

## 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 ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ЛЕЧЕНИИ РЕКОМБИНАНТНЫМ ЧЕЛОВЕЧЕСКИМ ЭРИТРОПОЭТИНОМ

(сообщение II)

А.Р.Меликджанян, Л.А.Кцоян, А.С.Баблоян

*/Детский лечебный центр "Арабкир" МЗ РА/  
375014, Ереван, ул. Фурманова, 30*

*Ключевые слова:* нефрология, почечная анемия, гемодиализ, эритропоэтин

В первом сообщении [1] нами были изложены результаты изучения клинического состояния, уровня анемии и иммунного статуса больных с хронической почечной недостаточностью (ХПН) различной этиологии, находящихся на лечении программным гемодиализом (ПГ). Полученные данные свидетельствуют, что статус иммунной системы у исследованного контингента больных характерен для вторичных иммунодефицитных состояний. Гематологические показатели и уровень эндогенного эритропоэтина (ЭПО) свидетельствуют о глубокой ренальной анемии (РА), присущей больным с терминальной стадией ХПН.

Введение в клиническую практику рекомбинантного человеческого ЭПО (РЭПО) привело к улучшению результатов лечения РА - опасного осложнения при ХПН. В 1984 г. Eschbach et al. [14] в эксперименте доказали результативность коррекции анемии путем инъекции насыщенной эритропоэтином плазмы. В дальнейшем Wimperls et al. [27] провели клинические испытания РЭПО у 10 пациентов с глубокой анемией, находящихся на лечении ПГ, и доказали высокую эффективность препарата. В течение последнего десятилетия РЭПО прочно вошел в арсенал препаратов для коррекции РА. Однако до настоящего времени воздействие РЭПО на иммунную систему пациентов с ХПН остается невыясненным [4, 5]. Поскольку у больных с ХПН клеточно-опосредованный и гуморальный иммунитет подавлен [5, 8], представляет интерес исследование воздействия лечебных доз РЭПО на иммунный статус организма. Также не до конца выясненным остается вопрос о корреляции между экзогенным и эндогенным ЭПО при длительном лечении РА [13].

Задачей настоящего исследования является изучение воздействия РЭПО на иммунный статус организма и уровень эндогенного ЭПО у больных с ХПН на ПГ при длительном лечении РА.

### Материал и методы

Обследовано 16 пациентов с ХПН, развившейся в результате хронического гломерулонефрита (ХГ), находящихся на лечении ПГ в отделении гемодиализа и трансплантации почки Детского лечебного центра "Арабкир" в возрасте 9-35 лет (10 женщин и 6 мужчин). К началу обследования больные находились на лечении ПГ в течение 8-22 месяцев. Проводился постоянный мониторинг биохимических показателей и электролитного баланса, а также контроль за уровнем анемии и иммунологических показателей (методы исследований изложены в сообщении 1) [1]. Кроме того, определялся уровень сывороточного железа методом цветной реакции с сульфонируемым батофенантролином [2] и ферритина сыворотки крови радиоиммунным методом.

Все пациенты получали РЭПО (Eprex Cilag, Швейцария) в виде в/в инъекций 3 раза в неделю в конце каждого сеанса гемодиализа в течение года. Расчетная доза препарата составляла от 150 до 200 IU на кг массы тела в неделю. Одновременно проводили в/в инъекции препаратов железа (Fe Hausmann) по 100 мг в течение 10 дней при контроле уровня сывороточного железа и ферритина. Длительность лечения составляла около 12 месяцев. За это время каждый больной получил не менее 3 курсов лечения препаратами железа для поддержания уровней сывороточного железа в пределах нормальных показателей (12-32 мкмоль/л) и ферритина сыворотки выше 20 нг/л, поскольку истощение депо железа значительно снижает эффективность лечения РЭПО [6, 24, 26].

Забор крови для анализов проводили в строго фиксированное время суток с учетом циркадных ритмов [12]. Статистическую обработку результатов проводили по стандартной методике Фишера-Стьюдента.

