

616-002.77

Гонтарь И.П.¹, Емельянова О.И.¹, Парамонова О.В.², Маслакова Л.А.¹, Трофименко А.С.^{1,2}

Магнитные сорбенты в экстракорпоральной терапии у больных системной красной волчанкой с антифосфолипидным синдромом

¹ — ФГБНУ «НИИ клинической и экспериментальной ревматологии», 400138, г. Волгоград, ул. Землячки, 76² — Волгоградский государственный медицинский университет, 400131, г. Волгоград, пл. Павших борцов, 1

* e-mail: lar_mas73@mail.ru

Цель исследования — изучить эффективность оригинальных иммобилизованных магнитоуправляемых антигенных сорбентов при терапии антифосфолипидного синдрома (АФС) в сыворотках больных системной красной волчанкой. **Методы.** У 63 больных волчанкой с АФС проводили сорбцию сывороток, содержащих антитела к кардиолипину, в колонке, оборудованной магнитом, в условиях *in vitro*. **Результаты.** Показана высокая эффективность сорбции антител к кардиолипину с помощью разработанного магнитоуправляемого сорбента по сравнению с общеизвестными методиками. Помимо этого, оригинальный сорбент отличался малой травматичностью по отношению к форменным элементам крови, а также низкой неспецифической сорбционной способностью. В результате концентрация антител к кардиолипину в сыворотке крови больных волчанкой достоверно уменьшалась. **Заключение.** Экстракорпоральная сорбция антител к кардиолипину может быть перспективным методом лечения больных красной волчанкой с АФС, способствуя удалению высокопатогенных аутоантител из кровотока.

Ключевые слова: антифосфолипидный синдром, кардиолипин, магнитосорбент.

Для цитирования: Гонтарь И.П., Емельянова О.И., Парамонова О.В., Маслакова Л.А., Трофименко А.С. Магнитные сорбенты в экстракорпоральной терапии у больных системной красной волчанкой с антифосфолипидным синдромом. Патогенез. 2016; 14(3): 42-45.

Для корреспонденции: Маслакова Лариса Александровна, ведущий научный сотрудник ФГБНУ «НИИ клинической и экспериментальной ревматологии». Волгоград. e-mail: lar_mas73@mail.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 15.05.2016

Gontar I.P.¹, Emelyanova O.I.¹, Paramonova O.V.², Maslakova L.A.^{1*}, Trofimenko A.S.^{1,2}

Magnetic sorbents in extracorporeal therapy in patients with systemic lupus erythematosus and antiphospholipid syndrome

¹ — FSBI Research Institute for Clinical and Experimental Rheumatology, 76 Zemlyachki str., Volgograd, 400138 Russia; e-mail: lar_mas73@mail.ru² — Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia

The aim of the study is to investigate the effectiveness of a novel magnetic immobilized antigen sorbents in sera from systemic lupus erythematosus (SLE) patients during antiphospholipid syndrome (APS) therapy. Methods. The immune sorption of the anti-cardiolipin antibody-containing sera from 63 SLE patients with APS was performed in a column equipped with a magnet in *in vitro* conditions. **Results.** The high efficiency of antibody sorption to cardiolipin using a developed magnetic sorbent has been shown in comparison with well-known techniques. In addition, a novel sorbent caused only slight injuries of blood cells and possessed a low nonspecific sorption. As a result, the concentration of serum anti-cardiolipin antibodies was reliably decreased. **Conclusion.** Due to removal of high pathogenic antibodies from the blood flow, an extracorporeal sorption of cardiolipin antibodies may be a promising treatment of SLE patients with APS.

Key words: antiphospholipid syndrome, cardiolipin, magnetic sorbent.

For citation: Gontar I.P., Emelyanova O.I., Paramonova O.V., Maslakova L. A., Trofimenko A.S. Magnetic sorbents in extracorporeal therapy in patients with systemic lupus erythematosus and antiphospholipid syndrome Patogenez. (Pathogenesis, Russian Journal). 2016; 14(3): 42-45 (in Russian).

