

ПРОГНОЗИРОВАНИЕ АДЕКВАТНОСТИ АНТИАНЕМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ У БОЛЬНЫХ НА ПЕРИТОНЕАЛЬНОМ ДИАЛИЗЕ

О.Н. Ветчинникова¹, Л.И. Юновидова¹, И.А. Василенко², А.В. Ватазин¹

¹ГУ МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского

²НИИ ревматологии РАМН

Проведен анализ традиционных гематологических показателей и морфофункционального состояния эритроцитов методом прижизненной компьютерной фазовой морфометрии у больных с терминальной стадией хронической почечной недостаточности, получающих заместительную терапию постоянным амбулаторным перитонеальным диализом. Анализ проводился на этапах антианемической терапии препаратами рекомбинантного человеческого эритропоэтина. Динамическое определение морфофункционального состояния эритроцитов на этапах коррекции анемии позволяет прогнозировать развитие относительной резистентности терапии рекомбинантным человеческим эритропоэтином в более ранние сроки, чем традиционные гематологические показатели, а также в целом оценивать эффективность этой терапии.

Ключевые слова: постоянный амбулаторный перитонеальный диализ, рекомбинантный человеческий эритропоэтин, морфофункциональное состояние эритроцитов.

PREDICTION OF AN ADEQUACY OF ANTIANEMIC THERAPY IN PATIENTS ON PERITONEAL DIALYSIS

O.N. Vetchinnikova¹, L.I. Yunovidova¹, I.A. Vasilenko², A.V. Vatazin¹

¹M.F. Vladimirsky Moscow Regional Clinical and Research Institute (MONIKI)

²Research Institute of Rheumatology of RAMS

Analysis of traditional hematologic indices and morphofunctional erythrocyte condition was performed using computerized phase morphometry in patients with the end stage renal disease (ESRD) who received substitution therapy of the continuous ambulatory peritoneal dialysis. Analysis was carried out at the stages of antianemic therapy with preparations of recombinant human erythropoietin.

Key words: continuous ambulatory peritoneal dialysis, recombinant human erythropoietin, morphofunctional condition of erythrocytes.

Анемия, являясь частым осложнением хронической почечной недостаточности (ХПН) в терминальной стадии, имеет множество неблагоприятных последствий, ухудшающих течение и прогноз основного заболевания, увеличивающих летальность, частоту и сроки госпитализаций. Разработка и внедрение в клиническую практику препаратов рекомбинантного человеческого эритропоэтина (рчЭПО) существенно повлияло на тактику лечения анемического синдрома и, соответственно, на качество медико-социальной реабилитации и подготовки к трансплантации почки больных с ХПН [7, 12, 13]. Одновременно перед клиницистами возникла новая задача – необходимость прогнозирования адекватности, достижения максимальной эффективности и минимизации неблагоприятных побочных явлений [10, 11, 14].

Исследования последних лет свидетельствуют о том, что нефрогенная анемия протекает с различными изменениями морфологии и функциональной активности циркулирующих эритроцитов [3, 7]. Такое же утверждение справедливо и при проведении коррекции анемии препаратами рчЭПО [1, 4]. Определение морфологических типов эритроцитов и их размерных параметров у больных ХПН на этапах рчЭПО-терапии имеет значение не только теоретическое – для понимания патогенеза расстройств в системе эритрона, но и практическое – для прогнозирования и оценки эффективности антианемического лечения наряду с другими известными параметрами [9].

Настоящее исследование посвящено определению значения морфофункционального состояния эритроцитов по данным КФМ в прогнозировании адекват-

ности лечения анемии препаратами рчЭПО у больных с терминальной ХПН, получающих заместительную терапию постоянным амбулаторным перитонеальным диализом (ПАПД).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Под наблюдением находился 51 больной с терминальной стадией ХПН (26 женщин и 25 мужчин) в возрасте от 16 до 65 лет (в среднем $42,1 \pm 12,1$ лет). Все они получали заместительную терапию ПАПД, которая была у них единственным методом лечения. Длительность ПАПД составляла от 6 до 84 месяцев (в среднем $23,4 \pm 15,8$), недельный клиренс мочевины (Kt/V) – от 1,7 до 2,4 (в среднем $2,0 \pm 0,2$).

