

**МЕТОД КОМПЛЕКСНОГО ЛЕЧЕНИЯ
ПАЦИЕНТОВ С СИСТЕМНОЙ КРАСНОЙ
ВОЛЧАНКОЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ
МЕТОДИКИ БИОСПЕЦИФИЧЕСКОЙ СОРБЦИИ**

Инструкция по применению

Учреждение-разработчик: лаборатория гемо- и лимфосорбции
Центральной научно исследовательской
лаборатории Белорусского государст-
венного медицинского университета

Авторы: д-р мед. наук, проф. В. В. Кирковский; д-р мед. наук, проф.
Н. П. Митьковская; канд. мед. наук, доц. Д. В. Введенский;
канд. мед. наук И. М. Ровдо; Д. А. Макаревич; Д. Д. Дусь;
А. В. Старостин

Минск БГМУ 2010

В последние годы отмечается увеличение частоты ревматических заболеваний с аутоиммунными механизмами патогенеза на 5–12 % в течение каждых пяти лет. Показатель временной утраты трудоспособности вследствие системных заболеваний соединительной ткани составляет более 80 случаев на 100 работающих. Первичную инвалидность устанавливают у 70–80 % пациентов, подавляющее большинство из которых лица молодого возраста. Причем в структуре первичной инвалидности эта патология сопоставима с ишемической болезнью сердца.

Системная красная волчанка (СКВ) — заболевание, относящееся к группе системных заболеваний соединительной ткани с неуточненной этиологией. Патогенетическую основу ее составляют наследственно-обусловленные аутоиммунные реакции, являющиеся следствием сенсибилизации организма к различным группам аутоантигенов в нормальных условиях скрытых от иммунологического надзора. Описана роль генов HLA B7, A-1, B35, DR-2, DR-3 в формировании генетической предрасположенности к данному заболеванию. Для реализации иммунного ответа на собственные антигены необходимо воздействие провоцирующих факторов, к которым относятся инсоляция, переохлаждение, психологические и физические травмы, беременность, рассматривается роль некоторых вирусов. Также существует прямая зависимость между развитием системной красной волчанки и сопутствующей аутоиммунной патологией, например антифосфолипидный синдром, системный склероз.

СКВ характеризует прогрессирующий системный воспалительный процесс, приводящий к накоплению в организме циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК), аутоантител (в том числе антиядерных и анти-ДНК), грубодисперсных белков, криоглобулинов и т. д., что является причиной развития грубых системных расстройств. Возникающее иммунокомплексное воспаление приводит к поражению многих органов и систем, что проявляется клиническим полиморфизмом (лихорадка, снижение массы тела, кожный синдром, капилляриты, изменения слизистых оболочек, синдром Рейно, суставной синдром, мышечный синдром, генерализованная лимфаденопатия, висцериты: нефрит, кардит, легочно-плевральный синдром, поражение нервной системы, абдоминальный синдром).

В качестве медикаментозной терапии у данных пациентов применяются глюкокортикостероиды (ГКС), иммунодепрессанты, нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП), аминохинолины, гепарин-курантиловая схема. Однако используемые фармакотерапевтические схемы лечения не всегда позволяют получить положительный эффект: сохраняется высокая клиническая и иммунологическая активность течения заболевания, наблюдается рефрактерность к проводимой терапии, в связи с развитием осложнений от применения ГКС появляется необходимость снижения дозы ГКС. Данное обстоятельство оставляет актуальной про-

блему изучения эффективности и поиска новых методов лечения СКВ в сочетании со стандартными протоколами терапии данной патологии.

Одним из таких патогенетически обоснованных методов является биоспецифическая гемосорбция, позволяющая элиминировать патогенетически значимые аутоантитела к ДНК, которые могут входить в состав циркулирующих иммунных комплексов. Это ведет к освобождению клеток от адсорбированных на их поверхности продуктов, повышению функциональной активности клеток, улучшает микрогемодинамику и создает условия для более эффективной реализации лечебного действия фармакологических средств.

