.11 | 0.94±0.001 |

\* 0.01 &gt; P &gt; 0.002

Имело место также снижение абсолютного количества В-лимфоцитов в обеих группах при нормальных показателях их процентного содержания. Уровень сывороточных иммуноглобулинов классов А, М и G соответствовал норме и практически не различался в двух группах. Соотношение Т/В лимфоцитов в обеих группах также соответствовало нормальным показателям.

Анемия, наиболее опасный и выраженный синдром при ХПН, связана с низкой секрецией эндогенного ЭПО и снижением чувствительности (адаптации) регулирующих систем эритропоэза к хронической анемии [6, 8, 12, 14]. Наши результаты в полном соответствии с литературными данными свидетельствуют об уменьшении уровня гемоглобина, гематокрита и концентрации сывороточного ЭПО в обеих исследованных группах пациентов. Можно заключить, что гематокрита анемии у больных с ХПН не определяется этиологией заболевания.

Состояние иммунной системы у больных с ХПН, находящихся на лечении ПГ, соответствует изменениям клеточного и гуморального иммунитета, характеризующим вторичные иммунодефицитные состояния [16-19].

Общим признаком для больных ХПН является лимфопения [3, 4, 17, 18]. Уровень циркулирующих В-лимфоцитов может быть понижен в результате лимфопении, однако доля их в общей лимфоидной популяции обычно сохраняется в пределах нормы [3, 4, 18, 19]. Клеточно-опосредованный и гуморальный иммунитет при ХПН подавлен как *in vivo* так и *in vitro* [3, 4, 11], что предположительно объясняется действием уремической сыворотки и содержащихся в ней некоторых субстанций (метилгуанидин, гуанидинсукцинат, полиамины "средние молекулы") [17, 18]. Диализная терапия частично снижает эффект уремической сыворотки, хотя и не восстанавливает нормальной функции лимфоцитов [17-19]. У больных с ХПН отмечено повышение Т-лимфоцитарной супрессорной активности [11, 17]. В то же время относительный процент Т-хелперов и Т-супрессоров в периферической крови изменяется незначительно, хотя в литературе имеются и противоречащие сведения [11, 18, 19]. Результаты наших исследований соответствуют представлениям современной клинической иммунологии о состоянии иммунной системы при ХПН [3, 4, 11, 17-19].

У всех обследованных пациентов имела место лимфопения, а также снижение абсолютного числа и процентного содержания Т-лимфоцитов и снижение абсолютного числа В-лимфоцитов. Обнаружено, что подавление иммунной системы больных с ХПН не зависит от этиологии. В то же время существуют и некоторые различия в состоянии иммунной системы у больных с ХГ и ПБ. Так, выявлено статистически достоверное различие в соотношении Т-теофиллин-резистентных и Т-теофиллин-чувствительных лимфоцитов у больных с ХГ по отношению к норме, тогда как у больных с ПБ теофиллин не влияет на Е-розеткообразование лимфоцитов. Полученные данные, по нашему мнению, свидетельствуют о различной рецепторной чувствительности лимфоцитов больных с ХГ и ПБ, что, вероятно, является следствием воздействия на лимфоциты различных этиопатогенетических факторов, характерных для этих двух нозологий.

Поступила 15.01.96

**ՄԱՐԴԿԱՅԻՆ ՌԵԿՈՄԲԻՆԱՆՏ ԷՐԻԹՐՈՊՈԹԵՏԻՆԻ ԱՉԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ  
ԵՐԻԿԱՄԱՅԻՆ ԽՐՈՆԻԿԱԿԱՆ ԱՆԲԱՎԱՐԱՐՈՒԹՅՈՒՆ ՈՒՆԵՑՈՂ  
ՀԻՎԱՆԴՆԵՐԻ ԻՄՈՒՆ ԿԱՐԳԱՎԻՃԱԿԻ ՎՐԱ**

**ՏՐԱԳՐԱՅԻՆ ՀԵՄՈԴԻԱԼԻԶԻ ԵՆԹԱՐԿՎՈՂ ՀԻՎԱՆԴՆԵՐԻ ԵՐԻԿԱՄԱՅԻՆ  
ՍԱԿԱՎՈՐՈՒՄԻՆՈՒԹՅՈՒՆԸ ԵՎ ԻՄՈՒՆ ՀԱՄԱԿԱՐԳԸ**

**Ա.Ռ.Մելիքջանյան, Լ.Ա.Կծոյան, Ա.Ս.Բաբլոյան**

Երկամայյև խրոնիկական անբավարարությամբ տառապող հեմոդիալիզի ենթարկվող հիվանդները ըստ անբավարարության պատճառ համոդիսացող հիվանդությունների քաժանվել են 2 խմբի.

