

На правах рукописи

Сидорова Мария Михайловна

Морфофункциональное состояние эритронов при маточных кровотечениях пубертатного периода на фоне хронического описторхоза

14.00.01 – акушерство и гинекология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Томск – 2008

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. В структуре гинекологической патологии подростков маточные кровотечения пубертатного периода (МКПП) занимают первое место. Частота выявления МКПП по данным профилактических осмотров колеблется от 10 до 48% в различных федеральных округах и составляет половину всех случаев нарушений менструального цикла у девочек (Богданова Е.А., 2002; Щукина О.В., 2004; Ушакова Г.А., 2005; Уварова Е.В., 2006, 2008; Tuttle J.L., 1993; Versedal A., 1999). Эта проблема не является исключительно российской, так как, по данным ряда авторов, в странах с нестабильной экономической ситуацией также высока частота МКПП (Bennis S., Meniar S., 2007; Chatterjee C., Joardar G.K., 2007; Kumar N., Bongiovanni M., Molliet M.J., 2007; Lazovic G., Radivojevic U., Milicevic S., 2007). Этиологию МКПП связывают с различными вредными воздействиями на детский организм в ante- и постнатальном периодах, дефицитом витаминов, психологическими перегрузками (Радзинский В.Е., 2002). Много работ посвящено роли перенесенных в детстве инфекционно-аллергических заболеваний, острых и хронических интоксикаций в возникновении дисфункции гипоталамо-гипофизарно-яичниковой системы (Крупко-Большова Ю.А. и соавт., 1981; Коколина В.Ф., 2003). В настоящее время имеются единичные публикации о роли патологии печени в этиопатогенезе МКПП (Гуркин Ю.А., 2002; Mass K., Quint E.H., Punch M.R., 1996).

По данным Всероссийской диспансеризации детей (2002) заболевания органов пищеварения являются самой распространенной патологией (13647 на 100 тыс. детей). В Сибирском регионе актуальна проблема описторхоза, который является краевой патологией. Томская область входит в состав наиболее крупного очага этого паразитарного заболевания – Обь-Иртышского бассейна, для которого характерна высокая инфицированность как взрослого, так и детского населения (Лепехин А.В. и др., 1988; Балашева И.И. и соавт., 2003; Ogorodova L.M., Freidin M.B., Sazonov A.E. et al. 2007). В Томской области описторхозная инвазия занимает первое место в заболеваемости детей до 14 лет. Известно, что хронический описторхоз может обуславливать развитие железодефицитной анемии и приводить к нарушениям в системе гемостаза (Лепехин А.В. и соавт., 1988; Калюжин В.В., Кулаков Ю.А., 1996; Горленко Л.В., 1996; Egger R.J. et al., 1990).

Основным осложнением МКПП является развитие хронической постгеморрагической железодефицитной анемии (ЖДА), что ещё больше обуславливает дезадаптацию подростка, снижает его трудоспособность. Посредством ферментов-оксидаз, содержащихся в головном мозге, железо также участвует в функционировании дофамин-, серотонин- и ГАМК-ергических систем, обеспечивающих не только психоэмоциональное состояние подростка, но и экстрагипоталамическую регуляцию менструального цикла (Walter T., 1989; Webb T.E., Oski F.A., 1997; Zechel S., Huber-Wittmer K. et al., 2006).

До настоящего времени не существует единого мнения в оценке роли

различных патогенетических механизмов в развитии анемии при маточных кровотечениях.

Исследований, посвящённых анализу состояния красной крови при МКПП на фоне хронического описторхоза, в доступной литературе не найдено.

Важной задачей является коррекция нарушений в организме вследствие анемии. Большой интерес вызывает проведение комплексной терапии, которая не только восполняет дефицит железа в организме, но и была бы патогенетически обоснована с точки зрения всего имеющегося дисбаланса в эритроците. В связи с этим вызывает интерес применение с этой целью нового класса препаратов, содержащих сверхмалые дозы антител к естественным регуляторам функций человека. Данный класс препаратов является достаточно безопасным, что актуально при применении у детей и подростков. В отношении ЖДА наиболее перспективным выглядит препарат, содержащий сверхмалые дозы антител к эритропоэтину человека – поэтам. Экспериментальными исследованиями доказано, что препарат способен эффективно активировать интактный эритропоэз в костном мозге и стимулировать выход ретикулоцитов в периферическую кровь, не оказывая заметного влияния на другие ростки кроветворения (Эпштейн О.И., Удут Е.В., Жданов В.В., Гурьянцева Л.А., Симанина Е.В., Дыгай А.М., Гольдберг Е.Д., 2007).

Таким образом, изучение морфофункционального состояния эритроцитов при маточных кровотечениях пубертатного периода на фоне хронического описторхоза на сегодняшний день является актуальной проблемой. Полученные при этом данные помогут разработать патогенетически обоснованный подход к коррекции выявленных нарушений с использованием препарата, содержащего сверхмалые дозы антител к эритропоэтину.

Цель исследования: выявить особенности морфофункционального статуса периферического звена эритроцитов у девушек с маточными кровотечениями пубертатного периода на фоне хронического описторхоза и разработать патогенетически обоснованный метод лечения железодефицитной анемии при маточных кровотечениях пубертатного периода на фоне хронического описторхоза.

Задачи исследования:

1. Выявить особенности морфофункционального статуса периферического звена эритроцитов у девушек с маточными кровотечениями пубертатного периода без развития хронической постгеморрагической железодефицитной анемии на фоне хронического описторхоза.

2. Выявить особенности морфофункционального статуса периферического звена эритроцитов у девушек с хронической постгеморрагической железодефицитной анемией вследствие маточных кровотечений пубертатного периода на фоне хронического описторхоза.

3. Провести сравнительное исследование клинической эффективности комплексного метода лечения железодефицитной анемии (препарат железа и препарат сверхмалых доз антител к эритропоэтину человека), монотерапии препаратом железа и монотерапии препаратом сверхмалых доз антител к

эритропоэтину при маточных кровотечениях пубертатного периода на фоне хронического описторхоза.