В литературе описано применение экстракорпоральных методов лечения при высокой клинико-лабораторной активности процесса, отсутствии эффекта от проводимого медикаментозного лечения или его непереносимости, быстро прогрессирующем течении. Как показали наши исследования, включение в комплексную терапию этих пациентов различных модификаций лечебного плазмафереза позволяет в большинстве случаев добиться существенного улучшения результатов лечения. Тем не менее, необходимость проведения заместительной терапии белковыми препаратами крови создает ряд проблем, касающихся антигенного стресса, угрозы заражения инфекциями, а также высокой стоимости этих препаратов.

В этой связи за рубежом были созданы сорбционные колонки, способные извлекать из плазмы крови иммунные комплексы, содержащие антитела к ДНК (Япония, Украина). Однако низкая гемосовместимость и высокая стоимость последних резко ограничивают возможность их использования в широкой клинической практике УЗ Беларуси.

Настоящая инструкция посвящена методике комплексной терапии пациентов СКВ с использованием биоспецифической сорбции на разработанном нами гемосорбенте «Нуклеосорб». Использование данного вида гемосорбции позволяет улучшить результаты комплексного лечения этих пациентов.

Перечень необходимого медицинского оборудования

1. Модуль массообменный однократного применения для гемосорбции, содержащий гемосорбент «Нуклеосорб».
2. Перистальтический насос, кровопроводящие магистрали, шприцы, катетеры для внутривенных инъекций, стерильный перевязочный материал.
3. Гепарин.
4. Глюкокортикостероидные гормоны: солугедрол 250 мг, преднизолон 30 мг.

Показания к применению

Показаниями для применения биоспецифической гемосорбции на селективном сорбенте «Нуклеосорб» в комплексной терапии СКВ являются:

1. Высокая клинико-иммунологическая активность заболевания, неподдающаяся коррекции традиционной медикаментозной терапии.

2. Непереносимость препаратов базисной терапии и поливалентная аллергия.

3. Необходимость снижения дозы глюкокортикостероидных гормонов в связи с развитием осложнений от применения последних (синдром Иценко–Кушинга, стероидный диабет, гипокалиемия, тяжелая артериальная гипертензия, остеопороз, асептический некроз костей, склонность к тромбоэмболии, язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки, почечная недостаточность, психические расстройства, стероидная катаракта, системные микозы).

Противопоказания к применению

Абсолютные противопоказания:

- 1) продолжающееся кровотечение;
- 2) агональное состояние.

Относительные противопоказания:

- 1) инфаркт миокарда (острый период);
- 2) гипотензия (систолическое артериальное давление ниже 80 мм рт. ст.), гипертензия (систолическое артериальное давление выше 200 мм рт. ст.);
- 3) наличие потенциальных источников кровотечения;
- 4) хронические заболевания сердечно-сосудистой и бронхо-легочной систем в стадии декомпенсации;
- 5) тяжелая анемия с тромбоцитопенией;
- 6) возраст старше 75–80 лет;
- 7) онкологические заболевания.

Описание технологии использования метода

В начале операции производится пункция и катетеризация двух периферических вен. Гемосорбция проводится по вено-венозному типу с использованием перистальтического насоса. В качестве антикоагулянта используется гепарин в дозе 100 ± 25 МЕ на кг массы тела пациента внутривенно. Скорость перфузии составляет 50 ± 10 мл/мин, объем перфузии — до 1–1,5 объема циркулирующей крови. Кровь поступает в колонку с биоспецифическим гемосорбентом и возвращается в сосудистое русло пациента. Курс лечения состоит из 3–5 операций через сутки.

Оценка результатов лечения с использованием биоспецифической сорбции проводится на основании комплексного клинического, лабораторного, инструментального и функционального обследования пациентов СКВ до и после манипуляции, а также до и после начала комплексной терапии. Изучаемые показатели должны характеризовать суммарную степень активности волчаночного процесса, тяжесть его течения, степень поражения внутренних органов.