Заместительная противоанемическая терапия проводилась препаратом эпоэтин альфа (ЭПРЕКС фирмы «Янссен-Силаг») в стартовой дозе $86,0 \pm 8,1$ ЕД/кг в неделю, поддерживающей – $50,6 \pm 6,3 - 35,3 \pm 4,9$ ЕД/кг в неделю. Все больные получали препараты железа в пероральной форме, суточная доза – 100-200 мг элементарного железа. Уровень ферритина в сыворотке крови колебался от 208 до 630 мкг/л, уровень С-реактивного белка не превышал 20 мг/л.

Исследования проведены на стабилизированной гепарином периферической крови. Традиционные гематологические показатели определялись на анализаторе «Controvers-digicell-800». Построение графика (эритрогистограмма) распределения клеток в единице объема крови в зависимости от размеров выполнено методом импедансного разведения. Структурно-функциональные особенности эритроцитов изучены методом прижизненной компьютерной фазовой морфометрии (КФМ) с использованием фазово-интерференционного сканирующего микроскопа «Цитоскан» [2, 5, 6]. Индекс трансформации рассчитывали по формуле: отношение абсолютных значений всех трансформированных эритроцитов к абсолютному количеству дискоцитов. Повторные исследования в фазе коррекции рчЭПО-терапии проводили через 2-4 недели. Исследования выполнены также у 15 практически здоровых лиц (9 мужчин и 6 женщин) в возрасте от 22 до 47 лет. Статистическая обработка результатов включала подсчет средних арифметических величин и ошибок средних. Различия между группами сравнения рассчитывали по критериям Вилкоксона – Манна – Уитни, Колмагорова – Смирнова или Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

До начала рчЭПО-терапии у всех больных были зарегистрированы сниженные уровни гемоглобина –

от 66 до 84 г/л, гематокрита – от 19,1 до 25,5% и численности эритроцитов – от $1,98$ до $2,93 \times 10^{12}$ /л. Средний объем эритроцитов (MCV) и среднее содержание гемоглобина в эритроците (MCH) находились в пределах должных значений.

В зависимости от динамики традиционных гематологических показателей (гемоглобин, гематокрит и количество эритроцитов) в фазе коррекции рчЭПО-терапии были выделены две группы больных: 1-ю группу составили 39 пациентов, у которых регистрировалось устойчивое закономерное повышение гемоглобина, гематокрита и численности эритроцитов до нижней границы целевого уровня к концу второго – началу третьего месяца; 2-ю – 12 больных, у которых на протяжении первых двух месяцев лечения также отмечалась устойчивая тенденция к увеличению уровня гемоглобина, показателя гематокрита и количества эритроцитов, однако к концу второго – началу третьего месяца, несмотря на увеличение дозы эпекса до $106,9 \pm 9,7$ МЕ/кг в неделю, эти показатели не достигли нижней границы целевого значения.

Динамика традиционных гематологических показателей и эритроцитарных индексов в фазе коррекции рчЭПО-терапии у больных обеих групп представлена в табл. 1.

Динамическое исследование гипохромных эритроцитов у наблюдавшихся больных выявило следующее. До начала рчЭПО-терапии содержание гипохромных эритроцитов колебалось от 1,9 до 5,7%, и было равнозначным в обеих группах больных – соответственно $2,7 \pm 1,5$ и $2,5 \pm 1,3\%$. В течение первого месяца рчЭПО-терапии численность гипохромных эритроцитов колебалась незначительно. К концу второго месяца у больных 2-й группы количество гипохромных эритроцитов увеличилось с исходного $2,5 \pm 0,4$ до $7,8 \pm 0,6\%$ ($p=0,01$), в то время как у больных 1-й группы оно практически не изменилось – $2,7 \pm 0,5$ и $2,2 \pm 0,3\%$. Введение больным 2-й группы 300-500 мг венофера в течение 5-10 дней привело к снижению количества гипохромных эритроцитов и нарастанию традиционных гематологических показателей до уровня, который отмечен в 1-й группе (рис. 1).

Мы сопоставили динамику традиционных гематологических показателей и количества гипохромных эритроцитов с данными эритрогистографии и КФМ.

Эритрогистограммы, типичные для больных обеих групп, представлены на рис. 2.

