

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЯ ПОВРЕЖДЕНИЯ НЕЙТРОФИЛОВ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ГЕПАТИТОМ С С ЦЕЛЬЮ ПРОГНОЗА ИНТЕРФЕРОН-РИБАВИРИНДУЦИРОВАННОЙ НЕЙТРОПЕНИИ

Д. В. Донцов, Ю. М. Амбалов

Ростовский государственный медицинский университет

Хронический гепатит С (ХГС), являясь одним из наиболее распространенных инфекционных заболеваний печени, характеризуется выраженной склонностью к развитию цирроза и рака печени [5].

Применение комбинированной противовирусной терапии (КПТ) препаратами интерферона альфа-2b (ИФН α) и рибавирина позволяет добиться у больных ХГС стойкого вирусологического ответа [2, 12, 13]. Однако у некоторых пациентов на фоне противовирусной терапии отмечается снижение количества нейтрофилов и угнетение их фагоцитарной активности [6, 8]. Выраженная интерферон-рибавирининдуцированная нейтропения требует снижения дозы или полной отмены применяемых препаратов [1]. Между тем наиболее важным условием достижения стойкого вирусологического ответа является сохранение терапевтической дозы КПТ на максимально высоком уровне [4]. Схемы лечения уже развившегося нейтропенического синдрома у больных ХГС требуют существенных материальных затрат, поэтому разработка доступных методов, направленных на раннее выявление и предупреждение развития нейтропении у данной категории лиц, представляется весьма актуальной.

Цель исследования: изучить у больных хроническим гепатитом С, получающих комбинированную противовирусную терапию, роль апоптоза нейтрофилов в развитии интерферон-рибавирининдуцированной нейтропении и на основании полученных данных разработать способ ее прогноза.

Материал и методы. Для решения поставленной задачи определяли показатель повреждения нейтрофилов (ППН) по методике, описанной Л. Б. Юшкевичем с соавт. [11]. Тест заключается в оценке амебиоидной активности нейтрофилов крови, которую рассматривают как начальную стадию их апоптоза, при этом учитывается нарушение зернистости цитоплазмы, мелкая фрагментация и расплывчатость ядер, образование или распад псевдоподий.

Постановка теста ППН у больных ХГС осуществлялась следующим образом. В микропипетку набирали кровь (0,08 мл) из пальца, вносили в пробирку, содержащую 0,02 мл 5 %-ного водного раствора цитрата натрия, добавляли 0,02 мл водного раствора индуктора апоптоза нейтрофилов (ИАН). В качестве ИАН использовали препараты, применяемые у больных

ХГС в качестве КПТ: 80 мг (1/5 разовой дозы) Ребетол и 0,6 млн МЕ (1/5 суточной дозы) Альтевира, введенные в 1,0 л 0,9 % раствора натрия хлорида. Такое соотношение компонентов ИАН выбрано с учетом фармакокинетики и терапевтических доз рибавирина и ИФН α [9]. Одновременно проводили контрольный тест, заключающийся в том, что к 0,08 мл крови того же пациента добавлялось 0,04 мл 5 %-ного раствора цитрата натрия без ИАН. Опытная и контрольная пробы помещались в термостат на 2 часа при температуре 37 °С, затем из каждой порции крови готовились мазки с окраской по Романовскому-Гимза, в каждом мазке сосчитывалось 100 нейтрофилов, учитывался процент поврежденных клеток и рассчитывался ППН.

Определение ППН было выполнено у 125 больных ХГС (90 женщин, 35 мужчин). Критериями включения пациентов в исследование явились: 1) наличие в крови суммарных antiHCV; 2) положительная детекция РНК HCV в крови; 3) отсутствие ранее проводимой терапии препаратами рибавирина и ИФН α ; 4) отсутствие тяжелых сопутствующих соматических заболеваний; 5) отсутствие декомпенсации заболевания с развитием цирроза печени. Больные были равнозначны по своим исходным клинико-лабораторным данным. Генотипирование HCV осуществляли методом праймер-специфической ПЦР с использованием тест-систем «Амплиценс HCV генотип» (Интерлабсервис, Россия). Генотип 1 β HCV регистрировался в 54,4 % случаев, 3а – в 25,6 %, 2а – в 16,8 %. У 4 больных генотип HCV не был идентифицирован. Количество РНК HCV < 3 $\times 10^5$ МЕ/мл наблюдалось у 24,0 % пациентов, 3–6 $\times 10^5$ МЕ/мл – у 60,8 % и > 6 $\times 10^5$ МЕ/мл – у 15,2 %. Средний возраст обследованных составил 38,2 $\pm$ 6,4 года, длительность заболевания – 11,7 $\pm$ 4,6 года. Постановка теста ППН проводилась у больных ХГС перед началом противовирусной терапии.

