

<https://doi.org/10.36396/MS.2019.14.03.004>

Сравнительная характеристика сорбентов для удаления иммуноглобулинов (сравнение *in vitro*)

М.И. АФАНАСЬЕВА, О.А. ДМИТРИЕВА, О.И. АФАНАСЬЕВА, И.Ю. АДАМОВА, П.А. ЛЕВАШОВ, Е.Д. ОВЧИННИКОВА, С.Н. ПОКРОВСКИЙ

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» Минздрава РФ, Москва, Россия

Цель исследования. Методы терапевтического афереза в мировой клинической практике считаются эффективными для лечения тяжелых заболеваний аутоиммунной природы в качестве как первой, так и второй линии терапии. В настоящее время для специфического удаления иммуноглобулинов (Ig) широко используются различные плазмасорбенты с иммобилизованными природными и синтетическими лигандами. Нами был синтезирован новый сорбент, пригодный для гемоперфузии. Предлагаемая работа посвящена исследованию свойств гемосорбента в сравнении с одним из широко используемых плазмасорбентов. **Материал и методы.** В работе были использованы сорбент с поликлональными антителами к иммуноглобулину G человека (плазмасорбент) и сорбент с синтетическим лигандом, иммобилизованным на макрогранулированную матрицу (гемосорбент). Оценивали динамику концентрации различных классов и подклассов IgG, специфических антифосфолипидных и анти-ДНК- аутоантител, а также С-реактивного белка (СРБ) в условиях проведения экспериментов *in vitro*. **Результаты.** Исследованные сорбенты обладали сравнимой эффективностью удаления IgG и IgA (60 и 32% против 47 и 35% на плазмо- и гемосорбенте соответственно). Однако IgM связывались только с плазмасорбентом (28%). При этом гемосорбент с большей эффективностью связывал подклассы IgG3 и IgG4, а также специфические аутоантитела против двухцепочечной (дц) и денатурированной одноцепочечной (оц) ДНК. В отличие от плазмасорбента гемосорбент был способен с высокой эффективностью связывать и удалять из плазмы СРБ. Гемосорбент с иммобилизованным синтетическим лигандом был инертен относительно клеток крови и обладал гемосовместимостью в экспериментах *in vitro* при перфузии цельной крови. **Выводы.** Как плазмасорбент, так и гемосорбент, одинаково эффективно удаляют Ig основных классов (IgG и IgA), подклассы IgG и специфические антифосфолипидные и анти-ДНК аутоантитела. Создание сорбента для удаления IgG, подходящего для перфузии цельной крови, позволит расширить применение методов терапевтического афереза для лечения пациентов с аутоиммунными и, возможно, сопутствующими сердечно-сосудистыми заболеваниями.

Ключевые слова: иммуносорбент, аутоиммунные заболевания, антифосфолипидный синдром, атеросклероз, С реактивный белок, IgG аферез.

Sorbents for immunoglobulin apheresis (*in vitro* comparison study)

AFANASIEVA M.I., DMITRIEVA O.A., AFANASIEVA O.I., ADAMOVA I.YU., LEVASHOV P.A., OVCHINNIKOVA E.D., POKROVSKY S.N.

Institute of Experimental Cardiology of «National Medical Research Center of Cardiology», RF Ministry of Health

Background. Therapeutic apheresis methods are applied in the world clinical practice as one of the effective approaches for treatment of severe autoimmune diseases, both as first-line and second-line therapy. Currently plasmatorbents with immobilized native and synthetic ligands are widely used for specific removal of immunoglobulins. We have developed and investigated the new hemosorbent and compared it with one of the used plasmatorbents. **Methods.** In our study we've compared immunosorbent with sheep polyclonal antibodies against human immunoglobulin G and the sorbent with synthetic ligand, immobilized on cross-linked macro beads agarose matrix. We've tested *in vitro* at the same conditions the efficiency of removal of Ig classes and subclasses, autoantibodies against DNA and antiphospholipid autoantibodies, and also C-reactive protein. **Results.** Both sorbents have almost equal efficiency of IgG and IgA removal — 60% and 32% for plasmatorbent and 47% and 35% — for hemosorbent. But IgM were removed only by plasmatorbent (28%). The hemosorbent have binded more effective such subclasses of immunoglobulins as IgG3 and IgG4, and also specific autoantibodies to single or double stranded DNA. Hemosorbent have removed C-reactive protein very effective. Hemocompatibility of hemosorbent was verified by inertness with human blood cells. **Conclusions.** Ig-plasmatorbent and Ig-hemosorbent have the same efficacy for removal of Ig classes, IgG subclasses, antiphospholipid and others pathogenic autoantibodies. But Ig-hemosorbent is more successful in C-reactive protein binding compared to Ig-plasmatorbent and it is hemocompatible.

Keywords: immunosorbent, autoimmune diseases, antiphospholipid syndrome, atherosclerosis, C-reactive protein, IgG apheresis.