В первый месяц рчЭПО-терапии у больных 1-й группы отмечено расширение основания эритрогистограммы за счет ее сдвига вправо, указывающего на увеличение количества макроцитов (рис. 2,а). Начиная с 3-4-го месяцев рчЭПО-терапии, конфигурация эритрогистограмм стабилизировалась: она становилась более узкой и высокой (увеличение численности нормоцитов) за счет уменьшения сдвига влево

Таблица 1

Динамика традиционных гематологических показателей и эритроцитарных индексов у больных ТПН на ПАПД в фазе коррекции рчЭПО-терапии

Показатель	Группа больных	До лечения	На фоне рчЭПО-терапии			
			0,5 мес.	1 мес.	2 мес.	3 мес.
Гемоглобин, г/л	1-я	75,4±1,2	80,3±1,4	86,6±1,5	95,6±1,6	108,6±1,2
	2-я	76,1±1,1	80,7±1,3	85,2±1,6	90,1±1,7*	92,8±1,3*
Гематокрит, %	1-я	22,2±1,3	23,7±1,3	25,8±1,4	29,1±1,4	31,3±1,3
	2-я	22,7±1,3	23,7±1,3	25,5±1,3	27,4±1,3*	28,1±1,5*
Эритроциты, 10 ¹² /л	1-я	2,4±0,3	2,7±0,2	3,0±0,4	3,3±0,4	3,5±0,3
	2-я	2,3±0,1	2,6±0,2	2,9±0,3	3,1±0,3*	3,1±0,3*
Средний объем эритроцитов (MCV), фл	1-я	91,5±1,9	91,2±1,7	91,9±1,5	93,2±1,4	94,0±1,7
	2-я	90,8±1,6	91,1±1,4	91,5±1,6	91,9±1,8	91,1±1,3
Среднее содержание гемоглобина в эритроците (MCH), пг	1-я	30,7±0,5	30,9±0,7	31,8±0,8	31,5±0,5	32,1±0,3
	2-я	30,3±0,6	31,1±0,5	31,4±0,7	31,6±0,8	31,4±0,5
Ферритин, мкг/л	1-я	342±23	298±17	326±32	274±42	382±39
	2-я	385±36	391±49	317±39	297±34	358±29

* – различия достоверны по отношению к показателям больных 1-й группы (p<0,05).

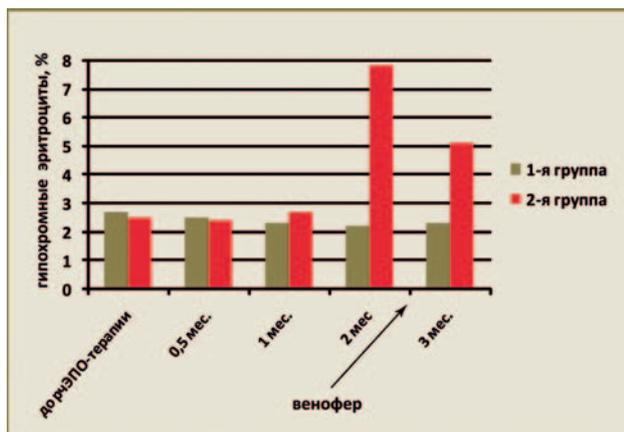


Рис. 1. Динамика количества гипохромных эритроцитов у больных в терминальной стадии ХПН на ПАПД в фазе коррекции рчЭПО-терапии

(в сторону микроцитоза), в то время как небольшой сдвиг вправо (в сторону макроцитоза) сохранялся. У больных 2-й группы динамика формы эритрограмм была иной: через 1 и 2 месяца от начала рчЭПО-терапии регистрировался очень незначительный сдвиг кривой вправо, что свидетельствовало об отсутствии выброса макроцитов в периферическую кровь (рис. 2,б).

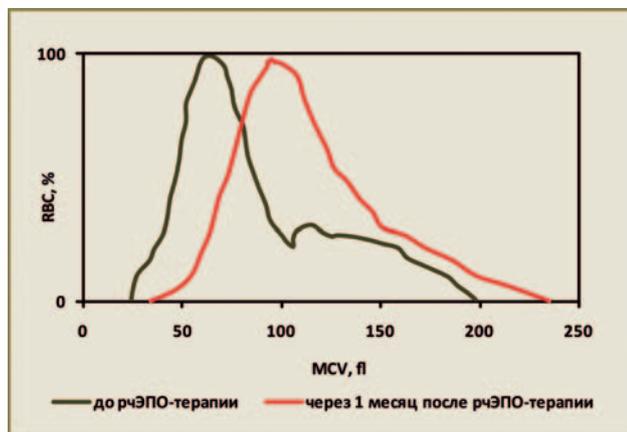
Результаты эритрогистографии совпадали с данными популяционного анализа периферических эритроцитов, проведенного методом прижизненной КФМ. Динамика популяций эритроцитов в зависимо-

сти от их диаметра у больных обеих групп в фазе коррекции рчЭПО-терапии представлена в табл. 2.