4. Оценить отдаленные результаты (через 12 месяцев) клинической эффективности комплексного метода лечения анемии, монотерапии железосодержащим препаратом, монотерапии препаратом сверхмалых доз антител к эритропоэтину.

Научная новизна: впервые изучены особенности клинического течения ЖДА у пациенток с МКПП на фоне краевой патологии – хронического описторхоза. Впервые исследованы особенности морфофункционального состояния эритронов у девушек с МКПП на фоне хронического описторхоза и показано, что у девушек без анемии имеется латентный дефицит железа в организме, который характеризуется снижением уровней сывороточного железа, ферритина, повышении общей железосвязывающей способности сыворотки; у девушек с анемией достоверно снижена величина сухой массы эритроцитов и достоверно увеличено количество неполноценных трансформированных форм эритроцитов. Впервые предложен новый, патогенетически обоснованный, метод лечения анемии при маточных кровотечениях пубертатного периода на фоне хронического описторхоза с применением препарата сверхмалых доз антител к эритропоэтину, метод позволяет в более ранние сроки восстановить показатели периферического звена эритронов, а значит сократить сроки госпитализации и реабилитации девушек-подростков.

Практическая значимость: полученные результаты открытого контролируемого сравнительного клинического исследования в параллельных группах свидетельствуют о высокой эффективности комплексного метода терапии с использованием препарата сверхмалых доз антител к эритропоэтину при лечении анемии у девушек с МКПП на фоне хронического описторхоза и позволяют рекомендовать как новый, патогенетически обоснованный способ лечения.

Положения, выносимые на защиту:

1. У девушек с маточными кровотечениями пубертатного периода на фоне хронического описторхоза с развитием железодефицитной анемии особенности периферического звена эритронов проявляются в достоверном уменьшении средней величины сухой массы эритроцитов (<30 пг) и достоверном возрастании количества функционально неполноценных трансформированных форм эритроцитов, находящихся на различных стадиях дегенерации.

2. Применение комплексного метода терапии железодефицитной анемии, с использованием препарата сверхмалых доз антител к эритропоэтину совместно с препаратом железа при маточных кровотечениях пубертатного периода на фоне хронического описторхоза, является патогенетически обоснованным и высокоэффективным в сравнении с традиционным лечением анемии.

Внедрение результатов исследования: результаты исследования используются в лечебной деятельности гинекологической клиники ГОУ ВПО СибГМУ Росздрава, городского центра планирования семьи и репродукции г.Томска, в учебном процессе кафедры акушерства и гинекологии ГОУ ВПО СибГМУ.

Апробация работы: основные результаты работы доложены и обсуждены на заседании проблемной комиссии, объединенном заседании кафедр акушерства и гинекологии СибГМУ, заседании областного общества акушеров-гинекологов г. Томска; V,VI,VII,VIII Международных конгрессах молодых ученых и специалистов «Науки о человеке» (г. Томск, 2005, 2007, 2008); XIII Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство» (г. Москва, 2006); IX Всероссийском научном форуме «Мать и дитя» (г. Москва, 2007); межрегиональной научно-практической конференции, посвященной 20-летию кафедры акушерства и гинекологии ФПК и ППС Алтайского государственного медицинского университета «Немедикаментозные методы лечения и актуальные вопросы в акушерско-гинекологической практике» (Барнаул, 2006).

Публикации в научной печати: по теме диссертации опубликовано 10 печатных работ, 2 из которых в журналах рекомендованных перечнем ВАК РФ, получен патент РФ № 2318524 «Способ лечения хронической постгеморрагической железодефицитной анемии у пациенток с маточными кровотечениями пубертатного периода».

Объем и структура диссертации: диссертация изложена на 122 страницах машинописного текста и содержит: введение, четыре главы (обзор литературы, материалы и методы, результаты собственных исследований, обсуждение полученных результатов), выводы, практические рекомендации. Иллюстрация проведена с применением 16 таблиц, 5 формул, 17 рисунков. Библиографический список включает 213 литературных источников, из них 83 на русском языке и 130 – материалы зарубежной печати.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Открытое контролируемое сравнительное клиническое исследование в параллельных группах проведено с 2004 по 2007 годы на базе кафедры акушерства и гинекологии СибГМУ, гинекологической клиники СибГМУ, клинической и биохимической лабораторий клиник СибГМУ, ЦНИЛ СибГМУ, женской консультации № 1 и городского центра планирования семьи г. Томска.

Всего обследовано 100 девушек. Основная группа составила 60 человек. У всех девушек основной группы диагностировали МКПП, осложненные железодефицитной анемией легкой и средней степени, протекающие на фоне хронического описторхоза. Группу сравнения составили 20 пациенток с МКПП на фоне хронического описторхоза, но без осложнения анемией. Контрольную группу составили 20 соматически здоровых девушек без признаков нарушения менструальной функции и не страдающие ЖДА. Девушки основной группы были разделены случайным образом на три подгруппы в зависимости от варианта фармакологической коррекции анемии. В первую подгруппу вошли 20 человек, принимающих терапию анемии препаратом железа (сульфат железа 325 мг) перорально по 1 таблетке в день. Во вторую подгруппу вошли 20 человек, которые принимали для лечения анемии только препарат, содержащий сверхмалые дозы антител к эритропоэтину

человека (препарат поэтам) по 1 таблетке 3 раза в день сублингвально. Третью подгруппу составили 20 девушек, которые получали комплексное лечение анемии, состоящее из сочетания приема препарата железа (сульфат железа 325 мг) и препарата сверхмалых доз антител к эритропоэтину.

С целью отбора пациенток для исследования были разработаны критерии включения и критерии исключения.

