

Седелкина Е. Л., Рябцева Т. В., Макаревич Д. А., Ровдо И. М.

ВЛИЯНИЕ БОЛЬШЕОБЪЕМНОГО ПЛАЗМАФЕРЕЗА НА ДИНАМИКУ АУТОАНТИТЕЛ У ПАЦИЕНТОВ С АНТИФОСФОЛИПИДНЫМ СИНДРОМОМ

УО «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск

Антифосфолипидный синдром (АФС) — симптомокомплекс, включающий в себя венозные и артериальные тромбозы, различные формы акушерской патологии, тромбоцитопению, разнообразные неврологические, сердечно-сосудистые, кожные, гематологические и другие клинические проявления, серологическим маркером которых являются антитела к β_2 -гликопротеину, антитела к кардиолипину (аКЛ), волчаночный антикоагулянт (ВА) [1, 2]. Особое значение в терапии пациентов с АФС приобретает плазмаферез (ПФ), так как обеспечивает удаление в процессе операции антифосфолипидных антител, иммунных комплексов, иммуногенных плазменных белков, аутоантигенов, что позволяет снизить актив-

ность аутоиммунного процесса. В последнее время активно обсуждается эффективность плазмафереза в зависимости от процента удаленной плазмы. Имеются противоречивые данные о том, что лечебный эффект плазмафереза часто не связан с объемом удаления циркулирующей плазмы [4]. В зависимости от объема удаляемой плазмы, применяют различные модификации лечебного плазмафереза: малообъемный (до 30 % ОЦП), среднеобъемный (от 30 % до 50 % ОЦП), большеобъемный (от 50 % до 100 %) и плазмообмен (100 % ОЦП) [5].

В связи с вышесказанным целью исследования являлось изучение влияния большеобъемного плазмафереза на динамику аутоантител у пациентов с антифосфолипидным синдромом.

В исследовании участвовали пациенты с диагнозом вторичный антифосфолипидный синдром ($n = 9$, из них 8 женщин и 1 мужчина). Средний возраст пациентов составил $38,6 \pm 6,3$ года. Средняя продолжительность заболевания — $5,7 \pm 4,8$ года. Все пациенты получали курс стандартной медикаментозной терапии (ГКТ, антикоагулянты, нестероидные противовоспалительные препараты) на базе ревматологического отделения 9-й ГКБ г. Минска с включением сеансов большеобъемного плазмафереза в отделении экстракорпоральных методов детоксикации 9-й ГКБ. Большеобъемный плазмаферез проводили на сепараторах клеток крови фирмы «Fresenius», Германия, в так называемом «двухигольном режиме». Скорость забора крови составляет 40–60 мл/мин, скорость вращения центрифуги — 2000–2200 об/мин, скорость отбора плазмы — 18–25 мл/мин. Объем плазмы удаляемой за одну операцию, варьирует от $1,5 \pm 0,5$ л (более 50 % объема циркулирующей плазмы). Заместительная терапия проводится одновременно с удалением плазмы, в ее объеме с возмещением 110 ± 5 % соответственно. В качестве заместительной терапии использовали кристаллоиды (физиологический раствор, квинтасоль, трисоль и 5–10 % альбумин).

Для лабораторных исследований использовалась кровь и плазма пациентов. Забор крови осуществлялся из периферической вены непосредственно до и сразу после проведения сеанса.

Изучались общий анализ крови, показатели белкового состава сыворотки крови, уровня циркулирующих иммунных комплексов (методом преципитации с полиэтиленгликолем 6000) и концентрации общих иммуноглобулинов класса G и M, а также специфических аутоантител к $\beta 2$ -гликопротеину, кардиолипину и протромбину (методом иммуноферментного анализа).

Полученные данные систематизировались и обрабатывались с помощью персонального компьютера и программы «StatSoft STATISTICA 6.0». Результаты представлялись в виде медианы и процентилей (Me (25 %; 75 %)). Для оценки однородности выборок применяли критерий Вилкоксона. Критический уровень значимости p нулевой гипотезы принимали равным 0,05. Корреляционный анализ проводили методом Спирмена.