Комплексное обследование включает в себя:

1. Субъективную оценку активности заболевания по мнению врача и пациента с использованием визуальной шкалы.
2. Объективное исследование (термометрия, измерение массы тела, осмотр кожных покровов, слизистых оболочек, исследование суставов, сердечно-сосудистой, бронхо-легочной систем, ЖКТ, почек).
3. Лабораторные исследования:
 - общий анализ крови;
 - общий анализ мочи;
 - биохимический анализ крови (мочевина, креатинин, АСТ, АЛТ, общий белок, протеинограмма, глюкоза, СРБ);
 - коагулограмма;
 - иммунологическое исследование крови (антитела к нативной ДНК, LE-клетки);
4. Инструментальные исследования (ЭКГ, Р-графия органов грудной клетки, ЭхоКГ, УЗИ органов брюшной полости, фиброгастродуоденоскопия, радиоизотопная ренография, реоэнцефалография, электроэнцефалография).

Возможные осложнения и ошибки при выполнении

1. Вследствие технических причин (неисправность аппаратуры, перекручивание кровопроводящих магистралей, и/или их разрыв с последующей разгерметизацией всей системы: воздушная эмболия, гемолиз и др.).
2. Осложнения, связанные с использованием антикоагулянтов:
 - геморрагические — вследствие избытка вводимых антикоагулянтов;
 - тромбообразование — недостаток вводимых антикоагулянтов.

При соблюдении правил методики проведения гемосорбции, а также надлежащем мониторинге статуса пациентов в постсорбционном периоде, эти осложнения не регистрируются.

Литература

1. *Возможности биоспецифической сорбции в лечении пациентов с бронхиальной астмой* / И. М. Ровдо [и др.] // Европейский конгресс по астме : науч. тр. / под ред. Р. И. Сепиашвили. М., 2001. С. 127–128.
2. *Горчаков, В. Д.* Селективные гемосорбенты / В. Д. Горчаков, В. И. Сергиенко. М. : Медицина, 1989. С. 139–147.
3. *Лопухин, Ю. М.* Экстракорпоральная иммунокоррекция / Ю. М. Лопухин, Д. В. Кулаев, Л. В. Ковальчук // Клиническая медицина. 1986. № 3. С. 11–17.
4. *Митьковская, Н. П.* Методы экстракорпоральной коррекции гомеостаза и интенсивная медикаментозная терапия системных заболеваний соединительной ткани / Н. П. Митьковская. Минск, 2004. 260 с.
5. *Покровский, С. Н.* Технология терапевтического афереза — обзор возможностей / С. Н. Покровский // Сб. материалов 1-го объединенного конгр. «Актуальные проблемы экстракорпорального очищения крови, нефрологии и гемафереза». М., 2002. С. 173.
6. *Чучалин, А. Г.* Клиническое применение иммуносорбции : проблемы и перспективы / А. Г. Чучалин, Ю. С. Лебедин, Л. А. Раудла // Вест. Акад. мед. наук. СССР. 1990. № 3. С. 44–48.
7. *Чучалин, А. Г.* Новые методы лечения : экстракорпоральная специфическая иммуносорбция / А. Г. Чучалин // Итоги науки и техники. Серия «Иммунология». 1987. Т. 16. С. 146–178.
8. *Клинические иммуноадсорбенты на основе полимерных матриц* / А. Г. Чучалин [и др.] // Биорг. химия. 1988. № 14. С. 154–159.
9. *In vitro investigations with selective adsorbents for IgE and IgM* / E. Behm [et al.] // Biomater. Artif. Cells Artif. Organs. 1997. Vol. 15. № 1. P. 101–111.
10. *Ohashi, A.* [et al.] // Jpn. J. Apheresis 13 (2). 1994. P. 201–202.
11. *Sato, H.* Specific removal of IgE by therapeutic immunoadsorption system / H. Sato, K. Watanabe, Azuma // J. Immunol. Met. 1989. Vol. 118. P. 161–168.