Сведения об авторах:

Афанасьева Марина Ильинична — научный сотрудник лаборатории проблем атеросклероза Института экспериментальной кардиологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» Минздрава РФ. ORCID: 0000-0002-5725-3805

Дмитриева Оксана Александровна — научный сотрудник лаборатории проблем атеросклероза Института экспериментальной кардиологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» Минздрава. Тел.: +7 (495) 414-67-32. E-mail: dmitrievaoksan@rambler.ru ORCID: 0000-0001-5757-9525 (автор, ответственный за переписку)

Афанасьева Ольга Ильинична — д. б. н., ведущий научный сотрудник лаборатории проблем атеросклероза Института экспериментальной кардиологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» Минздрава РФ. ORCID: 0000-0001-8909-8662

Адамова Ирина Юрьевна — к. б. н., ведущий научный сотрудник лаборатории проблем атеросклероза Института экспериментальной кардиологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» Минздрава РФ. ORCID: 0000-0002-4491-1143

Левашов Павел Андреевич — к. х. н., старший научный сотрудник химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова. ORCID: 0000-0002-2619-5868

Овчинникова Екатерина Дмитриевна — младший научный сотрудник лаборатории проблем атеросклероза Института экспериментальной кардиологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» Минздрава РФ. ORCID: 0000-0002-1437-8309

Покровский Сергей Николаевич — проф., д. б. н., руководитель лаборатории проблем атеросклероза Института экспериментальной кардиологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» Минздрава РФ. ORCID: 0000-0001-5944-6427

Введение

В последнее время все большее число людей страдают аутоиммунными патологиями. В патогенезе этих заболеваний ведущая роль принадлежит антителам (Ат), вырабатываемым к собственным клеткам и тканям. В зависимости от специфичности этих антител (Ат) аутоиммунные заболевания могут ограничиваться поражением одного или нескольких органов, как это происходит при дилатационной кардиомиопатии, аутоиммунном тиреоидите, инсулинзависимом сахарном диабете (СД)1-го типа, тромбоцитопенической пурпуре, либо поражать многие ткани собственного организма, вызывая системное поражение, как это наблюдается при системной красной волчанке (СКВ), ревматоидном артрите (РА), антифосфолипидном синдроме (АФС) и ряде других заболеваний, при которых вырабатывается большое количество аутоантител различной специфичности. АФС представляет собой симптомокомплекс, проявляющийся венозными и/или артериальными тромбозами, акушерской патологией, тромбоцитопенией, поражением почек и сердечно-сосудистой системы. Ключевыми звеньями патогенеза являются образование в организме высоких титров антител к фосфолипидам и фосфолипид-связывающим белкам, подавление активности прокоагулянтных белков и фибринолиза, активация системы комплемента [1, 2].

Исследования связи между сердечно-сосудистыми заболеваниями и АФС начаты в 1985 г. проф. Е.Л. Насоновым и не потеряли своей актуальности вплоть до сегодняшнего дня [3]. Недавно проведенный метаанализ продемонстрировал, что наличие антифосфолипидных Ат у пациентов является значимым фактором риска атеросклероза и сопутствующих сердечно-сосудистых осложнений [4].

Для лечения заболеваний аутоиммунной природы необходимо уменьшение количества циркулирующих аутоантител, что в случае неэффективности медикаментозной терапии или наличия противопоказаний может

быть успешно достигнуто при использовании экстракорпоральных методов лечения [5-9]. Согласно руководству по применению экстракорпоральных методов для лечения различных заболеваний, разработанному Американской ассоциацией по гематологии на основе принципов доказательной медицины, методы терапевтического афереза используются для таких аутоиммунных заболеваний, как катастрофический АФС, тяжелая форма СКВ, рассеянный склероз и др., либо в качестве самостоятельного способа лечения, либо в сочетании с другими способами как вторая линия терапии [10].

В клинической практике для удаления аутоантител помимо плазмафереза используются сорбенты с иммобилизованными поликлональными Ат к Ig человека [9, 11, 12], стафилококковым белком А [13], а также синтетическими лигандами — пептидом PGam146 [14] или триптофаном [15]. Ранее мы синтезировали сорбент с иммобилизованным на макрогранулированную матрицу синтетическим лигандом, пригодный для перфузии крови [16]. Использование такого сорбента существенно упрощает процедуру афереза и позволяет расширить сферу его применения.

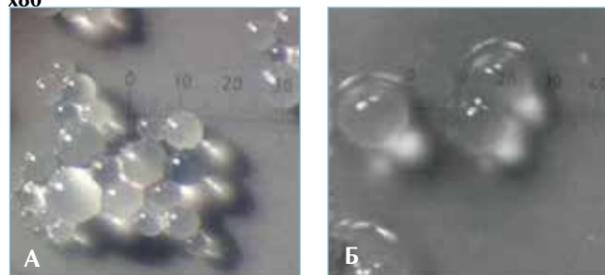
Целью данной работы является сравнение эффективности и специфичности гемосорбента с синтетическим лигандом с иммуносорбентом для плазмоперфузии в экспериментах *in vitro*.

Материал и методы

В работе были использованы следующие образцы сорбентов: а) с иммобилизованными на агарозную матрицу поликлональными антителами барана против IgG человека (в дальнейшем «иммуносорбент», «плазмасорбент») и б) с синтетическим лигандом, содержащим в своем составе ароматические ядра индола, иммобилизованным на сверхсшитую макрогранулированную агарозную матрицу (в дальнейшем «гемосорбент»).