For correspondence: Maslakova Larisa A., Leading Researcher of FSBI Research Institute for Clinical and Experimental Rheumatology, Volgograd, 400138 Russia; e-mail: lar_mas73@mail.ru

Funding. The study had no sponsorship.

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

Received 15.05.2016

Введение

Наиболее характерные кластеры аутоантител, появляющиеся в организме больных системной красной волчанкой, — антифосфолипидные антитела (АФА), которые способствуют развитию антифосфолипидного синдрома (АФС). Одной из разновидностей таких антител являются антитела к кардиолипину. АФС характеризуется венозным и артериальным тромбозом, хроническим невынашиванием беременности и тромбоцитопенией, возникающими вследствие реакции АФА с фосфолипидными антигенами в эндотелии, нервных клетках и тромбоцитах. АФА реагируют на кардиолипиновые, фосфатидилсериновые и другие липиды внутреннего слоя клеточных мембран. Данные антитела преимущественно относятся к классам IgG и IgM и направлены на отрицательно заряженную фосфодиэфирную группу липидных молекул. Результаты различных ретроспективных исследований говорят о том, что антитела к кардиолипину могут играть серьезную роль в патогенезе образования тромбов и невынашивания беременности [1].

Ранее нами были разработаны иммобилизованные гранулированные магнитоуправляемые сорбенты (МС) с магнитными свойствами, синтезируемые по оригинальному методу [2]. С целью удаления патогенетических антител к кардиолипину у больных красной волчанкой с АФС по этой технологии были созданы препараты с иммобилизованным кардиолипином. Режим иммобилизации кардиолипина был подобран таким образом, чтобы заряженная часть липидной молекулы была ориентирована наружу в гидрофильную реакционную среду и была доступной для взаимодействия с антигенсвязывающим центром Fab-фрагмента специфических иммуноглобулинов (рис. 1).

Цель исследования состояла в изучении эффективности и безопасности иммобилизованных гранулированных магнитоуправляемых сорбентов (МС) для удаления аутоантител к кардиолипину в сыворотках больных волчанкой с АФС в условиях *in vitro*.

Методика

Исследование проводили в соответствии с принципами Хельсинской декларации Международной медицинской ассоциации [3], что подтверждено результатами экспертизы Регионального этического комитета. Исследования проводились при наличии информированного согласия пациентов. Диагноз АФС был подтвержден с помощью критериев Hughes и Harris [4], верификация диагноза красная волчанка выполнялась с помощью критериев ACR [5]. Активность заболевания определяли по шкале SLEDAI [6].

МС с иммобилизованным кардиолипином синтезировали методом эмульсионной полимеризации в потоке газообразного азота, с применением раствора полиметилметакрилата в хлороформе для солюбилизации кардиолипина [2, 7]. Для иммуносорбции *in vitro* 20 мл крови больного, содержащей антитела к кардиолипину, перфузировали с помощью перистальтического микронасоса (LKB, Швеция) со скоростью 25 мл/ч через стеклянную колонку, в рабочую камеру которой помещали 1 мл МС.

Для создания переменного магнитного поля внутри колонки было сконструировано оригинальное устройство, представляющее собой соленоид, создающий осевой и поперечный градиенты магнитного поля (рис. 2).

Напряженность поля была равна 4000–5000 Эрстед, что не оказывало вредного влияния на форменные элементы крови. Это позволило удерживать гранулы во взвешенном состоянии, одновременно придавая им движение в поперечном и продольном направлениях, что препятствовало адгезии частиц сорбента и способствовало лучшему контакту с кровью. Прототипом для сравнения результатов сорбции служил активированный уголь марки ГСУ, помещенный в колонку объемом 1 мл, прочие параметры сорбции были аналогичными.

