

**Е.С. Лапина¹, М.М. Батюшин², Р.А. Беловолова³, И.В. Сарвилина⁴,
В.Н. Поганева⁵**

¹Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра внутренних болезней № 1, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

²Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра внутренних болезней № 2, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

³Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, научно-исследовательский институт клинической иммунологии, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

⁴Медицинский центр «Новомедицина», г. Ростов-на-Дону, Россия

⁵Муниципальное бюджетное учреждение Здравоохранения Клинико-диагностический центр «Здоровье», г. Ростов-на-Дону, Россия

ОСОБЕННОСТИ РЕГУЛЯЦИИ ЭРИТРОПОЭЗА У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ ПОЧЕК 5Д СТАДИИ

E.S. Lapina¹, M.M. Batjushin², R.A. Belovolova³, I.V. Sarvilina⁴, V.N. Poganeva⁵

¹Rostov State Medical University, department of internal disease № 1, Rostov-on-Don, Russia

²Rostov State Medical University, department of internal disease № 2, Rostov-on-Don, Russia

³Rostov State Medical University, Research Institute of Clinical Immunology, Rostov-on-Don, Russia

⁴Medical center «Novomeditina», Rostov-on-Don, Russia

⁵Clinical and diagnostic center «Zdorovie», Rostov-on-Don, Russia

FEATURES OF REGULATION OF ERYTHROPOIESIS IN PATIENTS WITH CHRONIC KIDNEY DISEASE STAGE 5D

Резюме

Цель исследования: изучение особенностей цитокинового профиля у пациентов с хронической болезнью почек, получающих терапию программным гемодиализом. Материалы и методы: в исследование были включены 100 пациентов в возрасте 53,4±15,8 года с хронической болезнью почек 5Д стадии, получавших лечение программным гемодиализом. Всем больным был проведен подробный опрос для уточнения клинико-anamnestических данных, особенностей фармакотерапии, объективный осмотр, а также комплексное лабораторное исследование, включавшее гемограмму, биохимический анализ крови с определением параметров азотовыделительной функции почек, белкового, электролитного, минерального и обмена железа, определение уровня интерлейкина-3 и интерлейкина-6. Результаты: анемия была выявлена у 89% пациентов, носила нормохромный нормоцитарный характер с элементами анизоцитоза. При этом наиболее тяжелая анемия ассоциирована с более низкой дозой эритропоэтина и препарата железа, применявшихся в течение последнего месяца. Уровень интерлейкина-3 в среднем составил 32,8±8,3 пг/мл, минимум — 15 пг/мл, максимум 56 пг/мл, что превышало референсные пределы. При сопоставлении уровня интерлейкина-3 и дозы эритропоэтина отмечается разнонаправленность этих показателей у пациентов с анемией различной степени тяжести. Установлена корреляция между уровнем интерлейкина-3 и флюктуацией дозы эритропоэтина в течение последнего года ($r=0,54$; $p=0,01$) у пациентов с легкой анемией, у больных с тяжелой анемией — с уровнем растворимых рецепторов трансферрина ($r=0,84$; $p=0,04$). Значение интерлейкина-6 также превышало референсные значения и составило 64,6±8,7 пг/мл, минимально — 36,0 пг/мл, максимально — 86,0 пг/мл. У пациентов с высоким риском системного воспаления по шкале Glasgow Prognostic Score отмечался более низкий уровень интерлейкина-6. Выводы: выявлена повышенная концентрация интерлейкина-3 и интерлейкина-6 у всех пациентов с хронической болезнью почек

*Контакты. E-mail: batjushin-m@rambler.ru. Телефон: (863) 201-44-23

5Д стадии, получающих терапию гемодиализом. Показано обратное соотношение уровня интерлейкина-3 и дозы препаратов эритропоэтина в зависимости от степени тяжести анемии. Для интерлейкина-6 установлено, что высокий риск системного воспаления ассоциирован с более низкой концентрацией данного цитокина, что не позволяет применять его как универсальный маркер воспалительного процесса у пациентов с хронической болезнью почек, получающих программный гемодиализ.