Статистическая обработка данных была проведена пакетом Microsoft Excel, о достоверности отличий учитываемых показателей судили по величине t-критерия Стьюдента. Корреляционный анализ проводили путем определения коэффициента корреляции Спирмена.

Результаты и обсуждение. Среднее значение ППН у исследуемых пациентов составило 0,11 $\pm$ 0,006. У 15,2 % (n = 19) всех больных ППН оказался достоверно выше (p < 0,001), чем у остальных, 84,8 % (n = 106) – 0,28 $\pm$ 0,01 и 0,08 $\pm$ 0,002 соответственно. Среди пациентов, имевших ППН 0,11 $\pm$ 0,006, генотип 1 β HCV отмечался у 11, 3а – у 5 и 2а – у 3, уровень вирусной нагрузки у 5 пациентов составил < 3 $\times 10^5$ МЕ/мл, у 11 – 3–6 $\times 10^5$ МЕ/мл и у 3 – > 6 $\times 10^5$ МЕ/мл. Таким образом, мы выделили категорию больных с достоверно более высоким значением ППН, которые, однако, не имели

Амбалов Юрий Михайлович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой инфекционных болезней Ростовского государственного медицинского университета, тел.: (8632)329209, 89185582578.

Донцов Денис Владимирович, кандидат медицинских наук, докторант кафедры инфекционных болезней Ростовского государственного медицинского университета, тел.: (8632)329209, 89885807816, e-mail: d_dontcov@mail.ru.

сколько-нибудь значимых отличий по генотипу HCV и количественному содержанию РНК вируса в крови от всей группы в целом. После определения ППН всем больным проводилась КПП по схеме: «Альтевир» внутримышечно 3 млн МЕ 3 раза в неделю и «Ребетол» перорально 800–1200 мг в сутки в течение 24–72 недель – в зависимости от генотипа HCV, уровня вирусной нагрузки, а также частоты появления быстрого и раннего вирусологического ответов.

В процессе лечения минимум 1 раз в неделю определяли уровень нейтрофилов в крови с помощью гематологического анализатора «МЕК-8222» (Nihon Kohden, Япония). Среднее значение абсолютного числа нейтрофилов (АЧН) у больных ХГС перед курсом КПП составило $3,6 \pm 0,09 \times 10^9/L$. Динамическое наблюдение за пациентами в течение всего периода КПП показало, что статистически значимое снижение АЧН отмечалось на 8–10-й неделях лечения, достигнув в среднем $1,9 \pm 0,05 \times 10^9/L$ ($p < 0,001$).

При корреляционном анализе установлено наличие обратной связи между значением ППН и уровнем АЧН на 8–10-й неделях КПП ($r = -0,65$; $p < 0,001$). У тех пациентов, у которых ППН составил $0,08 \pm 0,002$, минимальное количество нейтрофилов оставалось в пределах $2,2 \pm 0,04 \times 10^9/L$ и не требовало коррекции лечения. Значительно более выраженная нейтропения отмечалась у больных ХГС, которые в начале исследования имели среднее значение ППН $0,28 \pm 0,01$. Минимальный уровень нейтрофилов в этой группе составил в среднем $0,64 \pm 0,04 \times 10^9/L$, что оказалось достоверно ниже ($p < 0,01$), чем у остальных пациентов, причем у двух из них АЧН к 8–10-й неделе лечения снизилось до $0,45 \times 10^9/L$, что привело к вынужденной отмене КПП.

Следует отметить, что у 2 пациентов, несмотря на ППН, равный 0,24, минимальный уровень нейтрофилов в крови оставался в пределах нормы, т. е. выше $0,75 \times 10^9/L$ [1]. Этим больным параллельно с антивирусным лечением каждые 3 дня проводилось внутривенное введение 20 мл гемолизата аутокрови (ГАК) по методу А. В. Усаткина [10]. Отсутствие у этих больных выраженной нейтропии, возможно, свидетельствует о стимулирующем влиянии ГАК на клетки миелоидного ряда. Выявленный факт представляется весьма интересным с клинической точки зрения и требует дальнейшего исследования.

Наличие обратной корреляционной связи между ППН и АЧН позволило разработать способ ориентировочного прогноза развития интерферон-рибавирининдуцированной нейтропии у больных ХГС, основанного на постановке теста ППН (Способ прогноза развития нейтропии, вызванной комбинированной противовирусной терапией, у больных хроническим гепатитом С. Заявка на изобретение № 2011102090, приоритет от 20.01.2011.). Было установлено, что при выявлении у пациентов величины ППН $\geq 0,24$ с вероятностью более 84 % можно судить о высоком риске развития нейтропии у данной категории лиц при проведении им в дальнейшем КПП.