Форму, размер и распределение гранул сорбентов исследовали методом световой микроскопии с исполь-

Рисунок 1. Результаты световой микроскопии гранул сорбентов, пригодных для (а) плазмо- и (б) гемоперфузии, x80



зованием микроскопа «Микроскоп стереоскопический панкреатический MC-2 Zoom» («Микромед», Россия) при 80-кратном увеличении.

Определение размеров пор сорбентов проводили методом гелепроницающей хроматографии. Через колонку, содержащую 50 мл исследуемого геля, уравновешенную фосфатным буфером, пропускали голубой декстран (2000 кДа) и стандартные белки-маркеры с молекулярной массой от 26 до 669 кДа. Коэффициент доступности (K_{av}) рассчитывали по формуле: $K_{av} = (V_{белка} - V_{декстрана}) / (V_{колонки} - V_{декстрана})$, где $V_{белка}$ и $V_{декстрана}$ — объемы элюции. Строили калибровочные зависимости коэффициента доступности от логарифма молекулярной массы, по которым далее рассчитывали предельную молекулярную массу белка, способного проникать в поры сорбента.

Изучение сорбционных свойств проводили методом хроматографии плазмы крови больных с акушерской патологией с диагнозом АФС и наличием повышенных титров антифосфолипидных антител (от 5,2 до 7,2 мг/мл IgG, от 1,1 до 2,0 мг/мл IgM, от 0,6 до 1,3 мг/мл IgA), а также аутоантител к оц и дц ДНК (от 16,7 до 17,8 МЕ/мл анти-оцДНК, от 9,3 до 19,8 МЕ/мл анти-дцДНК). Концентрация СРБ в плазме крови составляла от 6 до 20 мг/л. Соотношение объемов «сорбент/плазма» варьировали в зависимости от поставленной задачи — 1:5 и 1:10. Для определения сорбции СРБ объем наносимой на колонку плазмы изменяли от 5-кратного до 40-кратного избытка относительно объема сорбента. Хроматографию проводили в течение 60 минут при температуре 37°C в термостате на качалке.

В плазмах до и после хроматографии были измерены общий белок биуретовым методом, концентрация IgG методом турбидиметрии, методом иммуноферментного анализа (ИФА) («Вектор Бест», Россия) следующие показатели: СРБ, IgG, IgM, IgA, подклассы IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, антитела к оцДНК и дцДНК, методом ИФА (Orgentic Diagnostika GmbH, Германия) специфические Ат, участвующие в формировании АФС. Коэффициент селективности сорбции различных компонентов рассчитывали в соответствии с описанным ранее способом [17].

Для определения максимальной сорбционной емкости и констант десорбции исследуемых сорбентов проводили хроматографию на модельном растворе. Октагам (раствор для инфузий 50 мг/мл Octapharma, Австрия) разводили физиологическим раствором до концентраций

от 0,2 до 15 мг/мл, сорбент инкубировали с 10-кратным избытком модельного раствора в течение 30 минут при температуре 37°C в термостате на качалке. В супернатанте после хроматографии измеряли оптическую плотность при длине волны 280 нм, рассчитывали количество свободного и связанного с матрицей IgG, далее — максимальную сорбционную емкость и константу десорбции по уравнению Ленгмюра.

Для проверки гемосовместимости 3 серии гемосорбента инкубировали с кровью здоровых доноров с соответствующими нормами показателями форменных элементов и гемоглобина. Соотношение объемов «сорбент/кровь» составляло 1:20, условия инкубации — кровь самотеком пропускали через колонку с сорбентом, размер пор фильтра — 133 мкм. В качестве антикоагулянтов использовали ЭДТА в конечной концентрации 10 мМ (Roth, Германия), гепарин натрия (ФГУП «МЭЗ», Россия) в дозе 2,5 Ед/мл, или 3,8% раствор цитрата натрия 1/24 от конечного объема (Panheas, Испания). Количество форменных элементов крови и концентрацию гемоглобина определяли на гематологическом анализаторе Elite 3 (Erba, Чехия).

Результаты

Для создания плазмо- и гемосорбентов были выбраны две матрицы, идентичные по химическому составу, материал сферических гранул матриц представлял собой перешитую эпихлоргидрином агарозу. Характеристики матриц представлены на рис. 1 и в табл. 1.

Общие пулы IgG и IgA удалялись на обоих исследованных сорбентах (табл. 2) примерно с одинаковой эффективностью. Исследованные сорбенты одинаково сорбировали специфические аутоантитела против дцДНК и денатурированной оцДНК человека. Было показано, что способность связывать специфические анти-ДНК Ат у обоих исследуемых сорбентов выше по сравнению с общим пулом IgG. Особенно это было выражено у сорбента с иммобилизованным синтетическим лигандом, для которого эффективность удаления анти-дцДНК достигает 77±10%, в то время как для IgG составляет 52±3%, что подтверждалось при анализе коэффициента селективности (см. табл. 2).