Критериями включения были:

- 1) Согласие в клиническом исследовании пациентки и родителей (для несовершеннолетних).
- 2) Маточные кровотечения пубертатного периода.
- 3) Возраст от 13 до 18 лет.
- 4) Хроническая постгемморрагическая ЖДА легкой и средней степени тяжести.
- 5) Отсутствие заболеваний свертывающей системы крови.
- 6) Отсутствие острых инфекционных заболеваний.
- 7) Отсутствие органических заболеваний гипоталамо-гипофизарной системы.
- 8) Хронический описторхоз.

Критерии исключения:

- 1) Наличие тяжелых эндокринных заболеваний.
- 2) Наличие беременности.
- 3) Прием лекарственных препаратов.
- 4) Острые инфекционные заболевания, в том числе острый описторхоз.
- 5) Болезни свертывающей системы крови.
- 6) Наличие тяжелых экстрагенитальных заболеваний.
- 7) Участие в другом клиническом исследовании или отказ от участия в данном исследовании.
- 8) Тяжелая степень анемии.

Продолжительность исследования составила 12 месяцев, в первый месяц пациентки посещали врача-исследователя на 1, 7, 30 день лечения, в последующем через 12 месяцев для оценки отдаленных результатов исследования.

В лечении МКПП выделяли следующие цели: остановку кровотечения, профилактику повторных кровотечений и терапию осложнения постгемморрагической железодефицитной анемии. Всем девушкам проводили остановку кровотечения, используя при неэффективности негормонального гемостаза (НПВС, дицинон) гормональный - для остановки кровотечения использовали низкодозированные монофазные КОК с содержанием этинилэстрадиола 30 мкг (регулон) по методике Уваровой Е.В.(2005).

Возраст обследуемых девушек, в среднем, составил $15,2 \pm 0,1$ года. В исследовании изучалось состояние здоровья школьниц, студенток средних специальных и высших учебных заведений.

Сбор анамнеза и жалоб проводили на момент обращения пациентки. Жалобы пациенток на нарушения менструального цикла включали: длительность кровотечения, связь с менструальным циклом, количество

теряемой крови, болезненность. Жалобы пациенток на клинические симптомы анемии включали: головокружение, слабость, обмороки, недомогание, ломкость ногтей и волос, сухость кожи и слизистых, затруднения при глотании, изменения вкуса, снижение аппетита.

Физикальное и гинекологическое обследование проводили согласно общепринятым методам. Все пациентки были проконсультированы терапевтом (с 14 лет) или педиатром, а также по показаниям и рекомендациям терапевта были осмотрены узкими специалистами (гастроэнтерологом, эндокринологом, гематологом, ЛОР - врачом).

Диагностику хронического описторхоза проводили с использованием данных дуоденального зондирования и/или исследования кала (метод Като), а также с помощью ИФА (АТ к описторхисам- IgM, IgG). Всем пациенткам проводили биохимический анализ крови, анализ состояния свертывающей системы для исключения заболеваний свертывающей системы крови.

Исследовали морфофункциональное состояние эритрона на следующий день после обращения: количество эритроцитов, уровень гемоглобина, гематокрита определяли с помощью автоматического гематологического анализатора Abacus Версия 2.3 (Австрия, 2003). Подсчет количества ретикулоцитов в мазке крови после окрашивания их бриллиантовым крезиловым проводился с помощью иммерсионной системы микроскопа (Меньшиков В.В., 1987). Концентрацию сывороточного железа определяли при помощи реагентов «Konelab ТМ» фирмы «Thermo Electron Corporation» (США). ОЖСС определяли при помощи набора реагентов «ОЖСС-Ново». Концентрацию ферритина определяли также с помощью набора реагентов для ИФА коммерческой фирмы ЗАО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск) в соответствии с рекомендациями производителя. Определение сухой массы эритроцитов периферической крови у девушек проводили методом интерферометрии на поляризационно-интерференционном микроскопе Biolar P J PZO (Польша) по методу Гольдберга Е.Д. и соавт. (1983).

Методом сканирующей электронной микроскопии определяли поверхностную архитектуру эритроцитов. Образцы для микроскопии готовили по методике Г.И. Козинца и соавт. (1982). Полученные образцы изучали в сканирующем электронном микроскопе «РЭМ-200». Морфологические формы описывали по классификации Козинца Г.И. (1984).

Полученные данные подвергались статистической обработке при помощи программы STATISTICA 6.0 for Windows. Проверку достоверности различий производили с использованием непараметрических критериев: U-критерия Манна-Уитни, W-критерия Вилкоксона, точного теста Фишера. Рассчитывали коэффициент непараметрической корреляции Спирмана. (Лакин Г.Ф., 1980; Боровиков В.П., Боровиков И.П., 1997; Harris M., Taylor G., 2006).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

По результатам открытого контролируемого сравнительного клинического исследования в параллельных группах, согласно данным анамнестического, клинического и параклинического обследования девушки трех подгрупп основной группы с МКПП на фоне хронического описторхоза достоверно не отличались по состоянию здоровья между собой по всем факторам, а также с группой сравнения по всем факторам кроме анемии. МКПП на фоне хронического описторхоза не были индуцированы нарушениями тромбоцитарного или коагуляционного звеньев гемостаза. Колебания биохимических показателей, которые наблюдали у обследованных пациенток, находились в границах нормальных значений соответствующих показателей и позволяли исключить острое воспалительное заболевание и другую патологию, которая могла бы стать причиной наблюдаемой анемии.

Обследованные в настоящей работе девушки с МКПП, составившие основную группу, обнаруживали классические клинические признаки ЖДА. Изменение картины периферической крови, структурно-метаболического статуса эритроцитов, показателей обмена железа в организме имели место, но были характерны в основном для анемии легкой степени тяжести. У пациенток как основной, так и группы сравнения количество эритроцитов в крови на момент начала исследования находилось на уровне нормальных значений этого показателя и составляло от $3,6$ до $3,8 \times 10^{12}/л$.