### Результаты и обсуждение

Сравнительное исследование показателей у пациентов до и после годичного курса лечения РЭПО выявило значительное улучшение общего физического состояния больных, повышение физической активности, аппетита, сна, отсутствие субъективных симптомов, характерных для глубокой анемии. При этом показатели биохимических анализов и электролитного баланса существенно не изменились. Значительно улучшилась картина красной крови (рис.1). Уровень гемоглобина повысился от  $80,0 \pm 4,4$  до  $103,4 \pm 4,76$  g/dl, а гематокрита от  $19 \pm 2,03$  до  $33,7 \pm 2,02\%$ . Парадоксальный результат был получен при исследовании уровня эндогенного ЭПО сыворотки крови, отмечено его статистически достоверное снижение (рис.2).

При исследовании иммунного статуса у пациентов до и после длительного лечения РЭПО (таблица) также было выявлено статистически достоверное возрастание соотношения теофиллин-резистентных и теофиллин-чувствительных Т-лимфоцитов при относительном постоянстве показателей гуморального и клеточного иммунитета.

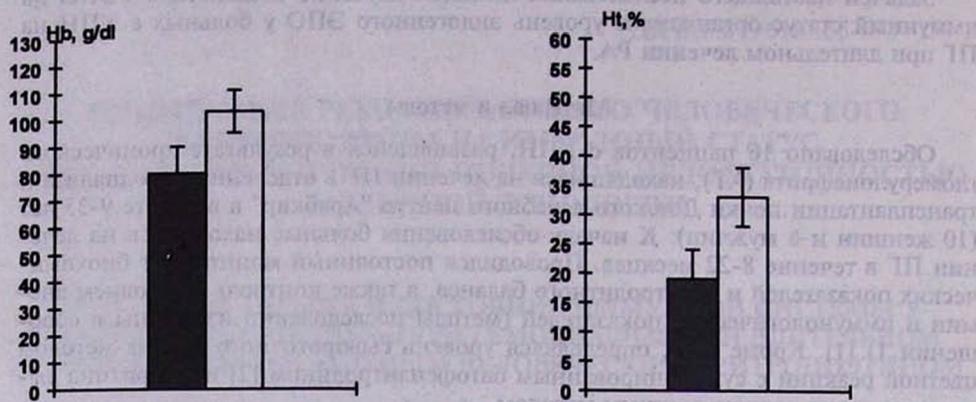


Рис.1 Средние концентрации Hb и Ht до и после лечения анемии (черный столбик — до, белый — после лечения)

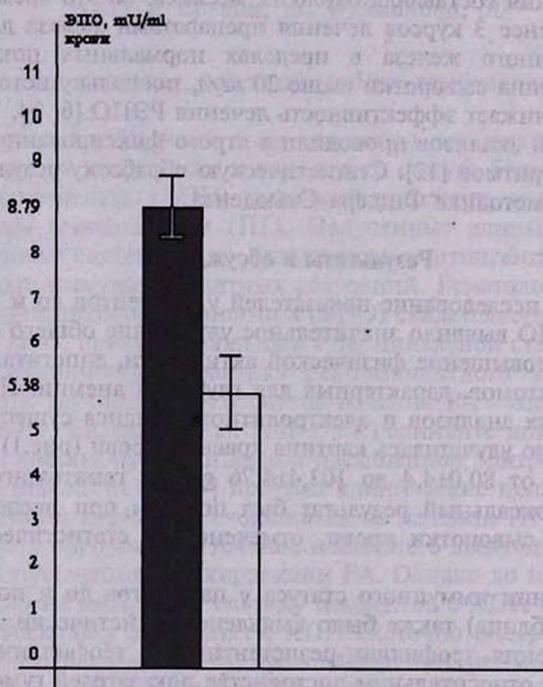


Рис.2 Средние концентрации сывороточного ЭПО до и после лечения анемии (чёрный столбик — до, белый — после лечения), ( $p > 0.002$ )