Оба сравниваемых между собой сорбента более чем на 50% удаляют специфические антифосфолипидные Ат

Таблица 1. Характеристика матриц и сорбентов для плазмо- и гемосорбции

Характеристика	IgG-плазмосорбент	IgG-гемосорбент
Матрица		
размер гранул, мкм	40–180	150–200
размер пор, Да	6,3*10 ⁸	3,6*10 ⁶
Сорбент		
максимальная сорбционная емкость, мг/мл геля	15±2	42±2
константа диссоциации, М	7*10 ⁻⁷	1*10 ⁻⁵

Таблица 2. Динамика и селективность сорбции различных классов Ig, подклассов IgG и специфических аутоантител

Целевой компонент плазмы	Концентрация в плазме*			Удаление**		Коэффициент селективности***	
	исходно	плазмосорбента	гемосорбента	плазмосорбент	гемосорбент	плазмосорбент	гемосорбент
1	2	3	4	5	6	7	8
Классы Ig	мг/мл	мг/мл	мг/мл	%	%		
IgG	8,1±0,48	3±0,18	4,15±0,4	59,8±4,4	46,8±2,8	-	-
IgM	1,4±0,05	0,9±0,05	1,2±0,09	27,5±9,2	12,5±7,8	-	-
IgA	0,6±0,03	0,4±0,04	0,4±0,02	32,0±4,2	34,5±4,9	-	-
Подклассы IgG	мг/мл	мг/мл	мг/мл	%	%		
IgG1	3,9±0,23	1,7±0,1	2,17±0,13	58±2	42±3	0,44±0,11	0,57±0,14
IgG2	3,0±0,12	1,2±0,1	1,74±0,08	59,4±0,4	40,3±3	0,51±0,13	0,57±0,14
IgG3	0,6±0,03	0,2±0,02	0,29±0,02	56±13	57±11	0,96±0,01	1,36±0,25
IgG4	0,3±0,02	0,1±0,01	0,2±0,02	53±6	50±6,7	0,36±0,08	0,71±0,20
Специфические аутоАт против	МЕ/мл	МЕ/мл	МЕ/мл	%	%		
дцДНК IgG	19,8±1,4	3,2±0,16	5,1±0,46	77±9,9	71±4,2	0,98±0,01	1,44±0,07
оцДНК IgG	17,8±1,4	5,8±0,41	7±0,56	67,5±0,7	61±0	1,78±0,46	2,34±0,38
β2ГП1 IgG	6,9±0,48	3,4±0,27	4,3±0,39	53±2,8	50±17	0,58±0,07	1,20±0,36
β2ГП1 IgM	4,4±0,22	3,4±0,31	4,1±0,32	21±4,2	8,5±0,7	0,70±0,12	0,95±0,36
КЛ IgG	5,5±0,31	2,7±0,22	3,4±0,17	52,5±2,1	46,5±12	0,49±0,0	0,83±0,15
КЛ IgM	6,7±0,54	6,2±0,56	6,7±0,7	13,5±9,2	2,5±3,5	0,62±0,33	0,48±0,33
ФС IgG	4,8±0,43	2,3±0,16	3,1±0,16	52,5±0,7	42,5±12	0,53±0,02	0,76±0,15
ФС IgM	5,7±0,51	4,4±0,31	5±0,47	16,25±11	7,05±8,4	0,46±0,05	0,42±0,30
ФИ IgG	5,2±0,21	2,5±0,22	3,1±0,2	57±7,1	52±15,6	0,67±0,12	1,09±0,29
ФИ IgM	5,2±0,16	3,9±0,16	4,8±0,4	21±4,2	4,5±2,1	0,73±0,09	0,60±0,07
ФК IgG	10,3±0,21	4,5±0,4	6,2±0,55	52,5±4,9	53±18,4	0,51±0,06	1,19±0,37
ФК IgM	10,4±0,83	9,6±0,58	10,4±0,3	12±5,7	0±0	0,45±0,21	0±0
ФЛ IgG	5,9±0,12	2,4±0,27	3,5±0,31	57,5±2,1	48±9,9	0,64±0,03	0,88±0,14
ФЛ IgM	6,9±0,35	5,6±0,34	6,6±0,52	17,5±0,7	2±2,8	0,63±0,15	0,13±0,09
ФЛ β2ГП1 IgG	3,4±0,24	1,3±0,1	1,7±0,1	63±1,4	54,5±6,4	0,82±0,05	1,11±0,08
ФЛ β2ГП1 IgM	2,8±0,11	2,3±0,15	2,8±0,3	16,5±3,5	0±0	0,52±0,09	0±0

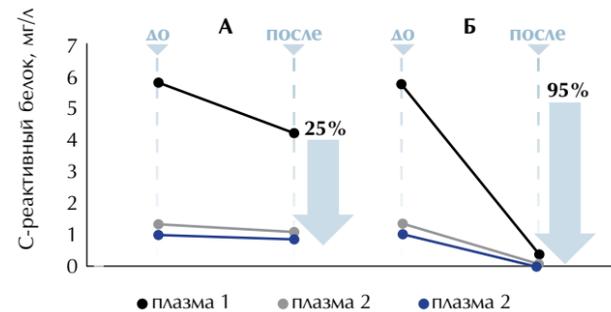
Примечание. * — концентрации в плазме представлены как среднее ± стандартное отклонение на образце плазмы крови от одного больного;