Всего было проведено 18 сеансов плазмафереза, общий анализ крови до и после проведения плазмафереза показал, что у всех пациентов отмечалось незначительное снижение общего числа лейкоцитов, процентного числа лимфоцитов и абсолютного количества тромбоцитов. Однако эти изменения носили недостоверный характер. Использование данной методики приводило к досто-

верному снижению содержания общего белка в плазме, альбумина, глобулинов. Данные обстоятельства требовали применения адекватных доз альбумина в качестве плазмозамещающего раствора.

На рис. 1 представлены изменения концентрации общего IgG и IgM в сыворотке крови пациентов с АФС до и после проведения большеобъемного плазмафереза. Концентрация общих IgG (мг/мл) после проведения большеобъемного плазмафереза снижается на 15,9 %, однако данные результаты статистически не достоверны ($p = 0,18$). На рис. 1, а видно, что после курса плазмафереза наблюдается статистически достоверное снижение иммуноглобулинов класса М в сыворотке пациентов с АФС на 1,24 % ($p = 0,005$).

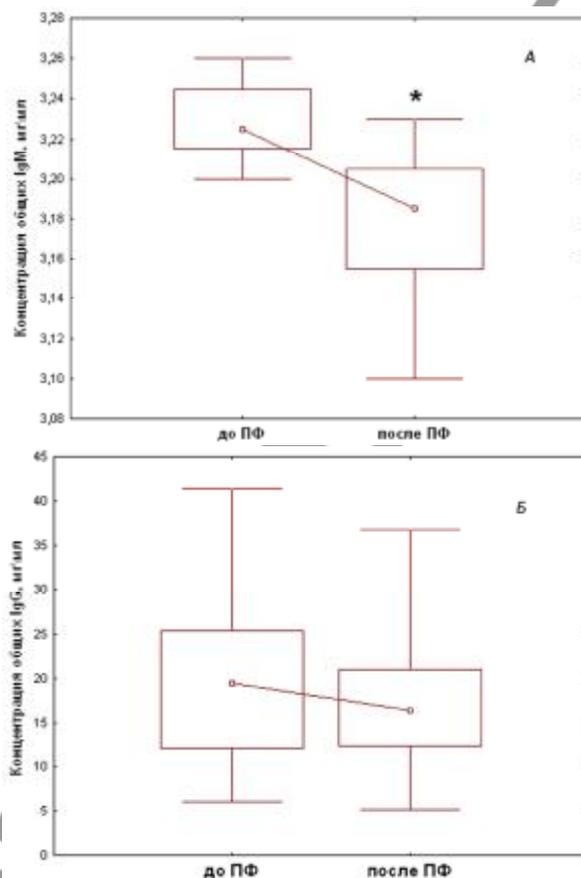


Рис. 1. Изменение концентрации общих IgG и IgM в сыворотке у пациентов с антифосфолипидным синдромом до и после большеобъемного плазмафереза

После проведения большеобъемного плазмафереза концентрация аутоантител к $\beta 2$ -гликопротеину класса G увеличивается почти в 2 раза (на 95,9 %) (рис. 2, а). Концентрация аутоантител класса М к $\beta 2$ -гликопротеину уменьшается на 13,3 % ($p = 0,05$) (рис. 2, б). Изучение динамики концентрации аутоантител к протромбину класса G и М в сыворотке пациентов с АФС до и после сеанса большеобъемного плазмафереза показало, что концентрация аутоантител к протромбину класса G снижается на 5,19 %, а концентрация аутоантител к протромбину класса М — на 7,59 %.