Таблица

## Показатели иммунного статуса у больных на программном гемодиализе до и после лечения

| Группы                     | Лейкоциты  | Лимфоциты      |              | Т-лимфоциты    |             | Т-рез/<br>Т-чувств.* | В-лимфоциты    |            | Т-лимф/<br>В-лимф. | Иммуноглобулины |           |            |
|----------------------------|------------|----------------|--------------|----------------|-------------|----------------------|----------------|------------|--------------------|-----------------|-----------|------------|
|                            |            | % от<br>общего | абсол.       | % от<br>общего | абсол.      |                      | % от<br>общего | абсол.     |                    | G               | A         | M          |
| До<br>лечения<br>(n=16)    | 6540±195.5 | 26.6±1.22      | 1878.6±205.8 | 36.2±2.12      | 712.2±44.5  | 1.36±0.31            | 17.8±2.21      | 287.7±31.1 | 2.66±0.29          | 16.9±0.64       | 2.36±0.13 | 1.7±0.07   |
| После<br>лечения<br>(n=16) | 6400±836.6 | 27.4±4.61      | 1868.8±423.6 | 42.4±2.38      | 789±210.5   | 3.68±0.52            | 16.4±1.41      | 320±99.8   | 2.68±0.35          | 15.5±0.35       | 2.1±0.13  | 1.5±0.08   |
| 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±67.5       | 1.7±0.78  | 0.94±0.001 |

\* 0.01&gt;P&gt;0.002

ЭПО – гликопротеиновый гормон, на 90% вырабатываемый в почках, является основным регулятором продукции эритроцитов и вырабатывается в организме в ответ на аноксию [9]. Этот гормон стимулирует дифференцировку клеток-предшественников эритроидного ряда в нормобласты, а также повышает число этих клеток [16]. Неспособность пораженных почек продуцировать адекватное количество ЭПО считается основным механизмом, ведущим к развитию анемии у больных с ХПН [9, 11, 16].

В развитии РА у больных с ХПН важную роль также играет укорочение продолжительности жизни эритроцитов [10], вторичный гиперпаратиреозидизм [29] и особенно дефицит железа [3, 26]. Последнее наиболее значимо у больных, находящихся на лечении ПГ ввиду постоянных потерь крови во время сеансов гемодиализа [25]. Однако коррекция дефицита железа, гиперпаратиреозидизма и других факторов не давала ощутимых результатов при лечении РА у больных на ПГ, пока для лечения заболевания не стали применять РЭПО [15, 23].

Результаты наших исследований свидетельствуют о высокой эффективности РЭПО при лечении РА. Значительное повышение уровня гемоглобина и гематокрита у наших пациентов привело к исчезновению всех основных симптомов РА и позволило полностью отказаться от дорогостоящих и небезопасных гемотрансфузий.

Особенно наглядны результаты сравнительного исследования уровня эндогенного ЭПО сыворотки крови у пациентов до и после длительного курса лечения РЭПО. В нормальных условиях концентрация эндогенного ЭПО сохраняется на уровне 10-20 *mU/ml* [19]. Анемия активирует синтез и секрецию ЭПО. Так, при падении уровня гематокрита ниже 20% концентрация ЭПО возрастает в 100 раз и более [7], что в свою очередь стимулирует пролиферацию клеток эритроидного ряда [9]. Для больных же с ХПН характерна неадекватность повышения уровня эндогенного ЭПО в ответ на анемию [21], что связано со снижением чувствительности регулирующих систем эритропоэза к хронической анемии [17, 18, 21]. После применения лечебных доз РЭПО, согласно данным большинства авторов [7, 28], происходит незначительное (не более чем в 2 раза) повышение уровня ЭПО крови. Одновременно наблюдается значительное повышение уровня гемоглобина и гематокрита [20, 28].

Нами установлено статистически достоверное снижение уровня эндогенного ЭПО при длительном введении экзогенного РЭПО, одновременно отмечается улучшение показателей красной крови. Видимо, такая ситуация отражает подавление экзогенным гормоном (РЭПО) продукции эндогенного ЭПО. Отсюда следует, что отмена данного препарата требует осторожности во избежание возможного "синдрома отмены".

Что касается воздействия РЭПО на иммунные показатели организма, то литературные данные в этой области скудны, а иногда и противоречивы. Более того, практически отсутствуют сведения о реакции иммунной системы на длительное применение РЭПО. Опыт кратковременного лечения больных с ХПН показал [22], что РЭПО вызывает понижение числа Т- и В-лимфоцитов (в последнем случае обратно). Это может свидетельствовать о некоторой кратковременной супрессии иммунитета в начальном периоде применения препарата.