Ключевые слова: хроническая болезнь почек, анемия, интерлейкин-3, интерлейкин-6, эритропоэтин

Abstract

The aim: to study features of the cytokine profile in patients with chronic kidney disease receiving treatment by programmed hemodialysis. Materials and methods: the study included 100 patients aged $53,4 \pm 15,8$ years with chronic kidney disease stage 5D, receiving hemodialysis. All patients were performed a detailed interview to clarify the clinical and anamnestic data, features of pharmacotherapy, physical examination, and complex laboratory research, which included hemogram, biochemical analysis of blood to definition of parameters of kidney function, protein, electrolytes, minerals and iron metabolism, determining the level of interleukin-3 and interleukin-6. Results: anemia was found in 89% of patients, had a normocytic normochromic character with elements of anisocytosis. The most severe anemia was associated with a lower dose of erythropoietin and iron, used in the last month. Interleukin-3 averaged $32,8 \pm 8,3$ pg / ml, minimum 15 pg / ml, maximum 56 pg / ml, which exceeded reference limits. When comparing the levels of interleukin-3 and erythropoietin dose differing vectors of these parameters in patients with anemia of varying severity were indicated. The correlations between the level of interleukin-3 and the fluctuation of the dose of erythropoietin in the last year ($r = 0,54$; $p = 0,01$) in patients with mild anemia, and the level of soluble transferrin receptor ($r = 0,84$; $p = 0,04$) in patients with severe anemia were found. The level of interleukin-6 was also higher than the reference values and amounted to $64,6 \pm 8,7$ pg / ml, the lowest — 36,0 pg / ml, the most — 86,0 pg / ml. The patients with a high risk of systemic inflammation on the scale of Glasgow Prognostic Score had lower levels of interleukin-6. Conclusions: high levels of interleukin-3 and interleukin-6 were revealed in all patients identified. Inverse relationship of interleukin-3 and dose of erythropoietin in depend of severity of anemia was shown. The high risk of systemic inflammation associated with a lower concentration of interleukin-6, which does not allow its use as a universal marker of inflammation in patients with chronic kidney disease receiving hemodialysis.

Key words: chronic kidney disease, anemia, interleukin-3, interleukin-6, erythropoietin

DOI: 10.20514/2226-6704-2016-6-1-40-44

ГД — гемодиализ, ГМ-КСФ — гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор, ИЛ-3 — интерлейкин-3, ИЛ-6 — интерлейкин-6, ХБП — хроническая болезнь почек

Введение

Согласно современным эпидемиологическим данным распространенность хронической болезни почек (ХБП), в том числе ее терминальной стадии, неуклонно возрастает. Проявления почечной дисфункции наблюдаются у каждого десятого в популяции, хотя по результатам ряда клинических исследований этот показатель выше (PREVEND — 17,6%, NHANES — 15% и т.д.) [4]. Одним из наиболее часто встречающихся осложнений ХБП является анемия, которая отмечается у 47% пациентов, при этом ее частота варьирует в зависимости от стадии ХБП: от 5% при 1 стадии до 80% при 5 стадии [7, 8]. Среди многочисленных причин развития анемии при ХБП ведущая роль принадлежит дефициту поздно действующего линейно специфического ростового фактора — эритропоэтина [3, 5]. Однако эритропоэз представляет собой сложную систему взаимодействия регуляторных механизмов, обеспечивающих поддержание баланса образования и деструкции эритроцитов. Наряду с эритропоэтином к ключевым факторам роста клеток эритроидного ряда относят интерлейкин-3 (ИЛ-3), фактор стволовых клеток, гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ), интерлейкин-6 (ИЛ-6) [4, 6]. Интерес представляет ИЛ-3, который проявляет синергизм по отношению к эритропоэтину и ГМ-КСФ. В немногочисленных исследованиях показано, что терапия эритропоэтином у пациентов с ХБП повышает чувствительность к ИЛ-3 и приводит к увели-

чению числа клеток-предшественниц эритропоэза. При этом ряд авторов указывает, что плохой ответ на эритропоэз-стимулирующую терапию ассоциирован с более низкой концентрацией ИЛ-3 [11]. ИЛ-6, который, с одной стороны, усиливает пролиферацию дремлющих примитивных предшественников, в том числе путем усиления ИЛ-3-зависимой пролиферации стволовой кроветворной клетки, с другой — является провоспалительным цитокином, обеспечивающим, в том числе, стимуляцию синтеза отрицательного регулятора обмена железа — гепсидина, что, в свою очередь, является одной из причин резистентности к терапии эритропоэтинами [9].

Отсюда, целью нашего исследования было изучение особенностей цитокинового профиля у пациентов с хронической болезнью почек, получающих терапию программным гемодиализом (ГД).