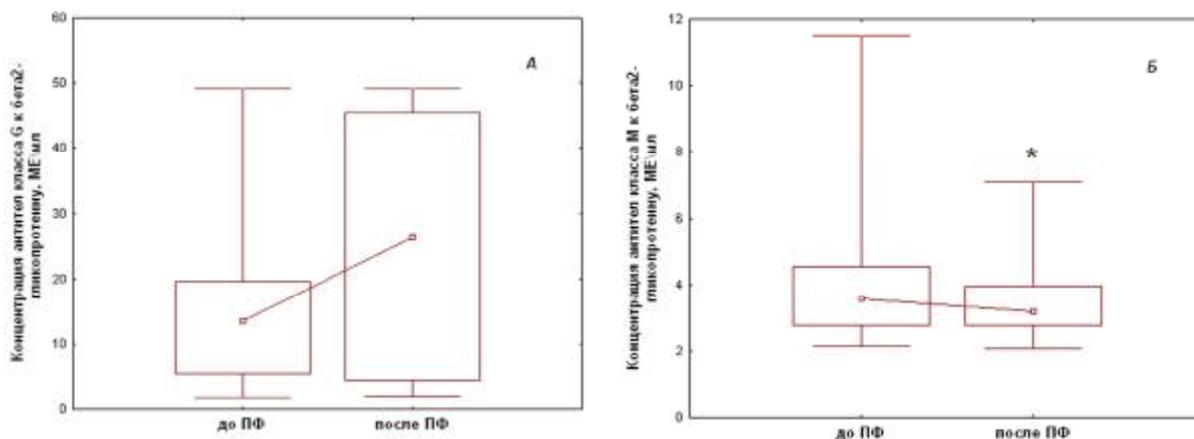


Рис. 2. Изменение концентрации аутоантител класса G и M к бета2-гликопротеину в сыворотке пациентов с антифосфолипидным синдромом до и после большеобъемного плазмафереза

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о снижении аутоантител к протромбину, а также общих иммуноглобулинов класса G и M. При этом наблюдается увеличение концентрации аутоантител к β 2-гликопротеину класса G. В обсуждении полученных результатов хотелось бы отметить, что при постановке иммуноферментного анализа ведется подсчет концентрации в плазме свободных антител, количество же иммуноглобулинов, связанных с антигеном (с β 2-гликопротеином в данном случае) остается неизвестным; в связи с этим можно предположить, что плазмаферез способствует разрушению комплекса антиген-антитело, приводя к временному увеличению концентрации специфических аутоантител.

В различных источниках часто встречается упоминание о так называемом *rebound*-эффекте, который рассматривается как синдром отмены в фармакотерапии или наблюдается после удаления из крови тех или иных компонентов [3, 6]. Однако явление «обратного роста» уровня иммуноглобулинов подразумевает синтез антител *de novo*. В нашем же случае увеличение концентрации аутоантител наблюдается непосредственно после процедуры, что исключает возможность компенсаторного эффекта. Кроме того, в 2002 г. А. Goldammer и соавт. проводили исследование на предмет обратной связи между концентрацией иммуноглобулинов и их синтезом. Показано, что после проведения афереза у здоровых доноров уровень иммуноглобулинов класса G (общих и специфических) оставался неизменным через сутки и далее, что исключает наличие обратной связи. Был сделан вывод, что синтез антител *de novo* происходит лишь при наличии антигена [7, 8]. При аутоиммунной патологии синтез аутоантител *de novo* возможен, однако прием пациентами глюкокортикостероидов замедляет этот процесс. Следовательно, предположение, что резкое повышение уровня антител до нормы и выше сразу после проведения плазмафереза обусловлено «обратным ростом» вызывает сомнения.

Следует признать, что механизм, посредством которого осуществляется увеличение концентрации антител, до конца не ясен и требует дальнейшего изучения. Возможно, плазмаферез способствует сдвигу равновесия «свободный–связанный» в сторону свободных антител посредством отрыва иммуноглобулинов от мишеней и выходу их в плазму с последующей регистрацией методом ИФА. Другими словами, низкий уровень специфических антител в плазме крови

больных АФС и даже их отсутствие у пациентов при наличии клинических проявлений может означать, что заболевание находится в активной фазе развития (специфические антитела связаны с антигенами), а не в ремиссии. Это предположение находит подтверждение по данным наших исследований, когда в плазме пациентов с ярко выраженной симптоматикой уровень аутоантител не превышает нормальных значений. Данный факт позволяет пересмотреть привычную тактику лечения пациентов и интерпретации результатов лабораторных исследований. Возможно, подход к плазмаферезу как симптоматической терапии в лечении аутоиммунных заболеваний, и АФС в частности, следует пересмотреть. Речь идет о высвобождении аутоантигенов, т. е. воздействии на патогенез заболевания, с последующим удалением аутоантител в процессе манипуляции, которое должно способствовать снижению иммунологической нагрузки на организм пациента и развитию стойкого и длительного положительного эффекта.

