

¹Макаревич Д. А., ²Дусь Д. Д., ²Рябцева Т. В., ¹Голубович В. П.,
²Кирковский В. В.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА СОРБЦИОННОЙ СПОСОБНОСТИ ПО СВЯЗЫВАНИЮ IGG ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМИ ГЕМОСОРБЕНТАМИ

¹ Институт биоорганической химии НАН Беларуси, г. Минск

² ЦНИЛ УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск

Биоспецифическая сорбция активно применяется для лечения заболеваний, сопровождающихся нарушениями иммунитета — гиперпродукцией антител, аутоантител и циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК). Процентная доля иммуноглобулинов класса G (IgG) среди иммуноглобулинов человека в норме составляет около 80 %. Наиболее широко известной и общепризнанной сорбционной системой для связывания IgG при заболеваниях, сопровождающихся его избыточным уровнем, является иммуносорбент фирмы «Excoqium», Швеция. Также известны сорбенты для избирательной сорбции IgG: разработанные фирмой «Asachi» (Япония) IMPH-350 с аминокислотой фенилаланин в качестве лиганда и IMTR-350, лигандом в котором выступает триптофан. Вышеуказанные сорбенты способны адсорбировать ЦИК, антифосфолипидные антитела при антифосфолипидном синдроме, антиацетилхолиновые антитела у больных с миастенией. Матрицей для этих гемосорбентов является сефароза. Отличительной особенностью и важным преимуществом этого сорбента является возможность использования его многократно у одного пациента, недостатком — плохая гемосовместимость и поэтому на вышеуказанном сорбенте можно осуществлять только плазмасорбцию, что технически значительно усложняет методику проведения манипуляции и увеличивает стоимость лечения. Общим недостатком для всех вышеуказанных сорбентов является низкая гемосовместимость и высокая стоимость.

Таким образом, разработка и изучение гемосорбентов лишенных вышеперечисленных недостатков является актуальным направлением исследований по снижению концентрации аутоантител в крови пациентов.

Целью настоящей работы было сравнительное исследование экспериментальных образцов гемосорбентов на гемосовместимых матрицах: полиакриламидной и полиэтиленовой модифицированной акриловой кислотой. В качестве селективных лигандов в сорбентах были использованы аминокислоты фенилаланин и триптофан (ПАГ-Trp, Phe, ПЭ (а) Trp, Phe).

Объектом исследования сорбционной активности исследуемых образцов сорбентов являлась плазма пациентов с аутоиммунными заболеваниями (ревматоидный артрит, системная красная волчанка). Плазму крови для экспериментов получали после проведения среднеобъемного лечебного ПФ. Изучение сорбционной активности экспериментальных образцов гемосорбентов проводили в условиях динамического стендового эксперимента. Эксперимент проводили в соотношении экспериментальный образец: плазма 1:5 соответственно. Затем сорбент помещали в массообменник; трижды промывали экспериментальный

образец 0,9 % раствором натрия хлорида (объем раствора зависит от количества экспериментального образца). Далее заполняли массообменник плазмой после предварительного удаления физиологического раствора (для предупреждения эффекта разбавления). Эксперимент проводили 60 минут в режиме рециркуляции, скорость прохождения крови составляла 10 ± 2 мл/мин. Отбор проб для исследования концентрации общего белка и иммуноглобулинов класса G осуществляли каждые 20 мин. Для контрольных экспериментов использовали экспериментальные образцы матриц без лиганда. Уровень иммуноглобулинов класса G оценивали турбидиметрическим методом. Содержание общего белка и его фракций изучали общепринятыми лабораторными методами до и после сорбции. Статистическую оценку полученных результатов проводили с использованием пакета программ Statistica 6.0.

Для определения емкости исследуемых сорбентов по IgG использовали метод снижения количества сорбента в статическом эксперименте, для изменения соотношения сорбент : плазма. Для расчета емкости исследуемых образцов сорбента определяли среднее значение изменения концентрации IgG в плазме. Затем, зная остаточную концентрацию иммуноглобулинов в плазме, рассчитывали сорбционную емкость 1 г сорбента на 1 мл плазмы. Для данного исследования использовали соотношения сорбент : плазма от 1:5 до 1:20.

Провели 11 стендовых экспериментов по изучению сорбционной активности экспериментальных образцов сорбентов. Динамика уровня общего белка (фракции) в плазме крови до и после перфузии представлена в табл. 1.

Таблица 1

Динамика уровня общего белка (фракции) в плазме крови пациентов с аутоиммунной патологией до и после перфузии ($M \pm m$)

Показатель (n = 11)	Исходный				После сорбции			
	экспериментальные гемосорбенты		контрольные образцы матриц		экспериментальные гемосорбенты		контрольные образцы матриц	
	ПАГ Trp, Phe	ПЭ (а) Trp, Phe	ПАГ	ПЭ (а)	ПАГ Trp, Phe	ПЭ (а) Trp, Phe	ПАГ	ПЭ (а)
Общий белок, г/л	78,3 ± 3,1	77,5 ± 2,4	78,0 ± 3,6	78,3 ± 2,9	72,5 ± 3,2	73,1 ± 4,1	77,9 ± 3,5	76,8 ± 3,3
Альбумин, г/л	42,1 ± 2,9	41,8 ± 3,9	42,3 ± 3,0	42,0 ± 2,8	39,0 ± 3,2	40,4 ± 4,8	41,7 ± 3,9	40,6 ± 3,7
Глобулины, г/л	35,6 ± 4,2	35,2 ± 4,4	34,8 ± 3,1	34,4 ± 3,6	28,3 ± 4,5	30,9 ± 4,2	34,2 ± 3,1	34,8 ± 4,0