Материалы и методы

В исследование были включены 100 пациентов в возрасте $53,4 \pm 15,8$ года с ХБП 5Д стадии, получавших лечение программным ГД. Процедура ГД осуществлялась на аппаратах BBraun Dialogue Plus, Германия, с использованием бикарбонатной буферной диализной жидкости и полисульфоновых высокопоточных диализных мембран с площадью поверхности от 1,5 до 2,3 м² в следующем режиме: 3 раза в неделю по 4,5 часа.

Протокол исследования одобрен локальным независимым этическим комитетом ГБОУ ВПО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России. Все пациенты подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

У больных уточнялись анамнестические данные: характер жалоб, анамнез заболевания, приведшего к развитию ХБП, длительность анемии и ее клинические проявления, длительность гемодиализа и его переносимость, наличие сопутствующих заболеваний, детализировалась информация о проводимой фармакотерапии. Пациентам выполнялось стандартное физикальное обследование, а также проведены следующие лабораторные исследования: гемограмма с подсчетом эритроцитарных индексов, биохимический анализ крови с определением параметров азотовыделительной функции почек, белкового, электролитного, минерального и обмена железа, определение уровня ИЛ-3 и ИЛ-6. Последние определялись методом количественного иммуноферментного анализа на основе системы для мультиплексного анализа Luminex MAGPIX (США) с использованием наборов реактивов Interleukin-3 и Interleukin-6 (eBioscience (Bender Med-Systems), Австрия), референсные значения менее 7 пг/мл.

Статистический анализ выполнялся с помощью программ Microsoft Office Excel 2010 (Microsoft Corp., США) и «STATISTICA 7.0» (StatSoft Inc., США). При описании признаков данные представляли в виде $M \pm SD$, где M — среднее арифметическое, SD — стандартное отклонение. Для определения типа распределения данных применяли критерий Шапиро — Уилка, при значениях $p > 0,05$ распределение признака считали нормальным. При нормальном распределении выборки для сравнения двух независимых величин использовали критерий Стьюдента, а при отличии от нормального — критерии Манна — Уитни и χ^2 . При проведении сравнения более чем двух независимых групп применяли методы дисперсионного анализа: для нормального распределения — параметрический дисперсионный анализ ANOVA, при распределении, отличном от нормального, — анализ Крускала — Уоллиса. Корреляционный анализ при нормальном распределении выборки осуществлялся с помощью коэффициента Пирсона, при ненормальном — коэффициента Спирмена. Полученные результаты принимали как статистически значимые при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Среди обследованных пациентов были 51 женщина и 49 мужчин, средний возраст которых составил $55,4 \pm 16,9$ лет и $51,5 \pm 14,6$ год соответственно. Ос-

новные клинико-анамнестические данные, характеризующие выборку больных, представлены в таблице 1.

Анемия была выявлена у 89% пациентов, что сопоставимо с данными эпидемиологических исследований, носила нормохромный нормоцитарный характер с элементами анизоцитоза: средний объем эритроцита $94,1 \pm 5,6$ фл, среднее содержание гемоглобина в эритроците $30,8 \pm 1,9$ пг, средняя концентрация гемоглобина в эритроците $328,3 \pm 10,5$ пг, ширина распределения эритроцитов $17,4 \pm 2,2$ %.

Несмотря на то, что в рекомендациях KDIGO (2012) не рассматривается ранжирование анемии при ХБП по степени тяжести [2], нами выполнено подобное разделение, так как выраженность анемии является предиктором сердечно-сосудистых осложнений и определяет качество жизни пациента [11, 13]. Степень анемического синдрома верифицировали по содержанию гемоглобина: уровень гемоглобина более 115 г/л для женщин, 135 г/л для мужчин и 120 г/л для лиц старше 70 лет соответствовал норме [5], менее указанных значений, но более 90 г/л — 1 степени (легкая), 70-90 г/л — 2 степени (средней тяжести), менее 70 г/л — 3 степени анемии (тяжелая). Распределение по степени тяжести анемии было следующим: анемия 1 степени выявлена у 63 больных ($105,6 \pm 10,7$ г/л), 2 — у 22 ($81,0 \pm 5,8$ г/л), 3 — у 6 пациентов ($58,2 \pm 10,1$ г/л), нормальный уровень гемоглобина определялся у 9 пациентов ($136,3 \pm 19,0$ г/л).