Определение антител к кардиолипину класса G проводилось до и после сорбции посредством иммунофермент-

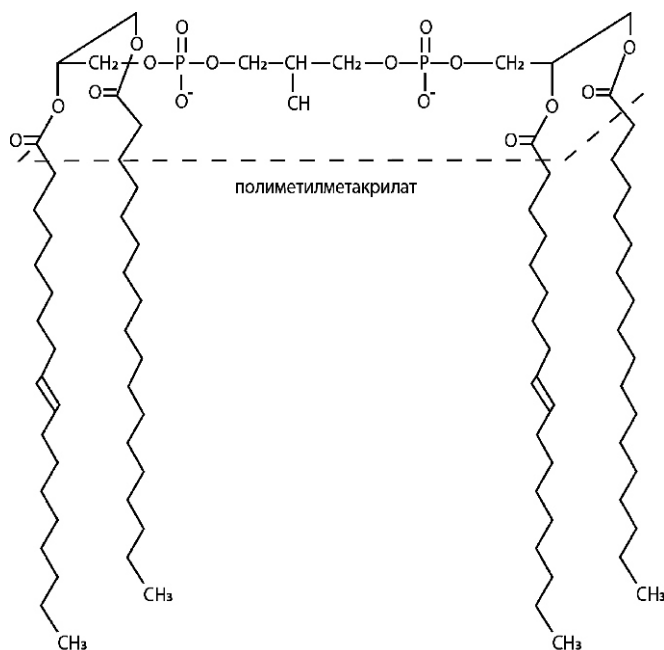


Рис. 1. Строение молекулы кардиолипина (пояснение в тексте).

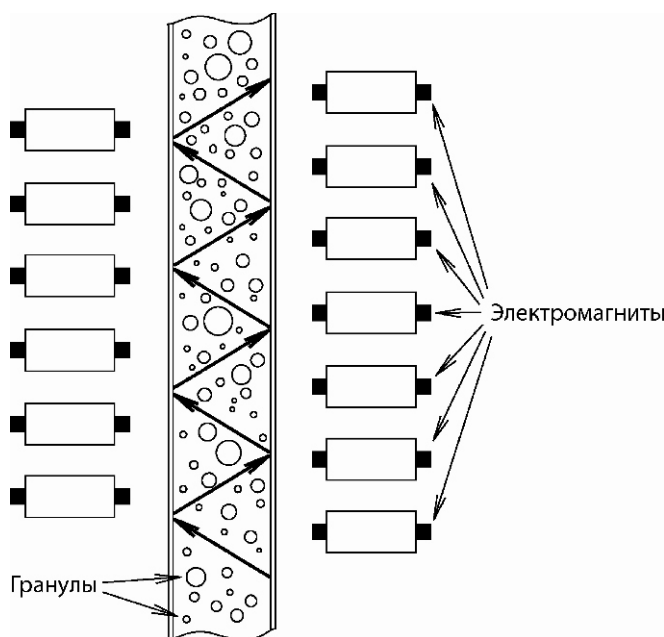


Рис. 2. Схема установки для проведения иммуносорбции в магнитном поле. В центре — стеклянная колонка, содержащая иммобилизованные гранулированные магнитоуправляемые сорбенты и иммобилизованный кардиолипин. Слева и справа — электромагниты.

Содержание форменных элементов и общего белка в образцах перфузируемой крови ($M \pm m$)

Показатели	Сорбция крови на МС		Сорбция крови на угле марки ГСУ	
	До сорбции	После сорбции	До сорбции	После сорбции
Общий белок крови, г/л	60,1 ± 2,5	55,8 ± 2,5	60,0 ± 2,3	45,5 ± 0,7*
Эритроциты, $\times 10^{12}$ /л	3,8 ± 0,09	3,7 ± 0,08	3,8 ± 0,09	3,3 ± 0,08*
Лейкоциты, $\times 10^9$ /л	5,9 ± 0,23	5,7 ± 0,23	5,9 ± 0,22	4,5 ± 0,17*
Тромбоциты, $\times 10^9$ /л	239 ± 8,88	233 ± 8,41	232 ± 9,18	167 ± 6,52*

Примечание. * $p < 0,05$ — по сравнению с исходными значениями.

ного анализа [8], концентрацию антител выражали в единицах оптической плотности (е.о.п.). Результаты выражали как среднее арифметическое (M) ± стандартная ошибка (m), различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

В группу больных красной волчанкой были включены 63 пациента в возрасте 15–62 года (средний возраст $37,9 \pm 1,5$ года), в том числе 57 женщин (90,5%) и 6 мужчин (9,5%). Средняя активность заболевания была равна $7,3 \pm 3,6$ балла по шкале SLEDAI.