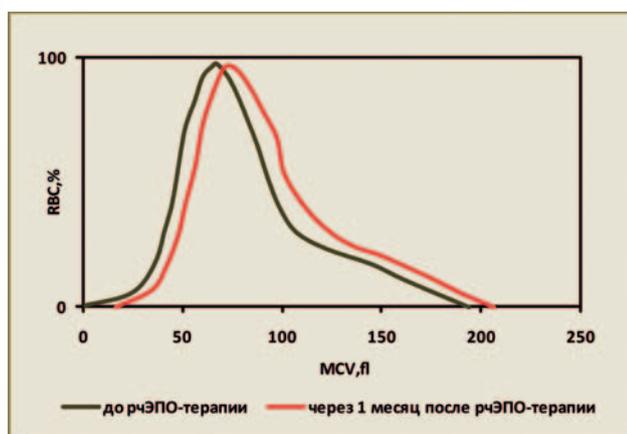
У больных 1-ой группы уже через месяц от начала рчЭПО-терапии отмечалось достоверное увеличение численности макроцитов в среднем в 2 раза за счет уменьшения количества микроцитов. У больных 2-й группы соотношение микро-, макро- и нормоцитов оставалось неизменным на протяжении первых двух месяцев. Назначение этим больным через 2 месяца препаратов железа (венофер) приводило к увеличению численности макроцитов и уменьшению численности микроцитов; соотношение макро-, микро- и нормоцитов в обеих группах больных становилось одинаковыми.

Динамика размерных показателей фазово-интерференционных образцов эритроцитов в стадии рчЭПО-терапии у больных в терминальной стадии ХПН на ПАПД представлена в табл. 3.

До начала рчЭПО-терапии размерные параметры циркулирующих эритроцитов у больных обеих групп имели меньшие значения, чем у здоровых лиц, и были сопоставимы. Начало рчЭПО-терапии сопровождалось увеличением оптико-геометрических показателей эритроцитов у больных 1-й группы, которое регистрировалось уже через месяц. К концу фазы коррекции рчЭПО-терапии средние значения диаметра, периметра, высоты, площади и объема клеток устойчиво достигали величин, соответствующих размерным параметрам эритроцитов периферической крови здоровых лиц. У больных 2-й группы начало



а



б

Рис. 2. Эритрогистограммы до и через месяц рчЭПО-терапии: а – данные больной И. (1-я группа); б – данные больной Р. (2-я группа)

рчЭПО-терапии не вызывало достоверных изменений размерных параметров эритроцитов, и через 2-2,5 месяца они сохранялись практически на исходном уровне.

не. Увеличение оптико-геометрических показателей эритроцитов у этих больных регистрировалось после назначения препаратов железа (венофер).

Соотношение морфологических форм эритроцитов в стадии коррекции рчЭПО-терапии у больных обеих групп представлено в табл. 4.

До начала лечения суммарные количества трансформированных, предгемолитических и патологических клеток превышали количество дискоцитов, что убедительно подтверждалось индексом трансформации, который на порядок превосходил таковой у практически здоровых лиц. Назначение эпрекса приводило к постепенному и практически одинаково выраженному в обеих группах увеличению эффективных в функциональном отношении дискоцитов и уменьшению численности сфероцитов и эхиноцитов. Введение препаратов железа больным 2-й группы и последующее продолжение адекватной рчЭПО-терапии сохраняло достигнутое соотношение морфологических типов эритроцитов.

Применение рчЭПО является патогенетической составляющей лечения анемического синдрома у больных в терминальной стадии ХПН, однако в ряде случаев введение этих препаратов и увеличение их дозы не приводит к желаемому повышению содержания в крови гемоглобина. Наиболее распространенным лимитирующим фактором в коррекции анемии почечного генеза является развитие на фоне лечения препаратами рчЭПО дефицита железа. При этом наиболее часто наблюдается функциональный дефицит железа при сохраняющемся его запасе в организме по показателю ферритина сыворотки крови [7, 8, 9]. Представленные нами данные подтверждают сказанное: у 12 из 51 больного к концу второго – началу третьего месяца рчЭПО-терапии выявлена недостаточная эффективность лечения, на что указывало трехкратное увеличение у них численности гипохромных эритроцитов.