Терапия эритропоэтинами осуществлялась 92% пациентов, при этом применялись эритропоэтин- α

Таблица 1. Характеристика исследуемых пациентов

Анамнез заболевания	
Стаж заболевания, лет	$13,7 \pm 10,8$
Длительность анемии, лет	$2,0 \pm 1,8$
Длительность ГД, недель	$20,1 \pm 21,9$
Антропометрические данные	
Рост, см	$169,0 \pm 9,3$
Сухой вес, кг	$75,0 \pm 17,1$
ИМТ, кг/м ²	$26,2 \pm 4,9$
Остаточная функция почек	
Креатинин, мкмоль/л	$759,2 \pm 276,2$
Мочевина, ммоль/л	$19,1 \pm 6,3$
СКФ (СКД-ЕР), мл/мин	$6,7 \pm 3,7$
Объем суточного диуреза, мл	$782,0 \pm 593,0$
Параметры гемодиализа	
Kt/v	$1,41 \pm 0,08$
Скорость потока крови, мл/мин	$304,4 \pm 33,6$
Скорость потока диализата, мл/мин	$491,5 \pm 42,3$
Ультрафильтрация, л	$2459,6 \pm 2348,6$

и β в виде внутривенных инъекций. Препараты железа использовались в парентеральной форме — железа (III) гидроксид сахарозный комплекс — у 91% больных. Дозы препаратов соответствовали рекомендуемым для стартовой терапии, но не превышали порога для резистентной анемии. Зависимость доз антианемических средств от степени снижения уровня гемоглобина представлены на рисунке 1.

Учитывая полученные данные, можно говорить о том, что наиболее тяжелая анемия ассоциирована с более низкой дозой эритропоэтина и препарата железа, применявшихся в течение последнего месяца. Обращает на себя внимание, что наибольшая доза эритропоэтина наблюдалась в группе больных с анемией средней степени тяжести, что может быть связано с усилением антианемической терапии у данной категории пациентов.

Уровень ИЛ-3 в среднем составил $32,8 \pm 8,3$ пг/мл, минимум — 15 пг/мл, максимум 56 пг/мл, что превышает референсные пределы и говорит об активации цитокинового каскада. Значения ИЛ-3 в зависимости от степени тяжести анемии представлены на ри-

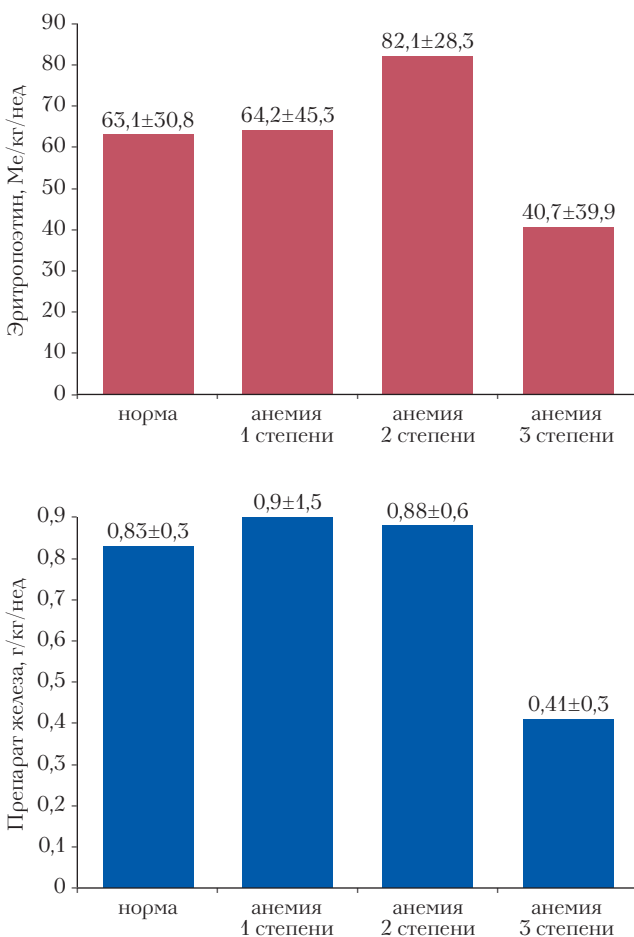


Рисунок 1. Дозы антианемических препаратов в зависимости от степени тяжести анемии, $p > 0,05$.

сунке 2, при этом различия в группах были статистически значимыми ($p = 0,001$).