Результаты экспериментов свидетельствуют о том, что перфузия плазмы через массообменник с триптофан-фенилаланин содержащими образцами гемосорбентов на ПЭ(а) и ПАГ матрицах не приводит к статистически значимым изменениям общего белка, фракции альбуминов и глобулинов. Однако можно отметить тенденцию к снижению фракции глобулинов. Перфузия плазмы через массообменник с контрольными образцами матриц без содержания специфического лиганда не приводит к изменению общего белка плазмы крови.

На рис. 1 представлены результаты изучения динамики концентрации IgG во время сорбции на экспериментальных сорбентах. Во время стендового эксперимента наблюдали достоверное снижение концентрации IgG в плазме крови на

сорбенте ПЭ (а)-Trp, Phe с 9,3 (8,7; 9,9) г/л до 5,9 (5,1; 6,2) г/л к 60 мин динамического эксперимента ($p \leq 0,05$ (Манна–Уитни)). Сорбент на основе полиакриламидной матрицы ПАГ-Trp, Phe также показал достоверное снижение IgG с 9,3 (8,7; 9,9) г/л до 7,1 (6,6; 7,6) г/л в последних пробах динамического эксперимента ($p \leq 0,05$ (Манна–Уитни)).

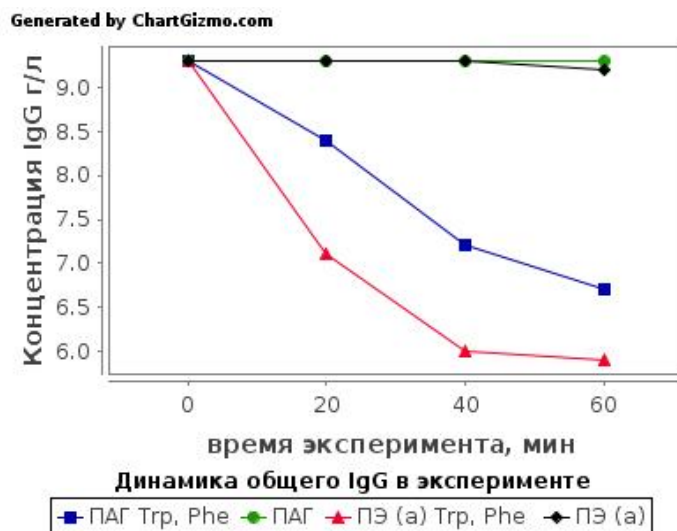


Рис. 1. Динамика общего Ig G в стендовом эксперименте на экспериментальных сорбентах

Достоверных изменений концентрации иммуноглобулина G при сорбции на матрицах без лиганда отмечено не было. Полученные экспериментальные данные позволяют сделать вывод о том, что при использовании ПЭ (а)-Trp, Phe и ПАГ-Trp, Phe сорбентов можно достичь снижения концентрации IgG до 63,3 % и 72 % от исходного уровня соответственно. Также можно высказать предположение о том, эффект снижения концентрации иммуноглобулинов класса G также будет выражен и при использовании сорбентов в цельной крови.

Учитывая полученные данные, следует считать доказанной принципиальную возможность сорбции иммуноглобулинов класса G на экспериментальных биоселективных сорбентах, в качестве лиганда в которых выступают аминокислоты триптофан и фенилаланин.

Результаты исследования сорбционной емкости экспериментальных образцов сорбентов приведены в табл. 2.

Установленная емкость сорбента ПЭ (а)-Trp, Phe составила 52,1 (49,4; 55,1) мг/г сорбента, для сорбента ПАГ-Trp, Phe значение емкости 39,4 (33,6; 45,2). Согласно данным, представленным в таблице, можно сделать заключение о высокой сорбционной емкости экспериментальных сорбентов.

Таблица 2

Сорбционная емкость экспериментальных сорбентов

Модельный раствор (концентрация IgG мг)	Емкость ПЭ(а)-Trp, Phe (мг/г)	Емкость ПАГ-Trp, Phe
5	4,8 (3,7; 5,6)	4,9 (4,4; 5,4)
10	9,7 (8,4; 10,1)	9,6 (8,2; 11,0)
20	19,4 (16,9; 23,4)	19,6 (17,2; 22,0)
50	49,8 (45,2; 51,8)	39,4 (33,6; 45,2)
100	57,1 (55,5; 58,7)	–

Таким образом, доказана принципиальная возможность удаления IgG на экспериментальных селективных сорбентах ПЭ (а)-Trp, Phe и ПАГ-Trp, Phe. Данные сорбенты могут быть рекомендованы как гемосорбенты для включения в комплексную терапию atopического дерматита, системной красной волчанки, миастении гравис.