Обоснование целесообразности практического использования биоспецифического гемосорбента «Нуклеосорб».

Разработка и внедрение в клиническую практику современных методик иммуномодулирующей и иммуносупрессивной терапии у части пациентов с системной красной волчанкой (СКВ) не дает позитивных результатов. Сохраняющаяся высокая активность патологического процесса и неуклонное углубление морфофункциональных отклонений, ведущих к ранней инвалидизации и смерти, требует поиска новых, более эффективных методов лечения этой категории пациентов.

Как показали исследования последних лет, включение в комплексную терапию различных модификаций лечебного плазмафереза у этих пациентов чаще всего позволяет уменьшить выраженность специфической воспалительной реакции. Повторное применение такой методики лечения через 6–12 месяцев позволяет существенно замедлить углубление морфофункциональных отклонений, характерных для СКВ [4].

Тем не менее, широкое использование данной методики сопряжено с рядом проблем, главной из которых является необходимость использования заместительной инфузионной терапии белковыми препаратами крови. Разработка методов криофереза и плазмасорбции в известной мере снимает остроту данной проблемы. Однако тяжелая гипопроотеинемия, связанная с развивающейся у этих пациентов патологией почек с одной стороны, и необходимость адекватной коррекции волемического и онкотического показателей с другой, диктует необходимость разработки новой, более эффективной методики извлечения из жидкостных сред организма патогенетически значимого фактора этой патологии — антител к ДНК пациентов.

Учитывая вышесказанное, весьма перспективным направлением является разработка сорбционных технологий, основанных на принципе биоспецифической (селективной) гемосорбции. Для ее проведения используются биоспецифические сорбенты, способные извлекать из крови конкретные метаболиты, а также находящиеся в ней белки, пептиды, липиды и их производные [1–3, 5–8].

Схематически экстракорпоральная специфическая иммуносорбция основана на принципе аффинной хроматографии и заключается в следующем. Вещества, способные специфически взаимодействовать с патогенными компонентами крови или плазмы крови, иммобилизируются на твердофазном носителе. Через такой сорбент пропускается кровь или плазма, в процессе чего и достигается эффект очищения от конкретного патогенетически значимого агента. Процесс взаимодействия между сор-

бентом и извлекаемыми из биологических жидкостей субстанциями может быть специфическим по типу антиген-антитело, либо селективным — неиммунохимическим [2, 3, 5–8].

Таким образом, методика биоспецифической сорбции позволяет осуществлять строго специфичное воздействие на организм и практически полностью исключает необходимость заместительной терапии и возникновение связанных с ней осложнений.

Фирмой «Asachi» (Япония) разработан сорбент IMPH-350 на основе фенилаланина и триптофана [7–10]. Вышеуказанный сорбент способен адсорбировать ЦИК, антифосфолипидные антитела при антифосфолипидном синдроме, анти-ДНК антитела при СКВ и антиацетилхолиновые антитела у пациентов с миастенией. Недостатком вышеуказанного сорбента является низкая гемосовместимость и высокая стоимость (1000–3000 €).

Разработанный нами биоспецифический гемосорбент «Нуклеосорб» предназначен для избирательного удаления аутоантител к нативной двуцепочечной ДНК из крови, плазмы и других биологических жидкостей. Гемосорбент представляет собой полиакриламидный гидрогель, сшитый N,N^I -метиленбисакриламидом, с иммобилизованным в нем биоспецифическим лигандом — нативная ДНК. Сорбент помещён в модуль массообменный однократного применения для гемосорбции — ММГ (ТУ РБ 14750319.001-95).

Модуль с сорбентом заполнен изотоническим 0,9%-ным раствором натрия хлорида для инъекций (ФС 42-2595-88) и помещен в полиэтиленовый пакет (индивидуальная упаковка). Гемосорбцию на указанном гемосорбенте проводят в соответствии с методикой проведения биоспецифической гемосорбции согласно методическим рекомендациям «Экстра- и интракорпоральные методы коррекции гомеостаза в клинической практике», утвержденных Минздравом Республики Беларусь в качестве официального документа 14.07.1999 г.