Таблица 2

Динамика распределения эритроцитов по величине их диаметра у больных с терминальной стадией ХПН на ПАПД в фазе коррекции рчЭПО-терапии, %

Показатель	Группы	До лечения	На фоне рчЭПО-терапии			
			0,5 мес.	1 мес.	2 мес.	3 мес.
Нормоциты	1-я	77±3	75±4	73±2	75±3	78±2
	2-я	78±4	77±4	77±3	78±3	76±3
Макроциты	1-я	11±2	16±3	25±3*	23±3*	20±2
	2-я	11±2	10±2	12±3	10±3	16±3
Микроциты	1-я	12±1	9±2	2±1	2±1	2±1
	2-я	11±2	13±2	11±	12±2	8±3

* – различия достоверны по отношению к показателям до лечения (p<0,05).

Таблица 3

Динамика оптико-геометрических показателей эритроцитов у больных с терминальной стадией ХПН на ПАПД в фазе коррекции рЧЭПО-терапии

Показатель	Группа больных	До лечения	На фоне рЧЭПО-терапии			
			0,5 мес.	1 мес.	2 мес.	3 мес.
Диаметр, мкм	1-я	9,1±0,2	9,2±0,3	9,4±0,2*	9,4±0,3*	9,5±0,2*
	2-я	9,1±0,2	9,2±0,3	9,2±0,2	9,0±0,2	9,2±0,2
Периметр, мкм	1-я	26,9±0,3	27,3±0,4	27,8±0,5	28,3±0,3*	28,1±0,3*
	2-я	27,0±0,3	26,9±0,4	27,1±0,5	27,2±0,5	27,3±0,4
Высота, мкм	1-я	1,8±0,1	1,9±0,2	2,0±0,2	2,0±0,1	2,1±0,1*
	2-я	1,8±0,1	1,8±0,2	1,9±0,1	1,8±0,3	2,0±0,1
Площадь, мкм ²	1-я	51,6±1,7	53,9±1,4	55,2±1,5*	55,4±1,9*	56,2±1,6*
	2-я	51,8±1,3	51,6±1,2	51,8±1,4	52,0±1,4	53,9±1,6
Объем, мкм ³	1-я	39,7±2,5	41,1±1,9	42,7±2,3*	43,2±2,4*	43,0±3,4*
	2-я	39,4±2,7	39,7±2,8	39,1±1,8	39,3±1,9	41,2±2,4

* – различия достоверны по отношению к показателям до лечения (p<0,05)

Таблица 4

Динамика морфологических форм эритроцитов у больных с терминальной стадией ХПН на ПАПД в фазе коррекции рЧЭПО-терапии

Показатель	Группа больных	До лечения	На фоне рЧЭПО-терапии			
			0,5 мес.	1 мес.	2 мес.	3 мес.
Дискоциты, %	1-я	45,3±4,6	46,7±3,9	47,9±4,7	50,9±4,1*	51,5±3,9*
	2-я	46,1±3,7	46,7±4,1	47,1±3,7	48,2±4,3	50,1±3,6
Эхиноциты, %	1-я	16,5±2,9	16,9±2,4	17,8±2,5	18,5±2,3	19,0±2,1
	2-я	16,1±3,2	16,4±2,8	17,2±2,4	17,8±3,1	18,4±3,0
Стоматоциты, %	1-я	34,7±5,1	33,3±4,3	31,2±4,7	28,4±4,2	27,2±4,1*
	2-я	34,3±5,3	33,9±4,2	33,2±4,6	31,5±4,2	29,4±4,2
Деструктивные, %	1-я	3,5±0,6	3,1±0,8	3,1±0,4	2,2±0,5*	2,3±0,4*
	2-я	3,5±0,8	3,0±0,6	2,5±0,9	2,5±0,7	2,1±0,8*
Инд. трансформации, ед.	1-я	1,21±0,11	1,14±0,12	1,09±0,11*	0,96±0,10*	0,94±0,09*
	2-я	1,17±0,13	1,14±0,12	1,12±0,10	1,07±0,11	1,0±0,1

* – различия достоверны по отношению к показателям до лечения (p<0,05).