** — % удаления рассчитан как среднее ± стандартное отклонение для опытов на образцах плазмы крови от разных больных;

*** — коэффициент селективности сорбции специфических аутоантител рассчитан относительно сорбции пула соответствующего класса Ат — IgG или IgM;

АутоАт — аутоантитела, **β2ГП1** — бета-2-гликопротеин 1, **КЛ** — кардиолипид, **ФС** — фосфатидилсерин, **ФИ** — фосфатидилинозитол, **ФК** — фосфатидная кислота, **ФЛ** — фосфолипиды.

Рисунок 2. Снижение концентрации СРБ в образцах плазмы крови больных с АФС при проведении хроматографии на (а) плазмсорбенте и (б) гемосорбенте (соотношение «объем сорбента — объем плазмы» — 1:5)



класса G ($55 \pm 4\%$ для плазмсорбента и $50 \pm 4\%$ для гемосорбента). Для антифосфолипидных Ат класса М наблюдали практически ту же картину, как и для всего пула IgM. Гемосорбент не обладал способностью удалять этот класс Ат, в то время как плазмсорбент связывал $17 \pm 3\%$.

Среднее снижение концентрации общего белка в образцах трех исследованных плазм составило $9,7 \pm 1,5\%$ для гемосорбента и $3,7 \pm 1,5\%$ для иммуносорбента, т. е. не было существенным.

Эффективность сорбции СРБ гемосорбентом достоверно превышала аналогичный показатель для иммуносорбента (рис. 2, А и Б). При увеличении нагрузки за счет пропорционального увеличения объема наносимой на сорбент плазмы с исходной концентрацией СРБ 20 мг/л абсолютное значение сорбционной емкости увеличивалось до 248 мкг/мл геля.

Мы исследовали гемосовместимость сорбента в опытах *in vitro* с использованием трех различных антикоагулянтов (рис. 3). Было зарегистрировано снижение тромбоцитов на 39% и лейкоцитов на 16% при использовании гепарина в качестве антикоагулянта за счет адгезии этих клеток на сорбенте. Снижения эритроцитов, равно как и изменений в их характеристиках, не наблюдали. В случае применения ЭДТА либо цитрата натрия сорбент с иммобилизованным химическим лигандом являлся гемосовместимым.

Обсуждение

Лечение ряда заболеваний аутоиммунной природы существующими медикаментозными препаратами во многих случаях не позволяет добиться полного излечения заболевания или стойкой ремиссии. Так, показанием проведения плазмафереза при катастрофическом АФС является отсутствие положительных результатов терапии антикоагулянтами и глюкокортикостероидами [10, 18], а в случаях тяжелого начала заболевания либо наличия признаков микроангиопатической гемолитической анемии плазмаферез является терапией первой линии [18, 19]. Использование терапевтического афереза как самостоятельной терапии первой линии рекомендовано для лечения таких аутоиммунных заболеваний, как злокачественная миастения, синдром Гийена — Барре, демиелинизирующая полирадикулоневропатия, криоглобулинемия, быстро прогрессирующий гломерулонефрит [10]. Проведение терапевтического афереза совместно с лекарственной терапией при СКВ позволяет быстрее достигнуть результата, а также снизить количество применяемых цитотоксических препаратов [20]. Использование методов иммуносорбции также способно существенно улучшить состояние больных, прогноз заболевания, а также обеспечить длительную ремиссию для ряда заболеваний [5, 8, 21, 22].

Сорбенты для удаления Ig были синтезированы с использованием двух агарозных матриц, обладающих различными физико-химическими характеристиками [23, 24]. В условиях сорбции IgG из раствора гемосорбент с иммобилизованным синтетическим лигандом обладает большей сорбционной емкостью, но в то же время коэффициент диссоциации связи лиганд-IgG для такого сорбента на два порядка ниже, чем для иммуносорбента. Поэтому оба сорбента в равной степени способны связывать и удалять IgG, незначительно отличаясь по эффективности (67% для плазмсорбента и 52% для гемосорбента). IgM частично удалялись на иммуносорбенте (28%) и практически не связывались с гемосорбентом с иммобилизованным синтетическим лигандом. Такая разница объясняется различием в размере пор матриц, использованных при создании сорбента для гемосорбции, но не с химическими свойствами лиганда [24].

Мы обнаружили более выраженное связывание отдельных подклассов Ig гемосорбентом по сравнению с иммуносорбентом, одинаково сорбирующим все подклассы. Данное наблюдение согласуется с результатами исследования [25], продемонстрировавшими 60%-ное снижение IgG3 по сравнению с 30%-ным снижением общего пула Ig на колонке с иммобилизованным триптофаном.