При проведении сорбции антител к кардиолипину с использованием МС наблюдалось выраженное уменьшение их концентрации (с исходного уровня $0,390 \pm 0,021$ е.о.п. до $0,141 \pm 0,006$ е.о.п. после сорбции, $p < 0,001$), в то время как при гемосорбции с использованием активированного угля этот показатель составлял $0,371 \pm 0,046$ е.о.п. (рис. 3).

Помимо этого, применение активированного угля сопровождалось значительным повреждением форменных элементов крови (таблица): после сорбции наблюдалось выраженное уменьшение содержания тромбоцитов (на

28%), лейкоцитов (на 25%), эритроцитов (на 13%) и общего белка крови (на 25%). Напротив, при проведении процедуры иммуносорбции с использованием МС изменений в содержании в крови указанных форменных элементов и общего белка не наблюдалось.

Использование магнитного поля для сорбции с использованием МС позволило существенно ограничить утечку гранул за пределы экстракорпорального контура. Кроме того, обеспечение колебательного движения гранул с помощью переменного магнитного поля приводит к резкому снижению тромбообразования. Так, частота тромбообразования в колонке с активированным углем составила 8 случаев из 20 (40%), причем в половине из них тромбы существенно затрудняли ток крови. При проведении иммуносорбции на МС с магнитным полем лишь в 1 случае из 20 наблюдений были обнаружены микротромбы, которые не были препятствием для эффективной иммуносорбции.

Заключение

Полученные результаты свидетельствуют о высокой эффективности сорбции антител к кардиолипину с помощью разработанного магнитоуправляемого сорбента по сравнению с общеизвестными методиками. Помимо этого, оригинальный сорбент отличался малой травматичностью по отношению к форменным элементам крови, а также низкой неспецифической сорбционной способностью. Экстракорпоральная сорбция антител к кардиолипину может быть перспективным методом лечения больных красной волчанкой с АФС, способствуя удалению высокопатогенных аутоантител из кровотока.

Список литературы

1. Гонтарь И.П., Емельянова О.И., Парамонова О.В., Красильников А.Н., Трубенко Ю.А. Получение стабильной иммобилизированной формы кардиолипина как метод промышленного синтеза антигенных нанообъектов. *Современные проблемы науки и образования*. 2014.6: Available at: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=16185> (дата обращения: 01.11.2016).
2. Зборовский А.Б., Гонтарь И.П., Александров А.В., Алехина И.Ю., Трофименко А.С. Возможности использования иммобилизованных наносистем в ревматологии. *Доктор Ру*. 2009. 3: 53-7.
3. Weijer C. Bioethics for clinicians: 10 Research ethics. *CMAJ*. 1997; 156: 1153-7.
4. Hughes G.R.V., Harris E.N., Gharavi A.E. The Anticardiolipin Syndrome. *J. Rheum.* 1986; 13: 486-9.
5. Hochberg M.C. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 1997; 40: 1728.
6. Stoll T., Sutcliffe N., Mach J. Analysis of the relationship between disease activity and damage in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 1997; 40: 1728.