Длительное применение РЭПО, согласно нашим результатам, не ведет к уменьшению числа Т- и В-лимфоцитов. Мы наблюдали сильное повышение отношения теофиллин-резистентных/теофиллин-чувствительных Т-лимфоцитов, которое превышает не только значения, характерные для больных с ХПН, но и

нормальный уровень. Возможно, что исследованный показатель в большей степени связан с системами эритропоэза, нежели это предполагалось ранее. Описанное изменение, очевидно, показывает повышение резистентности популяции Т-лимфоцитов к теофиллину, вероятно, за счет сдвигов в рецепторном компартменте клеток. Итак, длительное применение РЭПО не угнетает защитных систем организма больных с ХПН.

*Поступила 15.01.96*

**ՄԱՐԳԿԱՅԻՆ ՌԵԿՈՄԲԻՆԱՆՏ ԷՐԻԹՐՈՊՈՒԵՏԻՆԻ ԱՉԳԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ԵՐԻԿԱՄԱՅԻՆ ԽՐՈՆԻԿԱԿԱՆ ԱՆՔԱՎԱՐԱՐՈՒԹՅՈՒՆ ՈՒՆԵՑՈՂ ՀԻՎԱՆԳՆԵՐԻ ԻՍՈՒՆ ԿԱՐԳԱՎԻՃԱԿԻ ՎՐԱ**

**ՄԱՐԳԿԱՅԻՆ ՌԵԿՈՄԲԻՆԱՆՏ ԷՐԻԹՐՈՊՈՒԵՏԻՆՈՎ ԵՐԿԱՐԱՏԵՎ ԲՈՒԺՎՈՂ ԾՐԱԳՐԱՅԻՆ ՀԵՄՈԳԻԱԼԻՉԻ ԵՆԹԱՐԿՎՈՂ ՀԻՎԱՆԳՆԵՐԻ ԻՍՈՒՆ ՀԱՄԱԿԱՐԳԸ ԵՎ ԵՐԻԿԱՄԱՅԻՆ ՍԱԿԱՎԱՐՅՈՒՆՈՒՆՈՒԹՅՈՒՆ**

**Ա.Ռ.Մելիքյանյան, Լ.Ա.Կժոյան, Ա.Ս.Բաբլոյան**

Հետազոտվել են խրոնիկական գրմերուլոնեֆրիտի հետևանքով առաջացած երիկամային խրոնիկական անբավարարություն ունեցող հիվանդների արյան շիճուկի խմունքանակային և կենսաքիմիական ցուցանիշները:

Ռ-ադիոխմունքային մեթոդով որոշվել է շիճուկի EPO, արյան ֆերրիտինի քանակությունը և շիճուկային Fe պարունակությունը:

Բոլոր հիվանդներն էլ հեմոդիալիզի յուրաքանչյուր սեսանսի վերջում շաբաթական 3 անգամ ստացել են ներերակային Rh-EPO: Rh-EPO շաբաթական քանակությունը կազմել է 150-200 IU /1 կգ/ շաբաթ:

Ցույց է տրված, որ մեկ տարի Rh-EPO բուժվող հիվանդների արյան շիճուկի EPO մակարդակը զգալիորեն իջած է: Բոլոր հիվանդների Hb և Hf զգալիորեն բարձրացած է:

Հայտնաբերվել է Թ-զգայուն և Թ-կայուն T-քլիջների հարաբերության զգալի բարձրացում նորմալ ցուցանիշների և մինչ բուժումը եղած տվյալների համեմատությամբ: Մյուս խմունքանակային ցուցանիշները անփոփոխ են:

Այսպիսով եզրակացություն է արվում այն մասին, որ երիկամային անբավարարությամբ տառապող հիվանդների կողմից Rh-EPO երկարատև օգտագործումը հավանաբար կարող է ճնշել էնդոգեն EPO առաջացումը:

Rh-EPO երկարատև բուժումը չի բերում հիվանդների իմուն համակարգի հետագա ճնշման:

Rh-EPO հավանաբար ազդում է լիմֆոցիտների ռեցեստորների վրա և բարձրացնում նրանց զգայունությունը թեոֆիլինի նկատմամբ:

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

**RENAL ANEMIA AND IMMUNE SYSTEM IN PATIENTS ON CHRONIC HEMODIALYSIS TREATED BY RECOMBINANT HUMAN ERYTHROPOIETIN**

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

Patients with chronic renal failure (CRF) due to chronic glomerulonephritis (GN) on chronic hemodialysis (CH) were included into the study.