Отмеченная для гемосорбента тенденция к более выраженной сорбции 3-го и 4-го подклассов IgG может оказать перспективной для лечения больных с патологиями, при которых IgG3 и IgG4 участвуют в патогенезе заболевания [26]. Согласно ряду клинических и экспериментальных исследований, аутоантитела IgG3 против кардиальных белков, и в частности миозина, могут играть ключевую роль в развитии такого тяжелого сердечно-сосудистого заболевания, как дилатационная кардиомиопатия [27–29]. Кроме того, уровень IgG3 ассоциирован с более тяжелой сердечной недостаточностью у больных с послеродовой кардиомиопатией [30].

По данным нескольких исследований, высокие титры антифосфолипидных Ат были достоверно связаны с развитием у пациентов таких сердечно-сосудистых осложнений атеросклероза, как инсульт и инфаркт миокарда, а также с увеличением смертности [31, 32]. Примечательным является наличие взаимосвязи повышенного уровня антифосфолипидных аутоантител и сердечно-сосудистых осложнений атеросклероза именно у лиц без диагностированных аутоиммунных патологий [4]. Возможный патогенетический механизм, объясняющий наличие этой связи, недавно был продемонстрирован на примере иммунных комплексов с 2-ГПП1, запускающих процесс нетоза с последующей активацией и агрегацией тромбоцитов [33].

Более выраженная специфичность гемосорбента $\beta 2$ ГПП1 на основе синтетического лиганда к антифосфолипидным и анти-ДНК Ат по сравнению с иммуносорбентом также может быть использована для эффективного лечения пациентов с аутоиммунными патологиями с повышенным уровнем специфических IgG аутоантител.

Способность гемосорбента связывать и эффективно удалять СРБ из плазмы крови человека, по-видимому, согласуется с повышенной селективностью сорбента к IgG3, поскольку оба белка (СРБ и IgG3) взаимодействуют с C1q системы комплемента и рецептором FcRI. Удаление СРБ также может

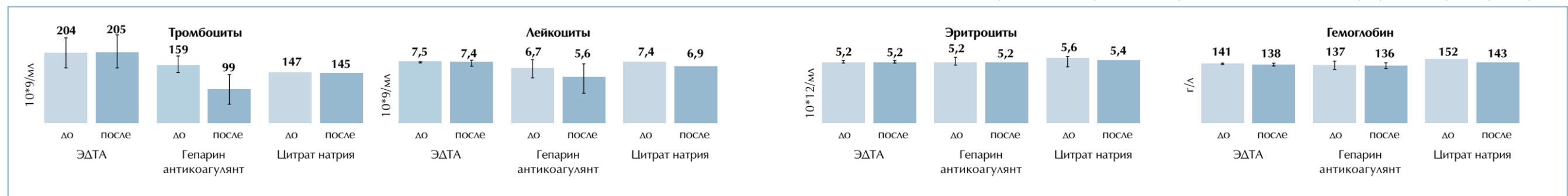
оказывать положительный эффект при лечении широкого спектра заболеваний аутоиммунной природы. По данным эпидемиологических исследований, была показана связь СРБ с заболеваниями аутоиммунной природы, такими как воспалительное заболевание кишечника [34], РА [35], сердечно-сосудистые заболевания [36], СД 2-го типа [37], и общей смертностью [36]. Американское общество сердца (American Heart Association, АНА), Канадское сердечно-сосудистое общество (Canadian Cardiovascular Society, ССС) и Национальная академия клинической биохимической лабораторной медицины США (National Academy of Clinical Biochemistry Laboratory Medicine Practice, NACB) предполагают, что СРБ может играть ключевую роль во многих проявлениях сердечно-сосудистых заболеваний, несмотря на то что пока не получено прямых доказательств его участия в патогенезе заболевания [38, 39]. Достоверное уменьшение зоны некроза в экспериментальной модели инфаркта миокарда после удаления СРБ из крови животных в процедурах экстракорпорального кровообращения, описанного в работе А. Sheriff и соавт., позволяет предположить увеличение положительного клинического эффекта от совместного удаления СРБ и патологических аутоантител [40].

Заключение

Оба синтезированных сорбента — плазмсорбент с иммобилизованными поликлональными Ат барана против IgG человека и гемосорбент с синтетическим лигандом — эффективно удаляют общий пул IgG, а также специфические антифосфолипидные и анти-ДНК Ат из крови или плазмы крови больных с аутоиммунными заболеваниями. Однако только плазмсорбент, синтезированный на матрице с большими порами, может уменьшить концентрацию IgM. Создание эффективного гемосовместимого сорбента для удаления IgG позволяет расширить применение методов терапевтического афереза для лечения пациентов с аутоиммунными и, возможно, сопутствующими сердечно-сосудистыми заболеваниями, так как не требует ни предварительной плазмосепарации, как при использовании иммуносорбентов, ни введения плазмозамещающих растворов, как при плазмообмене.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Рисунок 3. Динамика содержания клеток крови до и после аффинной хроматографии крови здоровых доноров на колонке с гемосорбентом