Как известно, успех современного лечения ХГС в значительной степени лимитируется рядом факторов, к которым относятся генотип HCV, уровень вирусной нагрузки, возраст больного в период лечения, наличие внепеченочных поражений, темп прогрессирования фиброза печени, наличие вирусного стеатоза и др. [3]. Неблагоприятное фоновое состояние больных ХГС уменьшает результативность лечения, способствуя формированию нежелательных эффектов терапии, в том числе и развитию интерферон-рибавирининдуцированной нейтропии. В настоящее

время большое внимание уделяется такому феномену как апоптоз нейтрофилов, который закодирован в геноме клетки и вызывает серию морфологических изменений, приводящих к ее гибели [7]. Некоторые физические и химические факторы, обладая в малых количествах цитотоксическим эффектом, способны инициировать апоптоз, однако роль этого явления в формировании нейтропии у больных ХГС, получающих КПП, практически не изучена.

Выводы

1. Индукция апоптоза нейтрофилов препаратами рибавирина и ИФН α имеет важное патогенетическое значение в развитии нейтропии у сенсibilизированных к ним больных ХГС.
2. Значение ППН $\geq 0,24$ у больных ХГС свидетельствует о высоком риске развития интерферон-рибавирининдуцированной нейтропии при проведении комбинированной противовирусной терапии.

Литература

1. Авдеева, М. Г. Вирусные гепатиты: стратегия и тактика терапии, организация медицинской помощи: пособие для врачей / М. Г. Авдеева, В. Н. Городин, Е. Н. Редько, С. Н. Стриханов [и др.] – Краснодар : ООО «Качество», 2009. – С. 112–113.
2. Баранова, И. П. Противовирусная эффективность различных форм интерферона в терапии хронического гепатита С / И. П. Баранова, Л. Н. Афтаева, Л. И. Краснова, С. Б. Рыбалкин // Инфекционные болезни. – 2010. – Т. 8, № 2. – С. 13–16.
3. Блохина, Н. П. Особенности фармакологической динамики и кинетики пегилированного альфа-интерферона «Пегасис»: новые возможности терапии хронического гепатита С / Н. П. Блохина, И. Г. Никитин // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2002. – Т. 12, № 6. – С. 17–24.
4. Исаков, В. А. Современная терапия хронического вирусного гепатита С: Какая длительность комбинированной терапии оптимальна и почему? / В. А. Исаков // Клиническая гастроэнтерология и гепатология. – 2009. – Т. 2, № 1. – С. 9–12.
5. Мамаев, С. Н. Динамика уровней цитокинов сыворотки крови при противовирусной терапии / С. Н. Мамаев, Ш. Р. Рамазанов, А. О. Буеверов, М. В. Маевская [и др.] // Клинические перспективы гастроэнтерологии, гепатологии. – 2008. – № 2. – С. 28–31.
6. Мангушева, Я. Р. Влияние альфа-интерферонотерапии на фагоцитарные механизмы защиты при хроническом гепатите С / Я. Р. Мангушева, В. Х. Фазылов // Инфекционные болезни. – 2009. – Т. 7, № 1. – С. 26–32.
7. Маянский, Н. А. Внутренний путь апоптоза нейтрофилов и механизмы антиапоптозного эффекта гранулоцитарного колониестимулирующего фактора / Н. А. Маянский // Иммунология. – 2004. – Т. 25, № 6. – С. 329–335.
8. Мельник, Г. В. Опыт комбинированной интерферонотерапии хронического гепатита С / Г. В. Мельник, В. И. Плятс, В. Н. Городин, Г. А. Еремина // Инфекционные болезни. – 2007. – Т. 5, № 2. – С. 75–78.
9. Справочник ВИДАЛЬ Лекарственные препараты в России : справочник. – М. : АстраФармСервис, 2010. – 1728 с.

10. Усаткин, А. В. Клинико-патогенетическая оценка лечебной эффективности гемолизата аутокрови у больных рожей : автореф. дис. ... канд. мед. наук / А. В. Усаткин. – Ростов н/Д, 2002. – 26 с.
11. Юшкевич, Л. Б. Современные методы клинико-лабораторных исследований в диагностике профессиональных заболеваний / Л. Б. Юшкевич, Н. А. Шевырева. – М., 1973. – С. 53–56.
12. Cheong, H. R. Clinical efficacy and safety of the combination therapy of peginterferon alpha and ribavirin in cirrhotic patients with HCV infection / H. R. Cheong, H. Y. Woo, J. Heo, K. T. Yoon [et al.] // Korean J. Hepatol. – 2010. – Vol. 16, № 1. – P. 38–48.
13. Wong, J.B. Estimating the cost-effectiveness of ribavirin and pegylated interferon alfa-2b for chronic hepatitis / J. B. Wong // Hepatology. – 2000. – Vol. 32. – P. 425A.