При анализе концентрации гемоглобина на момент начала лечения выявлено достоверное снижение данного показателя у девушек основной группы, где показатель колебался в пределах от $99,8$ до $100,9$ г/л, достоверно отличаясь от такового в группе сравнения и в контрольной группе ($p < 0,001$ во всех случаях). Следует отметить, что выявленная в основном легкая степень ЖДА может быть связана с тем, что все пациентки являются коренными жительницами Томской области, и всю жизнь прожили в районе с умеренно-континентальными климатическими условиями.

Девушки основной группы получали, в том числе противоанемическую терапию, тогда как пациентки с МКПП без признаков анемии, составили группу сравнения. Отсутствие выраженных признаков анемии у девушек группы сравнения подтверждает факт, что дефицит железа может быть латентным, или изолированным тканевым, без развития железодефицитной анемии. Об этом свидетельствует отмеченный у этой группы обследованных девушек уровень ОЖСС, ($66,02 \pm 1,42$ мкмоль/л в контрольной группе против $82,85 \pm 1,22$ мкмоль/л в группе сравнения соответственно).

У всех без исключения обследованных описторхоз был вне обострения, отличался латентным течением. Описторхозная инвазия является эндемическим заболеванием в регионе Обь-Иртышского бассейна, а поскольку девушки с МКПП в настоящем исследовании были коренными жительницами Томской области, где зараженность паразитом в отдельных районах достигает 80-95% (Ильинских Н.Н. и соавт., 1999; 2002), возможно предположение, что

инвазирование произошло в достаточно отдаленный срок и опосредованно могло влиять на развитие маточных кровотечений.

Диагноз хронического описторхоза в латентной стадии не означает отсутствия патологических изменений в организме на ультраструктурном уровне, несмотря на бессимптомное течение. Выявлено, что девушки-подростки с МКПП, инвазированные *Opistorhis felineus*, могут не иметь выраженных признаков анемии, однако, снижение уровня сывороточного железа и повышение общей железосвязывающей способности сыворотки (ОЖСС) в их организме свидетельствуют о латентном дефиците железа. Более того, выявленные изменения в пуле клеток красной крови обследованных девушек с МКПП (умеренный анизоцитоз, снижение массы сухого вещества эритроцитов, нарушение цитоархитектоники эритроцитов) соответствуют представлению об изменении морфофункционального состояния периферического звена эритрона у данного контингента больных (Сотникова Л.С., 2005).

Показатели красной крови девушек с МКПП на фоне хронического описторхоза в динамике лечения обнаружили эффективность пополнения пула эритроцитов под влиянием препарата сверхмалых доз антител к эритропоэтину человека (табл.1).

Таблица 1

Сравнительная характеристика количества эритроцитов ($\times 10^{12}/л$) девушек с МКПП, осложненными анемией на фоне хронического описторхоза в зависимости от метода терапии

Время наблюдения	Fe n=20	Поэтам n=20	Fe+поэтам n=20	Группа сравнения n=20
	1подгруппа	2подгруппа	3подгруппа	
Начало лечения	3,70±0,09	3,59±0,09*	3,72±0,09	3,84±0,05
Через 7 дней	3,77±0,09	3,82±0,09	3,93±0,09	3,79±0,07
Через 30 дней	3,90±0,10 p ₁₋₂ <0,05 p ₁₋₃ <0,05	4,24±0,09 ***	4,27±0,08 ***	3,88±0,09

Примечания: данные представлены в виде среднего значения \pm стандартное отклонение. * – $p<0,05$; ** – $p<0,01$; *** – $p<0,001$ по сравнению с показателями группы сравнения

Так, уже на 7 день после начала приема поэтама, отмечен достоверный ($p<0,001$) прирост количества клеток красной крови от их начального числа. Динамика этого показателя под влиянием препарата сверхмалых доз антител к эритропоэтину не уменьшается, а к 30 дню превосходит показатели группы сравнения, приближаясь к контрольному значению здоровых девушек ($4,46\pm 0,04 \times 10^{12}/л$) (Гольдберг Е.Д., 1999).

При выраженном положительном влиянии на количество эритроцитов, монотерапия поэтамом не оказывала значительного влияния на уровень

гемоглобина в сыворотке крови (табл.2). Прирост количества гемоглобина на 7 день лечения составил 4% в группе пациенток, которые принимали только поэтам. Монотерапия препаратом железа также не принесла выраженного изменения концентрации гемоглобина, так как его прирост на 7 день терапии составил только 5 %. На 30 день терапии прирост уровня гемоглобина в группах, которые получали монотерапию поэтамом и монотерапию препаратом железа составил соответственно 10% и 14%, по-прежнему достоверно ($p < 0,001$) оставаясь ниже показателей уровня гемоглобина в группе сравнения (табл.4) и в контрольной группе ($134, 20 \pm 2,15$ г/л).

Таблица 2

Сравнительная характеристика динамики уровня гемоглобина у девушек с МКПП, осложненными анемией на фоне хронического описторхоза в зависимости от метода терапии

Гемоглобин, г/л	Fe n=20	Поэтам n=20	Fe+поэтам n=20	Группа сравнения n=20	p		
	1 подгруппа	2 подгруппа	3 подгруппа		1-2	1-3	2-3
Начало лечения	100,55±1,61 ***	100,85±1,23 ***	99,75±1,99 ***	121,20±0,76	0,84	0,98	0,88
Через 7 дней	105,05±1,07 ***	104,25±1,11 ***	109,85±1,70 ***	123,56±1,05	0,47	0,032	0,013
Через 30 дней	114,20±0,73 ***	110,45±0,71 ***	123,00±1,27	124,11±0,87	<0,001	<0,001	<0,001

Примечания: данные представлены в виде среднего значения \pm стандартное отклонение. *** – $p < 0,001$ – уровень значимости результатов по сравнению с показателями группы сравнения

Только комплексное введение поэтама и препарата железа позволило достичь уровня гемоглобина, который не отличался от значений этого показателя в группе сравнения без признаков ЖДА и соответствовал значениям нормы. Возможно, одной из причин наблюдаемого эффекта является увеличение чувствительности красного кровяного ростка к эритропоэтину и прочим эритропоэз-стимулирующим факторам в присутствии железа и препарата сверхмалых доз антител к эритропоэтину, а также повышение качества усвоения железа эритропоэз-стимулирующими агентами (Sasak C., 2000; Thomas C., Wiesner C., Melchior S.W., 2006).