Проведенные нами исследования показали, что концентрация общего белка, альбуминов и глобулинов плазмы крови после гемосорбции с использованием «Нуклеосорба» не изменялась. Полученный результат является важным показателем для характеристики гемосорбентов. Отсутствие достоверных изменений в гемограмме до и после манипуляции говорит о высокой гемосовместимости данного сорбента.

При использовании ДНК-сорбента, содержащего в качестве биоспецифического лиганда дезоксирибонуклеиновую кислоту + белки-гистоны, а в качестве матрицы полиакриламидный гидрогель можно добиться снижения аутоантител к нативной ДНК на 35–40 %.

Стоимость разработанного нами биоспецифического гемосорбента «Нуклеосорб» составляет 50 \$.

Разработанная комплексная методика лечения позволит повышать эффективность лечения СКВ за счёт купирования обострения волчаночного процесса, достигать сохранения трудоспособности пациентов, снижения уровня инвалидизации. Внедрение разработанной нами методики даст ощутимый экономический эффект.

Таким образом «Нуклеосорб» является дешёвым, доступным, высокоэффективным средством лечения СКВ, имеет неоспоримые преимущества по сравнению с зарубежными аналогами, и в полной мере отвечает требованиям, предъявляемым к современным методам эфферентной терапии.

УТВЕРЖДАЮ
 Главный врач УЗ «9-я ГКБ»
 _____ В. С. Кушниренко
 « ____ » _____ 2008 г.

Отчёт о предварительных медицинских испытаниях биоспецифического гемосорбента «Нуклеосорб»

В соответствии с направлением УП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении» от 22.05.2008 г. № 7.86986 дело № 8951 на базе УЗ «9-я ГКБ г. Минска» проведены медицинские испытания характера лечебного действия биоспецифического анти-ДНК гемосорбента «Нуклеосорб». Биоспецифическая анти-ДНКазная гемосорбция проведена 5 пациентам с осложнённой формой СКВ, медикаментозное лечение которых не давало отчётливого лечебного эффекта, а у одной пациентки проведение такой терапии в полном объёме было невозможно в связи с её непереносимостью.

Проведено изучение характера лечебного действия комплексной терапии с применением гемосорбента «Нуклеосорб» до и после начала лечения, а также до и после очередной манипуляции. Всем пациентам было выполнено по 3 операции гемосорбции с интервалом от одних до трёх суток. Средний возраст пациентов составил $31,4 \pm 3,0$ года. Длительность заболевания составляла от 1 до 12 лет, в среднем — $5,9 \pm 0,9$ года.

Всем пациентам было проведено клинико-лабораторное обследование до и после лечения, включающее осмотр, сбор анамнестических данных, исследование общих анализов крови и мочи, биохимических анализов крови, определение уровня антител к нативной ДНК (табл. 1, 2).

Таблица 1

Оценка общей эффективности биоспецифической гемосорбции на сорбенте «Нуклеосорб»

Проверяемый параметр	Методика испытаний, согласно программе
Оценка показателей гемодинамики	Определение ЧСС, АД (систолического, диастолического, среднего) каждый час в процессе гемосорбции и на следующий день после нее
Оценка показателей общего клинического анализа крови	Определение эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов, формулы крови. СОЭ до начала и в течение часа после гемосорбции
Оценка биохимических показателей крови	Определение общего белка, альбумина, глобулинов, среднемолекулярных пептидов, аутоантител к н-ДНК