1. խրոնիկական գլոմերուլոնեֆրիտով տառապող հիվանդներ,

2. պարբերական հիվանդությամբ տառապող հիվանդներ :

Հետազոտվել են հետևյալ իմունաքանակական և կենսաքիմիական ցուցանիշները՝

1. T-լիմֆոցիտների քանակությունը ծայրամասային արյան մեջ

2. B-լիմֆոցիտների քանակությունը ծայրամասային արյան մեջ

3. Թեոֆիլին զգայուն և թեոֆիլին կայուն T-լիմֆոցիտների քանակության հարաբերությունը արյան մեջ

4. Շիճուկային A,M,G դասերի իմունագլոբուլինների քանակությունը:

Հիվանդների կլինիկական վիճակը հսկելու համար որոշվել են մաել ստանդարտ կենսաքիմիական ցուցանիշները: Շիճուկում EPO քանակությունը որոշվել է իմունաքիմիական մեթոդով:

Ցույց է տրված, որ բոլոր հիվանդների շիճուկում EPO քանակությունը զգալիորեն իջած է, ընդ որում իջեցման միջխմբային տարբերություններ չկան: Բոլոր հիվանդների A,M,G շիճուկային իմունագլոբուլինների քանակությունը եղել է նորմալ:

Հայտնաբերված է Թ-զգայուն և Թ-կայուն T-լիմֆոցիտների հարաբերության զգալի իջեցում, համեմատած ինչպես նորմալ ցուցանիշների, այնպես էլ պարբերական հիվանդությամբ տառապող հիվանդների ցուցանիշների հետ:

**RECOMBINANT HUMAN ERYTHROPOIETIN EFFECT ON IMMUNE STATUS OF  
PATIENTS WITH CHRONIC RENAL FAILURE**

**RENAL ANEMIA AND IMMUNE SYSTEM IN PATIENTS  
ON CHRONIC HEMODIALYSIS**

**A.R.Melikdjanian, L.A.Ktsoyan, A.S.Babloyan**

52 patients with chronic renal failure (CRF) on chronic hemodialysis (CH) were divided into 2 groups by the principle of different underlying diseases:

(i) Patients with chronic glomerulonephritis (GN)

(ii) Patients with Familial Mediterranean Fever (FMF)

The following immunological and biochemical parameters were investigated:

The content of T-lymphocytes in peripheral blood, B-lymphocytes in peripheral blood, theophylline-sensitive and theophylline-resistant lymphocytes in peripheral blood, the concentration of serum immunoglobulins of A, M and G classes.

For monitoring the clinical condition of patients standard biochemical indices were analysed.

EPO serum level was measured by radioimmune assay (125 I-EPO COATRIA).

It was shown that EPO serum level was significantly decreased in all patients and presented no differences between two groups. Absolute and relative number of T-lymphocytes and absolute number of B-lymphocytes was significantly decreased in all

patients. These changes presented no differences in the groups of patients with FMF and GN.

The level of serum immunoglobulins of classes A, M, G was normal in all patients.

Significant decrease of theophylline-sensitive and theophylline-resistant T-cells ratio was observed in the group of patients with GN in comparison with the normal range and patients with FMF.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Меликджанян А.Р., Акопян А.Х., Егиазарян А.В., Кузикян М.Г., Баблоян А.С. Тез. X научно-практ. конф. детских врачей. Ереван, 92, с. 96.
2. Петров Р.В., Лопухин Ю.М., Чередеев А.И. Оценка иммунного статуса человека. М., 1984, с. 125.
3. Barany P., Ferman J., Codoy C. Clin. Nephrol., 1992, 37, 90.
4. Bestard J., Casco T. J., Mery A. Nephrol. Dial. Transplant., 1991, 6, 820.
5. Bommer J., Huber W., Tewes G. Cont. Nephrol., 1988, 66, 131.
6. Bondurant M.C., Coury M. J. Mol. Cell Biol., 1986, 6, 2731.
7. Boyum A., Scand J. Clin. Lab. Invest., 1968, 21, 97, 77.
8. Brunatti G., Cappellini M.D., De Feo T. Am. J. Nephrol., 1992, 12, 9.
9. Caro J., Brown S., Miller O. J. Lab. Clin. Med., 1979, 93, 449.
10. Caro J., Erslev A.-J. Contr. Nephrol., 1988, 66, 54.
11. Classock R.J. Kidney Int., 1983, 24, S 194-S 198.
12. Danielson B. Nephrol. Dial. Transplant., 1995, 10, Suppl. 2, 69.
13. Erslev A.-J., Caro J. Exp. Hematol., 1980, 8, 1.
14. Erslev A.-J., Caro J., Konsu E., Silver R. Br. J. Hematol., 1980, 45, 65.
15. Ferec G., Bourbigot B., Deroff P., Saleum J.P. Trasplant. Proc., 1986, 18, 308.
16. Mancini G., Carbonara A.O., Heremans J.E. Immunochemistry, 1965, 2, 35.
17. Raskova J., Morrisson A.B. Lab. Invest., 1978, 38, 103.
18. Raskova J., Raska K. J. Pathol., 1983, III, 149.
19. Weissgarten J., Modai D., Cohen N., Kaufmann S. Int. Arch. Allergy. Appl. Immunol., 1986, 81, 180.