Данные представлены как среднее \pm стандартное отклонение для опытов на трех разных донорах и сериях сорбента.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Giannakopoulos B., Krilis S.A. The pathogenesis of the antiphospholipid syndrome. *N Engl J Med.* 2013; 368 (11):1033-1044.
2. Girardi G., Redecha P., Salmon J.E. Heparin prevents antiphospholipid antibody-induced fetal loss by inhibiting complement activation. *Nat Med.* 2004; 10(11):1222-1226.
3. Решетняк Т.М. Исследования, посвященные антифосфолипидному синдрому, в федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В.А. Насоновой» — основные достижения (к 40-летию Диссертационного совета). *Научно-практическая ревматология.* 2016;54(6):614-627 [Reshetnyak T.M. Studies devoted to antiphospholipid syndrome at the V.A. Nasonova research institute of rheumatology: main achievements (on the occasion of the 40th anniversary of the dissertation board). *Rheumatology Science and Practice.* 2016;54(6):614-627. (In Russ.) <https://doi.org/10.14412/1995-4484-2016-614-627>].
4. Iseme R.A., McEvoy M., Kelly B., et al. A role for autoantibodies in atherogenesis. *Cardiovasc Res.* 2017; 113(10):1102-1112. doi: 10.1093/cvr/cvx112.
5. Dandel M., Wallukat G., Englert A., Hetzer R. Immunoabsorption therapy for dilated cardiomyopathy and pulmonary arterial hypertension. *Atheroscler Suppl.* 2013; 14(1):203-11.
6. Sofue T., Hayashida Y., Hara T., et al. Plasmapheresis in a patient with antiphospholipid syndrome before living-donor kidney transplantation: a case report. *BMC Nephrol.* 2014; 15:167.
7. McMillan R. Autoantibodies and autoantigens in chronic immune thrombocytopenic purpura. *Semin. Hematol.* 2000; 37 (3):239-248.
8. Biesenbach P., Schmaldienst S., Smolen J.S., et al. Immunoabsorption in SLE: three different high affinity columns are adequately effective in removing autoantibodies and controlling disease activity. *Atheroscler Suppl.* 2009; 10(5):114-121.
9. S.N. Pokrovsky, M.V. Ezhov, M.S. Safarova et al Ig apheresis for the treatment of severe DCM patients. *Atherosclerosis Supplements.* 2013 (14) — P. 213-218.
10. Schwartz J., Padmanabhan A., Aqul N., et al. Guidelines on the Use of Therapeutic Apheresis in Clinical Practice—Evidence-Based Approach from the Writing Committee of the American Society for Apheresis: The Seventh Special Issue. *J Clin Apher.* 2016 Jun;31(3):149-62. doi: 10.1002/jca.21470.
11. Koll R.A. Ig-Therasorb immunoabsorption for selective removal of human immunoglobulins in diseases associated with pathogenic antibodies of all classes and IgG subclasses, immune complexes, and fragments of immunoglobulins. *Ther. Apher.* 1998;2 (2): 147-152.
12. Bilgir O., Bilgir F., Calan M., et al. Immunoabsorption method using immunoglobulin Adsopak in adult cases with ITP resistant to splenectomy and other medical therapies. *Transfus Apher Sci.* 2008;39(2):109-113.
13. Doesch A.O., Konstantin M., Celik S., et al. Effects of protein A immunoabsorption in patients with advanced chronic dilated cardiomyopathy. *J Clin Apher.* 2009; 24(4):141-149.
14. Ronspeck W., Brinekman R., Egner R., et al. Peptide based adsorbents for therapeutic immunoabsorption. *Ther Apher Dial.* 2003;7 (1): 91-97.
15. Hirata N., Kuriyama T., Yamawaki N. Immusorba TR and PH. *Ther Apher Dial.* 2003; 7 (1): 85-90.
16. Levashov P.A., Ovchinnikova E.D., Fried D.A., et al. *Affine Haemosorbents Based on Aromatic Peptides for Binding of the Immunoglobulin G Bioorg Khim.* 2015; 41(5):553-558.
17. Алтынова Е.В., Афанасьева О.И., Болдырев А.Г. с соавт. Гемосорбенты для удаления атерогенных липопротеидов (*in vitro* сравнение). *Эффективная терапия* 2006;12(4):3-14 [Altynova E.V., Afanasieva O.I., Boldyrev A.G. et al. Hemosorbents for removal of atherogenic lipoproteins (*in vitro* comparison)].
18. Решетняк Т.М. *Клинические рекомендации по лечению антифосфолипидного синдрома общероссийской общественной организации «Ассоциация ревматологов России»* Москва 2013 [Reshetnyak T.M. *Clinical guidelines for antifosfolipid therapy of Association of rheumatologists of Russia.* Moscow, 2013].
19. Cervera R., Espinosa G. Update on the catastrophic antiphospholipid syndrome and the «CAPS Registry». *Semin Thromb Hemost.* 2012;38:333-338.
20. Bambauer R., Schwarze U., Schiel R. Cyclosporin A and therapeutic plasma exchange in the treatment of severe systemic lupus erythematosus. *Artif Organs* 2000;24:852-856.