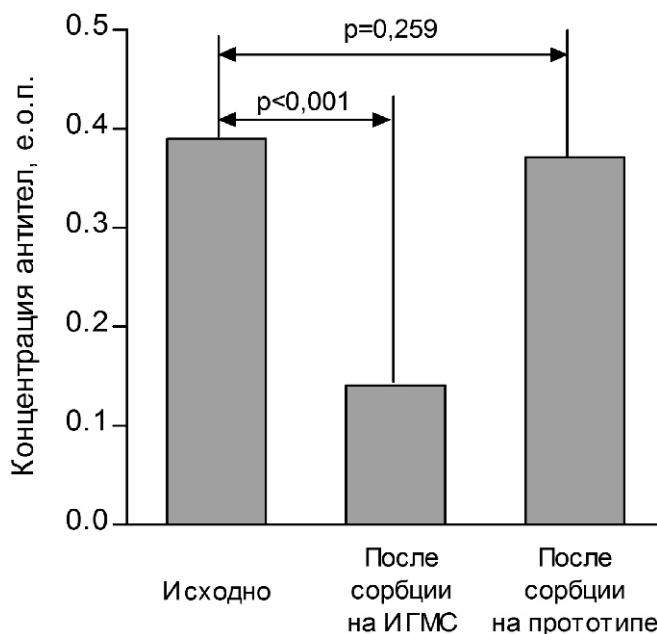


Рис. 3. Влияние магнитосорбента и активированного угля марки ГСУ (прототипа) на уровень антител к кардиолипину у больных системной красной волчанкой. ИГМС — иммобилизованный гранулированный магнитоуправляемый сорбент. По оси ординат — концентрация антител в е.о.п.

hematosus-a-5-yr prospective study. *Rheumatology (Oxford)*. 2004; 43: 1039-1044.

7. Александров А.В., Гонтарь И.П., Алехина И.Ю., Зборовский А.Б. Антигенные нанообъектные системы в диагностике и лечении воспалительных ревматических заболеваний. *Терапевтический архив*. 2009; 12: 48-51.

8. Зборовский А.Б., Гонтарь И.П. Иммуобилизованные антигенные препараты с магнитными свойствами в диагностике и лечении ревматических заболеваний. *Вестник РАМН*. 1999; 5: 45-9.

References

1. Gontar I.P., Emelyanova O.I., Paramonova O.V., Krasilnikov A.N., Trubenko Ju.A. Obtaining stable immobilized form of cardiolipin as a method for the industrial synthesis of antigenic nanoobjects. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2014.6: Available at: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=16185> (accessed: 01.11.2016).

2. Zborovskii A.B., Gontar I.P., Aleksandrov A.V., Alekhina I.Ju., Trofimenko A.S. The prospects of immobilized nanosystems usage in rheumatology. *Doktor.ru*. 2009. 3: 53-7. (in Russian)

3. Weijer C. Bioethics for clinicians: 10 Research ethics. *CMAJ*. 1997; 156: 1153-7.

4. Hughes G.R.V., Harris E.N., Gharavi A.E. The Anticardiolipin Syndrome. *J. Rheum.* 1986; 13: 486-9.

5. Hochberg M.C. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 1997; 40: 1728.

6. Stoll T., Sutcliffe N., Mach J. Analysis of the relationship between disease activity and damage in patients with systemic lupus erythematosus-a-5-yr prospective study. *Rheumatology (Oxford)*. 2004; 43: 1039-1044.

7. Aleksandrov A.V., Gontar I.P., Alekhina I.Ju., Zborovskii A.B. Antigenic nano object systems in the diagnosis and treatment of inflammatory rheumatic diseases. *Terapevticheskii arkhiv*. 2009; 12: 48-51. (in Russian).

8. Zborovskii A.B., Gontar I.P. Immobilized antigenic preparations with magnetic properties in the diagnosis and treatment of rheumatic diseases. *Vestnik RAMN*. 1999; 5: 45-9. (in Russian).

Сведения об авторах

Гонтарь Илья Петрович, доктор мед. наук, профессор, зав. лабораторией клинической иммунологии ФГБНУ «НИИ клинической и экспериментальной ревматологии», Волгоград

Емельянова Ольга Ивановна, ведущий научный сотрудник ФГБНУ «НИИ клинической и экспериментальной ревматологии», Волгоград, e-mail: lar_mas73@mail.ru

Парамонова Ольга Владиславовна, кандидат мед. наук, ассистент кафедры госпитальной терапии Волгоградского государственного медицинского университета. Волгоград, e-mail: stella243@mail.ru

Маслакова Лариса Александровна, ведущий научный сотрудник ФГБНУ «НИИ клинической и экспериментальной ревматологии». Волгоград, e-mail: lar_mas73@mail.ru

Трофименко Андрей Степанович, ведущий научный сотрудник ФГБНУ «НИИ клинической и экспериментальной ревматологии». Волгоград, e-mail: a.s.trofimenko@mail.ru