На фоне применения схем терапии ЖДА только в подгруппах пациенток, которые принимали поэтам, отмечался ретикулоцитарный «криз», выразившийся в трех- и более кратном увеличении их числа от начального уровня (табл.3). Этот феномен гематологи считают одним из важнейших

критериев эффективности противоанемической терапии (Эпштейн О.И., 2005; Agrawal S., Agarwalla A., 2005; Bader-Meunier B., Leverger G., Tchernia G. et al., 2005; Dhingra S., Wiener J.J., Jackson H., 2007).

Таблица 3

Сравнительная характеристика динамики ретикулоцитов у девушек с МКПП, осложненными анемией на фоне хронического описторхоза в зависимости от метода терапии

Ретикулоциты, ‰	Fe n=20	Поэтам n=20	Fe + поэтам n=20	Группа срав- нения n=20	p		
	1 подгруп- па	2 под- группа	3 под- группа		1-2	1-3	2-3
Начало лечения	9,24± 0,88	8,24± 0,82*	8,50± 0,72*	10,65± 0,44	0,32	0,35	0,75
Через 7 дней	17,90± 1,25 # ***	26,10± 2,20 # ***	29,05± 2,53 # ***	10,71± 0,51	0,002	0,002	0,52
Через 30 дней	12,65± 0,27 # ***	17,70± 0,55 # ***	14,60± 0,37 # ***	10,68± 0,53	<0,001	<0,001	<0,001

Примечания: данные представлены в виде среднего значения ± стандартное отклонение. * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$ - уровень значимости различий показателей в зависимости от лечения по сравнению с показателями группы сравнения; # – $p < 0,001$ по сравнению с предыдущей точкой наблюдения

Препараты железа, как отдельно, так и в комплексе с поэтамом, вызывали более выраженное увеличение ЦП, чем монотерапия поэтамом ($p < 0,001$ в обоих случаях). Однако, даже через месяц терапии ЖДА уровень ЦП у пациенток не достигал значений показателя в группе контроля ($p < 0,05$ во случаях, кроме группы сравнения). Возможной причиной не достижения контрольных значений ЦП у девушек на фоне всех видов лечения стало недостаточное количество алиментарного железа для насыщения активно делящихся клеток эритрона и созревающих эритроцитов необходимым количеством гема (Diarra M.S., Petitclerc D., Lacasse P., 2002). Об этом свидетельствуют повышенные значения ОЖСС сыворотки крови обследованных пациенток с МКПП, что показывает недостаточное насыщение депо железа в организме (Aini U.N., et al., 2007; Leblanc C.P., Rioux F.M., 2007; Naghii M.R., Mofid M., 2007; Vargas-Ruiz A.G., 2008; Monajemzadeh S.M., Monajemzadeh M., 2008). Данный факт можно объяснить наличием у пациенток хронической

патологии ЖКТ (хронический описторхоз), обуславливающей формирование синдрома мальабсорбции (Ревякина В.А., 1993).

Вместе с тем, на фоне ХО наиболее эффективной терапией ЖДА оказалась комплексная, которая включала применение препарата железа совместно с препаратом сверхмалых доз антител к эритропоэтину. Накопленные в результате исследований данные позволяют предполагать, что действие потенцированных антител направлено на такую тонкую регуляторную систему, какой являются естественные антитела. В последние годы накоплены факты, демонстрирующие “стабилизирующее” воздействие естественных антител на ряд известных регуляторных молекул (Ашмарин И.П., Фрейдлин И.С., 1989; Эпштейн О.И. 1999; Эпштейн О.И., Амосова Е.Н., Зуева Е.П. и соавт., 2000).

Величина сухой массы эритроцитов в группах обследованных девушек с ЖДА вследствие МКПП на фоне хронического описторхоза на момент начала исследования отличалась ($p < 0,01$) от таковой в группе сравнения и была, в среднем, на 11 % ниже (табл.4). Это согласуется с показателями сухой массы эритроцитов у больных ЖДА легкой степени тяжести. Лечение с применением препарата железа как самостоятельно, так и в сочетании с поэтамом привело к повышению этого показателя. В группе пациенток, которые принимали только поэтам, не удалось значительно ($p > 0,05$) увеличить величину сухой массы эритроцитов. Это может быть объяснено разницей в скорости созревания эритроцитов и насыщением депо железа за счет алиментарно поступающего микроэлемента на фоне приема препарата сверхмалых доз антител к эритропоэтину.

Таблица 4

Сравнительная характеристика показателей сухой массы эритроцитов у девушек с МКПП и ЖДА на фоне хронического описторхоза в зависимости от метода терапии ЖДА

Сухая масса эритроцитов, Пг	Fe n=20	Поэтам n=20	Fe+поэтам n=20	Группа сравнения n=20
До лечения	27,24±0,86 **	27,19±0,64 **	27,28±0,96 **	30,63±0,71
На 30 день терапии	28,66±0,99 $P^1 < 0,05$	27,24±0,75 **	28,81±0,95 $P^1 < 0,05$	30,69±0,65

Примечания: данные представлены в виде среднего значения ± стандартное отклонение. p - уровень значимости различий показателя; * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$ по сравнению с показателями группы сравнения; $P^1 < 0,05$ – уровень значимости различий показателя сухой массы эритроцитов в динамике лечения в группах Fe и Fe+Поэтам

Количество патологических форм эритроцитов во всех подгруппах основной группы значимо отличалось от показателей группы сравнения и группы контроля (табл. 5), что свидетельствует о развитии при анемии вследствие МКПП выраженной дестабилизации поверхностной структуры эритроцитов.