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЯ
ПОВРЕЖДЕНИЯ НЕЙТРОФИЛОВ
У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ГЕПАТИТОМ С
С ЦЕЛЬЮ ПРОГНОЗА ИНТЕРФЕРОН-
РИБАВИРИНДУЦИРОВАННОЙ НЕЙТРОПЕНИИ**
Д. В. ДОНЦОВ, Ю. М. АМБАЛОВ

Изучена роль апоптоза нейтрофилов в патогенезе интерферон-рибавирина индуцированной нейтропении у больных хроническим гепатитом С на основе определения показателя повреждаемости нейтрофилов у 125 больных. Предложен новый способ прогноза нейтропении in vitro у больных хроническим гепатитом С, получающих комбинированную противовирусную терапию.

Ключевые слова: хронический гепатит С, противовирусная терапия, нейтропения, прогноз

**NEUTROPHILS DAMAGE DETECTION
IN PATIENTS WITH CHRONIC HEPATITIS C
IN PREDICTION OF INTERFERON+RIBAVIRIN
INDUCED NEUTROPENIA**
DONTSOV D. V., AMBALOV Y. M.

The aim was to study the role of neutrophils apoptosis in the pathogenesis of interferon+ribavirin induced neutropenia in patients with chronic hepatitis C using indicator of neutrophils damage in 125 patients. A new in vitro method for neutropenia forecasting in patients with chronic hepatitis C treated with combination of interferon and ribavirin has been presented.

Key words: chronic hepatitis C, antiviral therapy, neutropenia, forecast

© Бурдули Н. М., Пилиева Н. Г., 2012
УДК 615.849.19: 616.366-002

**ВЛИЯНИЕ ВНУТРИВЕННОЙ ЛАЗЕРНОЙ ТЕРАПИИ
НА СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ЭРИТРОЦИТОВ
У БОЛЬНЫХ ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИЕЙ**

Н. М. Бурдули, Н. Г. Пилиева
Северо-Осетинская государственная медицинская академия

Важную роль в нарушении реологических свойств крови при развитии пневмонии играют структурно-функциональные свойства эритроцитов. Изменения их деформируемости и агрегационной способности, возникающие в условиях патологии, мешают взаимодействию между клетками, приводят к выраженным расстройствам кровотока. Ригидные эритроциты ввиду неплотного соприкосновения со стенкой сосуда не могут полностью участвовать в газообмене, продвижение их по капиллярам замедлено, что способствует образованию микротромбов [1, 2, 9]. В результате происходит нарушение микроциркуляции, которое закономерно сопровождается метаболи-

ческими сдвигами и ацидозом, еще больше увеличивающим жесткость эритроцитов, что приводит к каскадному формированию микротромбов в системе легочной артерии, блокаде кровообращения в очаге воспаления, к затяжному течению пневмонии и улучшению условий для размножения бактерий [2, 3, 6].

Сложный механизм микроциркуляторных и гемо-реологических расстройств, выраженный динамизм процессов на уровне терминального сосудистого русла создают трудности для медикаментозной коррекции. В связи с этим целью настоящей работы явилось изучение влияния низкоинтенсивного лазерного облучения крови (ВЛОК) на деформабельность и агрегационную способность эритроцитов у больных внебольничной пневмонией (ВП).

Материал и методы. Обследовано 140 больных внебольничной пневмонией в возрасте от 17 до 62 лет (средний возраст $39,5 \pm 8,4$ года), из них 96 человек (68,6 %) – мужчины, 44 (31,4 %) – женщины. Диагностика внебольничной пневмонии базировалась на традиционной схеме [8]. В исследование не включались пациенты с пневмониями крайне тяжелого течения, осложненными деструкцией легочной тка-

Бурдули Николай Михайлович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой терапии с общей врачебной практикой (семейной медициной) ФПДО Северо-Осетинской государственной медицинской академии, тел. (8672)565858, e-mail: burduli@yandex.ru.

Пилиева Нана Гурамовна, кандидат медицинских наук, ассистент кафедры терапии с общей врачебной практикой (семейной медициной) ФПДО Северо-Осетинской государственной медицинской академии, тел. (8672)690579, e-mail: habalati@pilieva.ru.