The standard immunological and biochemical parameters were investigated. EPO serum level was measured by radioimmune assay (125-EPO COATRIA). Iron status was monitored by Fe plasma level and Ferritin serum level.

All patients were treated by Recombinant Human Erythropoietin (Eprex)(RhEPO) during one year. RhEPO was given i.v. three times a week at the end of hemodialysis session. Average weekly dose was 150-200 IU/kg/week.

It was shown that EPO serum level was significantly decreased in all patients after a year of RhEPO treatment. Simultaneously, hematocrit and hemoglobin level in all patients significantly increased. Significant increase of theophylline-sensitive and theophylline-resistant T-cells ratio was detected after 1 year RhEPO treatment in comparison with normal range and patients with GN before treatment. The rest of the immunological indices were not changed.

It is concluded that the long-term intake of RhEPO can probably suppress endogenous EPO production in patients with CRF. It does not affect the immune system in terms of its further suppression.

RhEPO can probably affect the lymphocyte receptors and increase their sensitivity to theophylline.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Меликджанян А.Р., Кцоян Л.А., Баблоян А.С. Медицинская наука Армении, НАН РА, 1996, 1, с. 103.
2. Меньшиков В.В. Лабораторные методы исследования в клинике. М., 1987, с. 268.
3. Anastasiades E.G., Howardt D., Howardt J. Nephrol.Dial. Transplant., 1993, 8, 846.
4. Barany P., Ferran J., Codoy C. Clin.Nephrol., 1992, 37, 90.
5. Bestard J., Casco T.J., Mery A. Nephrol. Dial. Transplant., 1991, 6, 820.
6. Bommer J., Alexiou I., Eifert J., Ritz E. Dial. Transplant., 1987, 2, 238.
7. Chandra M., Clemons G.K., McViear M. Am. J. Kidney Dis., 1988, 12, 208.
8. Classock R.J. Kidney Int., 1983, 24, 194.
9. Eschbach J.W., Adamson J.W. Am. J. Kidney Dis., 1988, 11, 203.
10. Eschbach J.W., Adamson J.W. Kidney Int., 1985, 28, 1.
11. Eschbach J.W. Clinical Haematology, Boston, Martinus Nijhoff, 1983, 630.
12. Ferec G., Bourbigot B., Deroff P., Salenm J.P. Transplant. Proc., 1986, 18, 1308.
13. Eschbach J.W., Egrie J.C., Downing M.R. N. Engl. J. Med., 1987, 316, 73.
14. Eschbach J.W., Mladenovic J., Gareia J.F., Adamson J.W. J.Clin. Invest., 1984, 74, 434.
15. Fried W. Int. J. Artif. Organs, 1980, 3, 62.
16. Fisher J.W., Nelson P.K., Beckman B. Renal Endocrinology. Baltimore, Williams and Wilkins, 1983, 142.
17. Fried W., Barone-Verelas J., Morley C. Blood Cells, 1984, 10, 287.
18. Fisher J.W. Nephron, 1980, 25, 53.
19. Garcia J.F., Eble S.N., Hollander L. J. Lab.Clin. Med., 1982, 99, 624.
20. Koch K.M., Pathyna W.D., Shaldon S. Nephron, 1984, 12, 405.
21. Paganini E., Thomas T., Fouad F. Kidney Int., 1988, 33, 204.
22. Pfaffl W., Gross H.-J., Neumeier D., Nattermann U., Garland H.-J. Contr. Nephrol., 1988, 66, 195.
23. Radtke H.W., Frei U., Erbes P.M. Kidney Int., 1980, 17, 382.
24. Stivelman J., Van Wyck D., Kirlin L., Ogden D. Kidney Int., 1988, 33, 239.
25. Strickland I.D., Chaput de Santonge D.D., Boulton F.E. Clin. Nephrol., 1977, 7, 55.
26. Van Wyck D., Stivelman J., Rutz J. Kidney Int., 1989, 35, 712.
27. Winearls C.C., Oliver D.O., Pippard M.J., Reid C., Downing M.R., Gotes P.M. Lancet ii, 1986, 1175.
28. Zappacosta A.R., Caro J., Erslev A.J. Am. J. Med., 1982, 72, 53.
29. Zingraff J., Drueke T., Marie P. Arch. Intern. Med., 1988, 138, 1650