Таблица 5

Сравнительная характеристика показателей эритроцитограммы девушек с МКПП и ЖДА на фоне хронического описторхоза в зависимости от метода терапии

Показатели эритроцитограммы, %		Fe, n=20	Поэтам, n=20	Fe+поэтам, n=20	Группа сравнения, n=20
До лечения	стоматоциты	0,57±0,04*	0,56±0,03	0,57±0,02*	0,54±0,01
	акантоциты	0,59±0,04*	0,58±0,05*	0,57±0,03*	0,52±0,02
	эхиноциты	0,68±0,02*	0,71±0,07*	0,74±0,05*	0,63±0,02
	дакриоциты	0,21±0,05*	0,24±0,05*	0,19±0,04*	0
	дегенеративно-измененные	0,16±0,04*	0,14±0,03*	0,15±0,04*	0,05±0,01
	деформированные	0,02±0,01	0,03±0,01	0,01±0,01	0
После лечения	стоматоциты	0,51±0,03	0,52±0,04	0,51±0,02#	0,49±0,02
	акантоциты	0,51±0,02#	0,47±0,04#	0,49±0,03#	0,53±0,02
	эхиноциты	0,66±0,07	0,55±0,02#	0,61±0,06#	0,64±0,04
	дакриоциты	0#	0,01±0,01	0#	0
	дегенеративно-измененные	0,02±0,01#	0,01±0,01#	0,01±0,01#	0
	деформированные	0	0#	0	0

Примечания: данные представлены в виде среднего значения ± стандартное отклонение. p – уровень значимости различий показателя; * – p<0,05 по сравнению с показателями группы сравнения; # – p<0,05 по сравнению с предыдущей точкой наблюдения

Более того, на развитие патологических форм клеток красной крови определенную роль может оказывать наличие возбудителя описторхоза в организме, несмотря на латентное течение инфекции. Факт отсутствия в результатах сканирующей электронной микроскопии мишеневидных эритроцитов говорит о том, что поражение печени у обследованных девушек не носило ярко выраженного характера. Можно предположить, что даже ультраструктурные изменения гепатоцитов не могли не сказаться на обмене железа и белков, необходимых для полноценного созревания ретикулоцитов. В пользу поражения клеток печени и нарушения состояния липидного обмена, обязательно сказывающегося на состоянии мембран эритроцитов, говорит факт присутствия в эритроцитограммах акантоцитов – эритроцитов с неровным контуром мембраны (Cooper R.A., Garcia F.A., Trey C., 1972; Douglass C.C., Mc Call M.C., Frenkel E.P., 1988; Handel H., 1988; Herbert V., Tisman G., 1995). В отличие от мишеневидных эритроцитов, где молярное отношение холестерина/фосфолипиды отмечается на уровне 0,8 – 0,9, в мембранах акантоцитов значительно оно увеличено (до 1,6), что обусловлено высоким

содержанием холестерина. В результате возрастает микровязкость мембран акантоцитов, ухудшаются их реологические свойства (Saibara T., 2007).

Кроме вышеперечисленных патологических форм клеток красной крови, у пациенток с МКПП выявлены эритроциты с ротообразной полосой просветления в центре, так называемые стоматоциты, которые при сканирующей электронной микроскопии имеют вид толстостенной чаши. Средний объем стоматоцитов достоверно увеличен. Трансформацию дискоцит – стоматоцит вызывают агенты, блокирующие работу кальциевого насоса эритроцитов, в результате в эритроцитах возрастает концентрация ионов кальция, что приводит к агрегации молекул белка спектрина, локализованного на цитоплазматической поверхности мембраны (Ла Селле Р., 1980). Вероятно, указанный механизм образования стоматоцитов может иметь место и у носителей хронической описторхозной инвазии. Изменения липидного состава мембран, наблюдаемые при инфекционных поражениях, могут влиять на активность мембранно-связанных ферментов (Castro-Villarreal P, Guven J., 2005), к числу которых относится и Ca^{2+} , Mg^{2+} -зависимая АТФаза эритроцитов (Roufogalis B.D., 1979).

Важной функциональной структурой, определяющей вязкоэластические свойства эритроцитарных мембран является цитоскелет. Это прочная эластическая сеть, образованная белками на внутренней поверхности билипидного слоя мембраны эритроцита (Денисова О.М., 2007). Нарушения метаболизма эритроцитов, снижение уровня АТФ, восстановленного глутатиона, активация процессов перекисидации липидов, возникающие при наличии инфекционного/инвазионного агента, могут привести к образованию сшивок между молекулами белков – структурными компонентами цитоскелета, а это, в свою очередь, отрицательно влияет на способность эритроцитов к деформации (Santini M.T, Straface E., et al., 1997; Murphy S.C., Fernandez-Pol S., et al., 2005; Suresh S. et al., 2005; Li J. et al., 2007). Учитывая, что ранее получены данные о снижении уровня сульфид-гидрильных групп эритроцитов при МКПП (Стрелис Л.С., 1998), свидетельствующее об инактивации антиоксидантных систем, наблюдаемое нами изменение морфологической структуры популяции может быть расценено как стартовое, характерное именно для легкой степени ЖДА, обусловленное в том числе наличием хронического описторхоза. В этой связи немаловажным фактором, свидетельствующим о глубинной коррекции состояния красной крови и восстановления функциональной полноценности эритроцитов является элиминация из кровеносного русла единичных дакриоцитов, деформированных форм эритроцитов, значимое уменьшение акантоцитов, дегенеративно-измененных форм эритроцитов под влиянием всех видов терапии. Кроме того, следует отметить, что в подгруппах девушек, получавших поэтам, достоверно уменьшилось количество эхиноцитов, а в подгруппе, которая получала комплексное лечение, значимо уменьшилось и количество стоматоцитов. Поэтам, как стимулятор процессов созревания гемопоэтических клеток ведет к наработке новых клеток эритроидного ряда, это обусловлено изменениями

структурно-функциональной организации костного мозга (Удут Е.В., Жданов В.В., Гурьянцева Л.А. и др., 2007).