**Результаты проверки эффективности биоспецифической гемосорбции
на сорбенте «Нуклеосорб»**

Параметры	До ГС	После ГС	Р до ГС	Р после ГС
ЧСС, уд/мин	74 ± 4	78 ± 2	P > 0,05	P > 0,05
АД ср., мм рт. ст.	66 ± 5	70 ± 3	P > 0,05	P > 0,05
Клинический анализ крови:				
Эритроциты × 10 ¹² /л	3,2 ± 0,6	3,3 ± 0,4	P > 0,05	P > 0,05
Лейкоциты × 10 ⁹ /л	5,4 ± 0,5	6 ± 0,4	P > 0,05	P > 0,05
Тромбоциты × 10 ⁹ /л	148 ± 30	136 ± 25	P > 0,05	P > 0,05
СОЭ, мм/ч	15 ± 3	14 ± 3	P > 0,05	P > 0,05
Биохимический анализ крови:				
Общий белок, г/л	60,9 ± 4,8	58,8 ± 2,3	P > 0,05	P > 0,05
Альбумин, г/л	33,2 ± 1,4	32,8 ± 1,9	P > 0,05	P > 0,05
Среднемолекулярные пептиды, г/л	0,59 ± 0,15	0,54 ± 0,17	P > 0,05	P > 0,05
Аутоантитела к н-ДНК	245,1	165,5	P < 0,05	P < 0,05

После проведения клинико-лабораторного обследования по завершению лечения с использованием ГС отмечено снижение частоты встречаемости проявлений люпус нефрита на 20 % (уменьшение отеочного синдрома, протеинурии, стабилизация цифр артериального давления), суставного синдрома — на 40 % (исчезновение артралгий), синдрома Рейно — на 20 %, кожных проявлений заболевания — на 20 % (исчезновение синдрома «бабочки», фотосенсибилизации). Кроме того, наблюдалась нормализация температуры тела, исчезновение изменений слизистых у пациентов после проведения сеансов биоспецифической ГС.

При оценке динамики лабораторных показателей отмечено уменьшение концентрации антител к нативной ДНК в среднем на 33 % по сравнению с исходной.

Кроме того, по завершению курса ГС не выявлено снижения уровня общего белка по сравнению с исходным.

Таким образом, комплексное лечение пациентов СКВ с применением методов экстракорпоральной терапии (биоспецифической гемосорбции) оказало положительный клинический эффект, что обусловлено непосредственным влиянием на основные звенья патогенеза, лежащие в основе развития системной красной волчанки. Широкое использование данной методики позволит добиться купирования обострения волчаночного процесса, изменения характера течения заболевания в сторону хронизации, стабилизации клинико-лабораторных показателей, сохранения и восстановления трудоспособности пациентов, снижения уровня инвалидизации.

Главный научный сотрудник
лаборатории гемо- и лимфосорбции
ЦНИЛ БГМУ, д-р мед. наук, проф.

В. В. Кирковский

Зав. 3-й кафедрой
внутренних болезней БГМУ,
д-р мед. наук, проф.

Н. П. Митьковская

Заведующий лабораторией
гемо- и лимфосорбции
ЦНИЛ БГМУ, канд. мед. наук, доц.

Д. В. Введенский

Ассистент кафедры анестезиологии
и реаниматологии БГМУ,
канд. мед. наук

И. М. Ровдо

Науч. сотр. лаборатории гемо-
и лимфосорбции ЦНИЛ БГМУ

Д. Д. Дусь

Науч. сотр. лаборатории гемо-
и лимфосорбции ЦНИЛ БГМУ

А. В. Старостин

Мл. науч. сотр. лаборатории гемо-
и лимфосорбции ЦНИЛ БГМУ

Д. А. Макаревич

Подписано в печать 09.02.10. Формат 60×84/16. Бумага писчая «КюмЛюкс».

Печать офсетная. Гарнитура «Times».

Усл. печ. л. 0,7. Уч.-изд. л. 0,54. Тираж 50 экз. Заказ 158.

Издатель и полиграфическое исполнение:

учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет».

ЛИ № 02330/0494330 от 16.03.2009.

ЛП № 02330/0150484 от 25.02.2009.

Ул. Ленинградская, 6, 220006, Минск.