В связи с наличием феномена роста уровня антител после процедуры плазмафереза особый интерес представляет количественная оценка концентрации циркулирующих иммунных комплексов. Иммунные комплексы образуются при присоединении антител к антигенам. Взаимодействие иммунных комплексов с растворимыми клеточными эффекторными системами приводит к элиминации связанных антигенов. Иммунные комплексы формируются постоянно в результате иммунного ответа организма. Поскольку они быстро разрушаются, в организме здорового человека они не определяются или определяются только в низких концентрациях.

Уровень ЦИК дает определенное представление об активности иммунного воспаления и эффективности проводимой терапии, а их снижение является хорошим прогностическим критерием. По нашим данным, исходный уровень ЦИК в плазме практически всех пациентов находится в пределах нормы (норма 18–80 у. е.), а после проведения большеобъемного плазмафереза достоверно снижаются. Это может быть связано как с фактической элиминацией ЦИК в процессе процедуры, так и с их разрушением в кровяном русле. Как показали наши исследования, имеется прямая зависимость концентрации специфических антител и уровня ЦИК. Это может означать, что с увеличением числа свободных антител увеличивается и число образующихся с их участием иммунных комплексов.

Корреляционный анализ показал обратную статистически достоверную зависимость концентрации циркулирующих иммунных комплексов с концентрацией общих иммуноглобулинов класса G и M. на основании данного факта можно предположить, что в процессе плазмафереза снижение концентрации общих иммуноглобулинов может происходить, в том числе и за счет образования ЦИК.

Установлено, что после большеобъемного ПФ наблюдается уменьшение концентрации IgG на 15,9 %, IgM — на 1,24 %, аутоантител к β 2-гликопротеину (IgM) — на 13,3 %, аутоантител к протромбину (IgM/IgG) — на 6,3 %, аутоантител к кардиолипину (IgM/IgG) — на 23,9 %. После завершения курса лечения с применением большеобъемного ПФ у пациентов отмечалось улучшение общего состояния, выражающееся в нормализации психоэмоционального статуса, уменьшении интенсивности кожных высыпаний, болей в суставах. Ретроспективный анализ результатов лечения в течение года показал, что ни у одной из пациенток

не было зарегистрировано случаев повторных тромбофлебитов, мозговых инсультов или инфарктов миокарда. Обнаружено, что концентрация аутоантител к $\beta 2$ -гликопротеину класса G увеличивается после большеобъемного ПФ. Установлено, что увеличение концентрации специфических аутоантител к $\beta 2$ -гликопротеину является следствием разрушения иммунных комплексов и способствует тем самым уменьшению активности аутоиммунных реакций. Полученные результаты НИР свидетельствуют о целесообразности включения в курс комплексной терапии пациентов с АФС метода большеобъемного плазмафереза.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Antiphospholipid immunoglobulin G antibodies reduce annexin-V levels on syncytiotrophoblast apical membranes and in culture media of placental villi* / J. H. Rand [et al.] // N. Engl. J. Med. 1997. Vol. 337. P. 154–160.
2. *Giannakopoulos, B. Current concepts on the pathogenesis of the antiphospholipid syndrome* / B. Giannakopoulos // Blood. 2007. Vol. 109. P. 2–5.
3. *Clinical study and follow-up of 100 patients with the antiphospholipid syndrome* / F. J. Muñoz-Rodríguez [et al.] // J. Arthritis. Rheum. 2000. Vol. 43. P. 2349–2358.
4. *Воробьев, С. И. Нерешенные проблемы трансфузиологии* / С. И. Воробьев // Материалы междунар. науч.-практ. конф. «Проблемы бескровной хирургии». М., 2001. С. 16–20.
5. *Экстра- и интракорпоральные методы коррекции гомеостаза в клинической практике : метод. рекомендации* / В. В. Кирковский [и др.]. Минск, 1999. 33 с.
6. *Ordi-Ros, J. Clinical and therapeutic aspects associated to phospholipid binding antibodies (lupus anticoagulant and anticardiolipin antibodies)* / J. Ordi-Ros, P. Pérez-Pemán, J. Monasterio // J. Haemostasis. 1994. Vol. 24(3). P. 165–174.
7. *Influence of plasma immunoglobulin level on antibody synthesis* / A. Goldammer [et. al.] // J. Blood. 2002. Vol. 100(1). P. 353–355.
8. *Rose, N. R. Infection, mimics, and autoimmune disease* / N. R. Rose // J. Cline. Invest. 2001. Vol. 107. P. 943–945.