Оценка эффективности терапии ЖДА не может быть полной без изучения показателей обмена железа в организме. Отсутствие выраженных признаков анемии у девушек группы сравнения подтверждает факт, что дефицит железа может быть латентным, или изолированным тканевым, без развития железодефицитной анемии. Об этом свидетельствует отмеченный у этой группы обследованных девушек уровень ОЖСС, ($66,02 \pm 1,42$ мкмоль/л в контрольной группе против $82,85 \pm 1,22$ мкмоль/л в группе сравнения соответственно) (табл.6).

Таблица 6

Сравнительная характеристика показателей обмена железа девушек с МКПП, осложненными анемией на фоне хронического описторхоза в зависимости от метода терапии

Показатели обмена железа		Fe, n=20	Поэтам, n=20	Fe+поэтам, n=20	Группа сравнения, n=20	p		
		1-я под- группа	2-я подгруппа	3-я подгруппа		1-2	1-3	2-3
Сывороточное железо, мкмоль/л	Начало лечения	$6,33 \pm 0,22$ ***	$7,32 \pm 0,48$ ***	$5,82 \pm 0,31$ ***	$17,52 \pm 0,44$	0,021	0,18	0,004
	Через 30 дней	$16,31 \pm 0,90$ #	$8,85 \pm 0,61$ *** #	$16,18 \pm 0,77$ #	$18,01 \pm 0,81$	<0,001	0,88	<0,001
ОЖСС, мкмоль/л	Начало лечения	$90,10 \pm 1,28$ ***	$88,25 \pm 2,34$ **	$89,70 \pm 2,53$ **	$82,85 \pm 1,22$	0,70	0,81	0,52
	Через 30 дней	$82,15 \pm 2,07$	$87,29 \pm 2,16$ **	$83,41 \pm 1,91$	$81,56 \pm 1,11$	0,042	0,34	0,046
Ферритин, мкг/л	Начало лечения	$37,12 \pm 1,66$	$32,59 \pm 1,08$ **	$33,71 \pm 1,76$ *	$38,36 \pm 1,52$	0,18	0,04	0,001
	Через 30 дней	$41,43 \pm 2,54$	$34,05 \pm 1,14$ *	$40,99 \pm 2,05$	$37,95 \pm 1,64$	0,038	0,45	0,043

Примечания: данные представлены в виде среднего значения \pm стандартное отклонение. * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$ – уровень значимости различий по сравнению с показателями группы сравнения; # – $p < 0,001$ по сравнению с предыдущей точкой наблюдения

Таким образом, с помощью открытого контролируемого сравнительного клинического исследования в параллельных группах установлена высокая

эффективность комплексного метода терапии препаратом железа в сочетании с поэтамом при лечении ЖДА вследствие МКПП на фоне хронического описторхоза. Препарат поэтам является безопасным средством лечения, так как на фоне его приема не отмечалось побочных эффектов и отклонений лабораторных показателей от нормативных величин. Выявлено достоверное положительное влияние поэтама на морфофункциональное состояние эритроцитов, но только в сочетании с приемом препарата железа, проявляющееся в полноценном образовании и насыщении гемоглобином эритроцитов. Это подтверждает факт более быстрого купирования клинических симптомов анемии в подгруппе, которая получала комплексную терапию. Только комплексное введение поэтама и препарата железа позволило достичь уровня гемоглобина, который не отличался от значений этого показателя в группе сравнения без признаков ЖДА и соответствовал значению нормы. Следовательно, препарат сверхмалых доз антител к эритропоэтину и препарат железа рекомендуется применять в комплексе одновременно для повышения эффективности терапии у пациенток, страдающих ЖДА вследствие МКПП на фоне хронического описторхоза.

ВЫВОДЫ:

1. Особенности периферического звена эритрона у девушек с маточными кровотечениями пубертатного периода на фоне хронического описторхоза без развития хронической постгеморрагической анемии выражаются в латентном дефиците железа, который характеризуется снижением уровней сывороточных железа в 1,5 раза и ферритина в 2 раза, чем в контрольной группе у девушек без маточных кровотечений пубертатного периода и описторхоза, а также в повышении общей железосвязывающей способности сыворотки в 1,5 раза.

2. Особенности периферического звена эритрона у девушек с маточными кровотечениями пубертатного периода на фоне хронического описторхоза с развитием хронической постгеморрагической железодефицитной анемии выражаются в существенных изменениях морфофункционального статуса зрелых эритроцитов. Эти изменения проявляются в достоверном уменьшении средней величины сухой массы эритроцитов (<30 пг) и достоверным возрастанием количества функционально неполноценных трансформированных форм эритроцитов, находящихся на различных стадиях дегенерации.

3. Препарат сверхмалых доз антител к эритропоэтину, при лечении железодефицитной анемии у девушек с маточными кровотечениями пубертатного периода на фоне хронического описторхоза, достоверно увеличивает количество ретикулоцитов и эритроцитов в периферической крови, а также нормализует citoархитектонику эритроцитов за счет уменьшения количества эхиноцитов и исчезновения деформированных форм эритроцитов.

4. Сравнительное исследование клинической эффективности комплексно-

го метода лечения железодефицитной анемии у девушек с маточными кровотечениями пубертатного периода на фоне хронического описторхоза показало, что применение в комплексной терапии препарата сверхмалых доз антител к эритропоэтину совместно с препаратом железа позволяет в более ранние сроки нормализовать показатели эритрона (ретикулоциты, эритроциты), уровень гемоглобина и улучшить структурно-метаболический статус эритроцитов (сухая масса эритроцитов, цитоархитектоника эритроцитов), чем применение традиционного лечения.