Обращает на себя внимание, что по мере утяжеления анемии отмечается снижение уровня ИЛ-3 с последующим формированием пика у пациентов с анемией 3 степени. При сопоставлении уровня ИЛ-3 и дозы эритропоэтина отмечается разнонаправленность этих показателей у пациентов с анемией различной степени тяжести. При этом тяжелая анемия характеризовалась более низкими значениями применяемых антианемических препаратов, но уровень ИЛ-3, наоборот, имел наибольшее значение, что, вероятно, обусловлено повышением концентрации ИЛ-3 вследствие снижения чувствительности к нему клеток-предшественников эритропоэза в условиях дефицита эритропоэтина.

Особенности взаимосвязи ИЛ-3 с другими клинико-лабораторными показателями в группах были следующие: у пациентов с анемией 1 степени уровень ИЛ-3 возрастал с увеличением флюктуации дозы эритропоэтина в течение последнего года ($r = 0,54$; $p = 0,01$), у больных с тяжелой анемией — с повышением уровня растворимых рецепторов трансферрина ($r = 0,84$; $p = 0,04$). Подобная связь с флюктуацией дозы эритропоэтина может говорить о том, что более выраженные колебания доз применяемых эритропоэз-стимулирующих препаратов приводят к дополнительному увеличению синтеза ростового фактора ИЛ-3 с целью стимуляции красного ростка кроветворения. Корреляция ИЛ-3 с уровнем растворимых рецепторов трансферрина, вероятно, обусловлена изменением этих показателей на фоне проводимой терапии препаратами эритропоэтина.

Значение ИЛ-6 также превышало референсные значения и составило $64,6 \pm 8,7$ пг/мл, минималь-

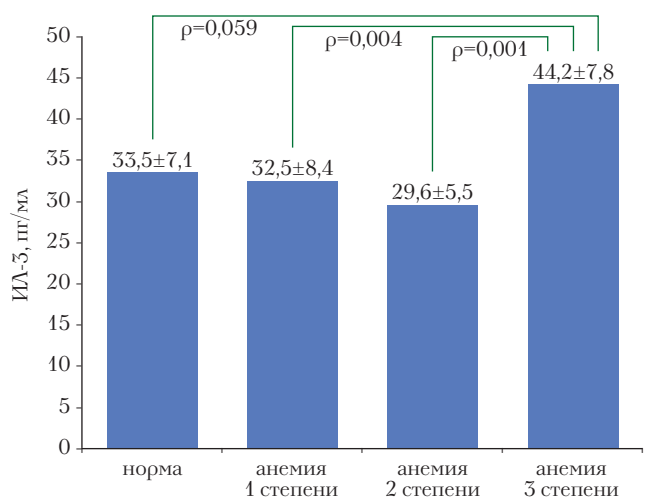


Рисунок 2. Уровень ИЛ-3 в группах пациентов в зависимости от степени тяжести анемии

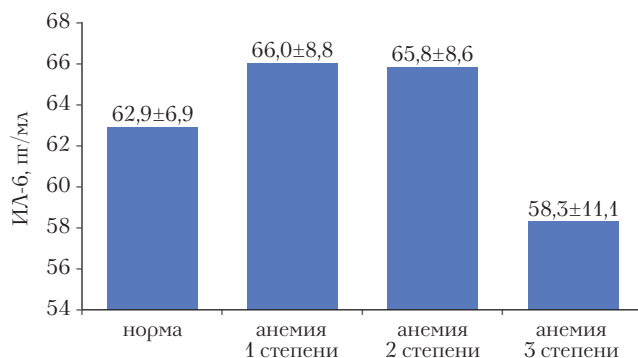


Рисунок 3. Уровень ИЛ-6 в группах пациентов в зависимости от степени тяжести анемии, $p > 0,05$.

Таблица 2. Уровень ИЛ-6 в зависимости от значения уровня системного воспаления по шкале GPS

	Шкала GPS, баллы		
	0	1	2
ИЛ-6, пг/мл	66,0 ± 9,2	62,4 ± 8,4	60,6 ± 5,3

Примечание. $\chi^2 = 6,4$, $p = 0,04$; Н-тест = 6,5, $p = 0,04$

но — 36,0 пг/мл, максимально — 86,0 пг/мл. В зависимости от степени тяжести анемии статистически значимых различий в группах выявлено не было ($p > 0,05$) (рис. 3).

При оценке риска системного воспаления по шкале Glasgow Prognostic Score (GPS) [40] были получены следующие данные: 0 баллов — у 63%, 1 балл — у 32%, 2 балла — у 5% пациентов, что, соответственно, позволило говорить о высоком риске системного воспаления только у 5% больных, низком — 95%. При этом уровень ИЛ-6 в зависимости от значения показателя GPS статистически значимо варьировал (табл. 2).