21. Biesenbach P., Kain R., Derfler K., et al. Long-term outcome of anti-glomerular basement membrane antibody disease treated with immunoabsorption. *PLoS One.* 2014;9(7):e103568. doi: 10.1371/journal.pone.0103568.
22. Stummvoll G.H., Schmaldienst S., Smolen J.S., Derfler K., et al. Lupus nephritis: prolonged immunoabsorption (IAS) reduces proteinuria and stabilizes global disease activity. *Nephrol Dial Transplant.* 2012; 27(2):618-626. doi: 10.1093/ndt/gfr239.
23. Kiseleva E., Afanasieva O., Kosheleva N. et al Immunosorbent for IgG apheresis: an *in vitro* Study *Transfus. Sci.* 1996, 17(4):519-525.
24. Левашов П.А., Афанасьева О.И., Дмитриева О.А. с соавт. Синтез аффинных сорбентов с иммобилизованными синтетическими лигандами для процедуры терапевтического афереза. *Биомедицинская химия* 2010; 6 (56): 739-746 [Levashov P.A., Afanasieva O.I., Dmitrieva O.A. et al. Synthesis of affinity sorbents with immobilized synthetic ligands for therapeutic apheresis procedures. *Biochemistry* 2010; 6 (56): 739-746].
25. Nagatomo Yu, Baba A., Ito H., et al. *Specific Immunoabsorption Therapy Using a Tryptophan Column in Patients with Refractory Heart Failure Due to Dilated Cardiomyopathy Journal of Clinical Apheresis.* 2011; 26:1-8 doi:10.1002/jca.20268.
26. Zhang H., Li P, Wu D., et al. Serum IgG Subclasses in Autoimmune Diseases. *Medicine (Baltimore).* 2015; 94(2): e387. doi: 10.1097/MD.0000000000000387.
27. Warraich R.S., Griffiths E., Falconar A., et al. Human cardiac myosin autoantibodies impair myocyte contractility: a cause-and-effect relationship. *FASEB J.* 2006;20(6):651-60.
28. Baba A. Targeted Autoantibodies in Apheresis Treatment against Severe Heart Failure. *Japanese Journal of Apheresis.* 2010;29:187-193.
29. Staudt A., Bohm M., Knebel F., et al. Potential role of autoantibodies belonging to the immunoglobulin G-3 subclass in cardiac dysfunction among patients with dilated cardiomyopathy. *Circulation.* 2002;106:2448-2453.
30. Warraich R.S., Sliwa K., Damasceno A., et al. Impact of pregnancy-related heart failure on humoral immunity: clinical relevance of G3-subclass immunoglobulins in peripartum cardiomyopathy. *Am Heart J.* 2005;150(2):263-269.
31. Greco T.P., Conti-Kelly A.M., Matsuura E., et al. Antiphospholipid antibodies in patients with coronary artery disease: new cardiac risk factors? *Ann N Y Acad Sci* 2007; 1108:466-474.
32. Majka D.S., Liu K., Pope R.M., et al. Antiphospholipid antibodies and sub-clinical atherosclerosis in the Coronary Artery Risk Development in Young Adults (CARDIA) cohort. *Inflamm Res* 2013;62:919-927.
33. Zha C., Zhang W., Gao F., et al. Anti-2GPI/2GPI induces neutrophil extracellular traps formation to promote thrombogenesis via the TLR4/MyD88/MAPKs axis activation *Neuropharmacology*, 2018, 138: 140-150.
34. Henriksen M., Jahnsen J., Lygren I., et al. C-reactive protein: a predictive factor and marker of inflammation in inflammatory bowel disease. Results from a prospective population-based study. *Gut.* 2008;57:1518-1523. doi: 10.1136/gut.2007.146357.
35. Rhodes B., Merriman M.E., Harrison A., et al. A genetic association study of serum acute-phase C-reactive protein levels in rheumatoid arthritis: implications for clinical interpretation. *PLoS Med.* 2010;7:e1000341 doi: 10.1371/journal.pmed.1000341.
36. Emerging Risk Factors Collaboration, Kaptoge S, Di Angelantonio E, Pennells L, et al. C-reactive protein, fibrinogen, and cardiovascular disease prediction. *N Engl J Med.* 2012; 367:1310-1320. doi: 10.1056/NEJMoa1107477.
37. Wang X., Bao W., Liu J., et al. Inflammatory markers and risk of type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Diabetes Care.* 2013;36:166-175. doi: 10.2337/dc12-0702.
38. Prins B.P., Abbasi A., Wong A., et al. Investigating the Causal Relationship of C-Reactive Protein with 32 Complex Somatic and Psychiatric Outcomes: A Large-Scale Cross-Consortium Mendelian Randomization Study. *PLoS Med.* 2016;13(6):e1001976. doi: 10.1371/journal.pmed.1001976.
39. Avan A., Tavakoly Sany S.B., Ghayour-Mobarhan M., et al Serum C-reactive protein in the prediction of cardiovascular diseases: Overview of the latest clinical studies and public health practice. *J Cell Physiol.* 2018; 233(11):8508-8525. doi: 10.1002/jcp.26791.
40. Sheriff A., Schindler R., Vogt B., et al. Selective apheresis of C-reactive protein: a new therapeutic option in myocardial infarction? *J Clin Apher.* 2015; 30(1):15-21. doi: 10.1002/jca.21344.

Поступила 15.11.2018

Принята в печать 20.01.2019