5. Разработанный комплексный патогенетически обоснованный метод терапии анемии вследствие маточных кровотечений пубертатного периода на фоне хронического описторхоза с использованием препарата сверхмалых доз антител к эритропоэтину является высокоэффективным в коррекции нарушений в системе эритрона, что подтверждается отдаленными результатами: достоверным снижением количества рецидивов в 1,6 раз, снижением числа пациенток с латентным дефицитом железа в 2,2 раза по сравнению с традиционным лечением.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ:

1. Пациенткам, страдающим маточными кровотечениями пубертатного периода на фоне хронического описторхоза для диагностики латентного дефицита железа, рекомендуется комплексное гематологическое обследование во время кровотечения, включающее исследование показателей обмена железа: сывороточное железо, ОЖСС, ферритин крови.

2. При легкой степени железодефицитной анемии вследствие маточных кровотечений пубертатного периода на фоне хронического описторхоза совместно с препаратом железа назначают препарат сверхмалых доз антител к эритропоэтину человека по 1 таблетке 3 раза в день в течение двух недель.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ:

1. Клинические особенности анемии при маточных кровотечениях пубертатного периода на фоне хронического описторхоза // Науки о человеке : матер. 7 конгресса молодых ученых и специалистов. – Томск, 2006. – С. 88 (соавт.: Л.С. Сотникова).

2. Применение поэтама при анемии на фоне маточных кровотечений пубертатного периода // Науки о человеке : матер. 7 конгресса молодых ученых и специалистов. – Томск, 2006. – С.90 (в соавт.: Л.С. Сотникова).

3. Клиническое исследование эффективности поэтама при анемии на фоне маточных кровотечений пубертатного периода // Человек и лекарство : сб. матер. XIII Российского национального конгр. – М., 2006. – С. 289 (соавт.: Л.С.

Сотникова, А.М. Дыгай, И.Д. Евтушенко, В.П. Болотова, Н.М. Шевцова, Е.В. Абрамова).

4. Ультразвуковая диагностика внутренних половых органов у пациенток с маточными кровотечениями пубертатного периода с развитием анемии // Достижения современной лучевой диагностики в клинической практике : сб. ст. по матер. IV регион. конф. – Томск, 2006. – С. 169–171 (соавт.: Н.М. Кондратьева, Л.С. Сотникова).

5. Применение препарата антител к эритропоэтину в антианемической терапии при маточных кровотечениях пубертатного периода // Немедикаментозные методы лечения и актуальные вопросы в акушерско-гинекологической практике : матер. межрегион. науч.-практ. конф., посвящ. 20-летию кафедры акушерства и гинекологии ФПК и ППС Алтайского государственного медицинского ун-та. – Барнаул, 2006. – С. 78–79 (соавт.: Л.С. Сотникова, И.Д. Евтушенко, В.П. Болотова, Н.М. Шевцова).

6. Структурно-метаболический статус эритроцитов у пациенток с маточными кровотечениями пубертатного периода на фоне хронического описторхоза // Вестник перинатологии, акушерства и гинекологии. – Красноярск, 2007. – Вып. 14. – С. 386–392 (соавт.: Л.С. Сотникова, В.В. Жданов).

7. Структурно-метаболический статус эритроцитов у пациенток с маточными кровотечениями пубертатного периода // Бюллетень сибирской медицины. – 2007. – Т. 6, № 2. – С. 47–52 (соавт.: Л.С. Сотникова, И.Д. Евтушенко, В.П. Болотова, В.В. Жданов, Н.М. Шевцова).

8. Комплексное лечение железодефицитной анемии у девушек с маточными кровотечениями пубертатного периода на фоне хронического описторхоза // Актуальные вопросы акушерства и гинекологии : сб. науч. тр. межрегион. науч.-практ. конф. – Красноярск, 2008. – С. 20–25 (соавт.: И.Д. Евтушенко, Л.С. Сотникова, А.М. Дыгай).

9. Особенности течения маточных кровотечений пубертатного периода у девушек с хроническим описторхозом // Матер. IX Всероссийского науч. форума «Мать и дитя». – М. : ЦМТ, 2007. – С. 396–397 (соавт.: И.Д. Евтушенко).

10. Особенности лечения железодефицитной анемии у девушек с маточными кровотечениями пубертатного периода на фоне хронического описторхоза // Бюллетень сибирской медицины. – 2008. – Т. 7, № 2. – С. 29–34 (соавт.: Л.С. Сотникова, И.Д. Евтушенко, А.М. Дыгай).

11. Способ лечения хронической постгеморрагической железодефицитной анемии у пациенток с маточными кровотечениями пубертатного периода : пат. 2318524 Рос. Федерация : МПК А61К33/26, А61К39/395, А61Р7/06 / заявитель и патентообладатель НИИ фармакологии ТНЦ СО РАМН. – № 2006111108/14 ; заявл. 05.04.06 ; опубл. 10.03.08. (соавт.: Е.Д. Гольдберг, А.М. Дыгай, В.В. Жданов, Л.С. Сотникова, И.Д. Евтушенко, В.П. Болотова).

Список использованных сокращений

АД – артериальное давление

АТ – антитела

АТФ – аденозинтрифосфорная кислота

ВОЗ – всемирная организация здравоохранения

ЖДА – железодефицитная анемия

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт

ИФА – иммуноферментный анализ

КОК – комбинированные оральные контрацептивы

МЕ – международные единицы

МКПП – маточные кровотечения пубертатного периода

НПВС – нестероидные противовоспалительные средства

ОЖСС – общая железосвязывающая способность сыворотки

ОМТ – органы малого таза

СибГМУ – Сибирский Государственный Медицинский Университет

СМД – сверхмалые дозы

УЗИ – ультразвуковое исследование

ХО – хронический описторхоз

ЦНС – центральная нервная система

ЦП – цветовой показатель

ЭП – эритропоэтин

Ig G – иммуноглобулин G

Ig M – иммуноглобулин M