Представляет интерес то обстоятельство, что у пациентов с высоким риском системного воспаления отмечался более низкий уровень ИЛ-6, что говорит о роли ИЛ-6 не только как воспалительного маркера, но и как о цитокине, принимающем участие в других процессах регуляции гомеостаза.

Выводы

У всех обследованных пациентов с ХБП 5Д стадии выявлено повышение уровня цитокинов ИЛ-3 и ИЛ-6. При этом отмечена тенденция к снижению концентрации ИЛ-3 на фоне терапии более высокими дозами эритропоэтинов, что, возможно, позволит использовать данный показатель как маркер ответа на терапию эритропоэтинами. Для ИЛ-6 установлено, что высокий риск системного воспаления ассоциирован с более низкой концентрацией данного

цитокина, что не позволяет применять его как универсальный маркер воспалительного процесса у пациентов с ХБП, получающих программный ГД.

Ⓐ

Список литературы:

1. Гематология. Национальное руководство под редакцией проф. О.А. Рукавицына. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015; 776 с.
2. Клинические практические рекомендации KDIGO по анемии при хронической болезни почек 2012 URL: http://www.kdigo.org/clinical_practice_guidelines/pdf/Anemia%20Gl%20%20Full%20Russian%20Translation.pdf (дата обращения: 13.01.2016).
3. Милованов Ю.С., Милованова Л.Ю., Козловская Л.В. Нефрогенная анемия: патогенез, прогностическое значение, принципы лечения. Клиническая нефрология. 2010; 6: 7-18.
4. Национальные рекомендации. Хроническая болезнь почек: основные принципы скрининга, диагностики, профилактики и подходы к лечению URL: <http://nonr.ru/wpcontent/uploads/2013/11/%D0%A0%D0%B5%D0%BA%D0%BE%D0%BC%D0%B5%D0%BD%D0%B4%D0%B0%D1%86%D0%B8%D0%B8.pdf> (дата обращения: 13.01.2016).
5. Обновленные Российские национальные рекомендации по диагностике и лечению анемии при хронической болезни почек в редакции 2014 года URL: <http://nonr.ru/wpcontent/uploads/2013/11/%D0%9D%D0%B0%D1%86%D0%A0%D0%B5%D0%BA%D0%BE%D0%BC%D0%90%D0%BD%D0%B5%D0%BC%D0%B8%D1%8F-2014.pdf> (дата обращения: 13.01.2016).
6. Руководство по гематологии. 3-е изд., перераб. и доп.: в 3 т. Т 1 под ред. акад. А.И. Воробьева. М.: Изд-во «Ньюдиамед», 2002; 280 с. с ил.
7. Chronic kidney disease: managing anaemia. NICE Guideline, 2015, June URL: <http://www.nice.org.uk/guidance/ng8/resources/chronic-kidney-disease-managing-anaemia-51046844101> (дата обращения: 13.01.2016).
8. Coresh J., Astor B.C., Greene T. et al. Prevalence of chronic kidney disease and decrease kidney function in adult. Am. J. Kidney Dis. 2003; 41 (91): 1-12.
9. De Oliveira Júnior W.V., Sabino Ade P., Figueiredo R.C. et al. Inflammation and poor response to treatment with erythropoietin in chronic kidney disease. J. Bras. Nefrol. 2015; 37(2): 255-63.
10. Forrest L.M., McMillan D.C., McArdle C.S. et al. A prospective longitudinal study of performance status, an inflammation-based score (GPS) and survival in patients. Br. J. Cancer. 2005; 92(10): 1834-1836.
11. Gansevoort R.T., Correa-Rotter R., Hemmelgarn B.R. et al. Chronic kidney disease and cardiovascular risk: epidemiology, mechanisms, and prevention. Lancet. 2013; 27: 339-352.
12. Göbel V., Hoffmann H.G., Müller-Wiefel D.E. et al. Circulating haematopoietic progenitors during treatment of renal anaemia with recombinant human erythropoietin. Eur. J. Pediatr. 1994; 153(1): 43-48.
13. Hsu C.Y., McCulloch C.E., Curhan G.C. et al. Epidemiology of anemia associated with chronic renal insufficiency among adults in the United States: results from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. J. Am. Soc. Nephrol. 2002; 13: 504-510.

Авторы заявляют, что данная работа, её тема, предмет и содержание не затрагивают конкурирующих интересов