Сопоставление традиционных гематологических показателей (гемоглобин, гематокрит), количества гипохромных эритроцитов, соотношения макро-, микро- и нормоцитов по данным эритрогистографии, а также размерных параметров и морфологических форм фазово-интерференционных образцов эритроцитов, по данным прижизненной КМФ, выявило различную временную динамику этих показателей на начальном этапе антианемической терапии препаратами рЧЭПО. У большинства больных со стабильно нормальной численностью гипохромных эритроцитов, указывающей на отсутствие функционального дефицита железа, нарастание уровня гемоглобина и гематокрита происходило параллельно с нарастанием

макроцитов, снижением микроцитов и увеличением оптико-геометрических показателей эритроцитов. У остальных больных, у которых через два месяца диагностировался функциональный дефицит железа по уровню гипохромных эритроцитов, увеличение уровня гемоглобина и гематокрита в первые несколько недель рЧЭПО-терапии происходило при сохраняющемся соотношении микро-, макро-, нормоцитов и неизменных оптико-геометрических показателей эритроцитов.

Таким образом, динамическое определение морфофункциональных характеристик эритроцитов методом прижизненной КМФ в системе реального времени позволяет прогнозировать недостаточную эффективность рЧЭПО-терапии. Сохраняющееся соотношение

макро-, микро- и нормоцитов через месяц от начала рчЭПО-терапии при условии нормального количества гипохромных эритроцитов и нарастания традиционных гематологических показателей является предиктором формирования относительной резистентности антианемической терапии, связанной с недостатком эндогенного железа. Это наблюдается значительно раньше, так как отсутствие закономерного нарастания уровня гемоглобина и гематокрита и повышение количества гипохромных эритроцитов определяются к концу второго – началу третьего месяца рчЭПО-терапии. Устойчивые же нормализация оптико-геометрических параметров и подавление процессов трансформации эритроцитов объективно свидетельствуют об эффективности и адекватности рчЭПО-терапии. В связи с этим представляется целесообразным включение исследования структурно-функциональных особенностей эритроцитов методом КФМ в общепринятый мониторинг клинических и лабораторных показателей при проведении рчЭПО-терапии у больных ХПН в терминальной стадии, получающих заместительную терапию ПАПД.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бирюкова Л.С., Пурло Н.В., Козинец Г.И. Морфофункциональные свойства эритроцитов у больных в терминальной стадии хронической почечной недостаточности, получающих заместительное лечение программным гемодиализом и эритропоэтином // Нефрол. диализ. 2003. №1. С.69-74.
2. Василенко И.А., Шабалин В.Н., Тychинский В.П. и др. Радиоэлектроника в медицинской диагностике (оценка функции и состояния организма). М., 1995.
3. Ветчинникова О.Н., Василенко И.А., Юновидова Л.И. и др. Состояние системы эритрона у больных с хронической почечной недостаточностью // Нефрол. диализ. 2005. №4. С.448-453.
4. Ермоленко В.М., Иващенко М.А. Уремия и эритропоэтин. М., 2000.
5. Матюхина Т.Г. Исследование эритроцитов методом атомно-силовой микроскопии // Клин. лабор. диагностика. 1999. №6. С.13-16.
6. Тychинский В.П. Микроскопия субволновых структур // Успехи физ. наук. 1996. № 166 (11). С.1219-1229.
7. Румянцев А.Г., Морщакова Е.Ф., Павлов А.Д. Эритропоэтин в диагностике, профилактике и лечении анемий. М., 2003.
8. Шило В.Ю., Хасабов Н.Н. Анемия у больных на диализе: дефицит железа, методы его диагностики и коррекции // Анемия. 2004. №1. С.19-28.
9. Vovv C., Gothot A., Delanaye P. et al. Mature erythrocyte parameters as new markers of functional iron deficiency in haemodialysis: sensitivity and specificity // Nephrol. Dial. Transplant. 2007. V.22. P.1156-1162.
10. Furuland H., Linde T., Ahlmen J. et al. A randomized controlled trial of Hb normalisation with epoetin alfa in predialysis and dialysis patients // Nephrol. Dial. Transplant. 2003. V.18. P.353-361.
11. Macdougall I.C. Individualizing target haemoglobin concentrations – tailoring treatment for renal anaemia // Nephrol. Dial. Transplant. 2001. V.16. P.9-14.
12. Murphey S.W., Foley R.N., Barnett B.J. et al. Comparative hospitalization in HD and CAPD patients in Canada // Kidney Int. 2000. V.57. P.2557-2563.
13. Tong E.M., Nissenson A.R. Erythropoietin and anemia // Semin. Nephrol. 2001. V.21. P.190-203.
14. Valderrabano F. Anemia management in chronic kidney disease patients: an overview of current clinical practice // Nephrol. Dial. Transplant. 2002. V.17 (Suppl. 1). P.13-18.