

РАЗНОВИДНОСТИ АНТИФОСФОЛИПИДНЫХ АНТИТЕЛ У БОЛЬНЫХ СИСТЕМНОЙ КРАСНОЙ ВОЛЧАНКОЙ И ПЕРВИЧНЫМ АНТИФОСФОЛИПИДНЫМ СИНДРОМОМ

Т.М. Решетняк, Я. Забек, З.С. Алекберова, Е.Н. Александрова, Б.Воцеховская¹

ГУ Институт ревматологии РАМН, Москва

¹Институт ревматологии Польши, Варшава

Резюме

Цель. Изучить частоту и клиническую значимость различных аФЛ: антител к кардиолипину (аКЛ), антител к 2-гликопротеину I (анти-β2-ГП I), антител к аннексину V (а-АН V) и аутоантител к окЛНП (а-окЛНП) у больных СКВ с и без АФС.

Материал и методы. Работа основана на результатах клинко-лабораторного исследования 68 больных (14 муж., 58 жен., средний возраст $35,2 \pm 11,4$ лет), наблюдавшихся в ГУ Института ревматологии РАМН. У 45 из них была диагностирована СКВ и у 23 - ПАФС. У 24 из 45 больных СКВ имелись признаки АФС. Тромботические исходы верифицировались только при их инструментальном подтверждении. У 43 из 68 (63,2%) обследованных больных регистрировались тромбозы в анамнезе. Определение аКЛ, анти-β2-ГП I, а-АН V, а-окЛНП в сыворотке крови проводилось иммуноферментным методом. Уровень IgG-аКЛ определялся в ГУ Института ревматологии РАМН и в лаборатории Института ревматологии Варшавы. Исследование ВА проводилось мануально в фосфолипидзависимых тестах свертывания крови в плазме, бедной тромбоцитами.

Результаты. Частота выявления в крови IgG-аКЛ была достоверно выше по данным исследования в ГУ Института ревматологии РАМН и ассоциировалась с наличием АФС. Процент IgG-аКЛ - позитивности при исследовании в лаборатории Варшавы составил при СКВ - 29, при СКВ+АФС - 33, при ПАФС - 39. При этом у половины больных позитивный уровень IgG-аКЛ, как и других исследованных антител, относился к сомнительным или низко-позитивным. Тромботические осложнения ассоциировались с наличием в крови IgG-анти-β2-ГП I, средний уровень этих антител в группе больных с тромбозами составил 0,292 ед. ОП. (медиана - 0,157; миним. значения - 0,049, макс. - 0,994 и отрезок интерквартильного разброса 0,251), тогда как в группе больных без тромбозов средний уровень был 0,178 ед. ОП (медиана - 0,112; минимальные значения - 0,440, макс. - 0,834 и отрезок интерквартильного разброса 0,100) ($p=0,003$ по Манну-Уитни). Статистической зависимости между уровнем IgG-аКЛ, IgG-а-АН V и наличием тромбозов, не отмечалось однако высокие уровни антител определялись в группе пациентов с тромбозами. Прослежена связь между активностью СКВ и повышенными уровнями IgG-а-окЛНП. 16 больных СКВ с высокими уровнями IgG-а-окЛНП активность заболевания по шкале SLEDAI 1 составила $22,6 \pm 4,34$ балла против $8,7 \pm 3,52$ баллов ($p=0,0001$) у 22 больных СКВ с негативными значениями этих антител.

Заключение. Выявлена ассоциация между наличием в крови IgG-анти-β2-ГП I и тромбозами независимо от их локализации. У больных СКВ выявление в крови IgG-а-окЛНП ассоциировалось с активностью болезни.

Ключевые слова: антифосфолипидный синдром, антифосфолипидные антитела, антитела к β2-гликопротеину I, антитела к аннексину V, антитела к окисленным липотеидам низкой плотности

Наличие в крови антифосфолипидных антител (аФЛ) ассоциируется с четко очерченным симптомокомплексом - антифосфолипидным синдромом (АФС), для которого характерны рецидивирующие тромбозы (артериальные и/или венозные) с локализацией в любом участке сосудистого русла; акушерская патология: повторные случаи потери плода при отсутствии гинекологического заболевания или преэклампсии/эклампсии и тромбоцитопении [1]. Выделяют две основные формы АФС: вторичный АФС на фоне различных заболеваний, чаще всего при системной красной волчанке (СКВ), и первичный АФС (ПАФС), рассматриваемый как самостоятельная нозологическая форма [2].

По современным представлениям взаимодействие аФЛ с фосфолипидами является сложным феноменом, в реализации которого важную роль играют так называемые кофакторы - бел-

ки крови, некоторые свертывающие факторы крови и другие. Аутоиммунные аФЛ направлены против различных плазменных фосфолипидсвязывающих белков, которые, в конечном счете, связывают фосфолипиды на поверхности мембран клеток, и именно эти антитела обладают антикоагулянтной активностью [3]. Плазменный белок - β2-гликопротеин I (β2ГП I) и протромбин (II фактор свертывания крови) - два основных белка крови, выступающих в качестве антигенной мишени аФЛ. Антитела к β2-ГП I (анти-β2ГП I) обнаружены в сыворотках больных АФС многими исследователями, в то время как в сыворотках больных с инфекционными заболеваниями присутствуют антитела [4], реагирующие с кардиолипином, но не анти-β2-ГП I [3,5,6]. Описываются другие фосфолипидсвязывающие белки крови, такие как протеин С и S (естественные антикоагулянты крови), высоко- и низкомолекулярные кининогены, фактор свертывания крови XI, аннексин V и фактор Н комплемента [7]. Обсуждение взаимосвязи между тромбообразованием и развитием раннего атеросклероза при СКВ и АФС способствовало изучению в сыворотке крови еще одной группы аутоантител, ко-

торые отнесены к семейству аФЛ [8]. Это аутоантитела к окисленным формам липопротеидов, в частности к липопротеинам низкой плотности (окЛНП) [9]. И хотя в литературе имеется немало публикаций в отношении названных антител, встречаемость и клиническое значение анти- β 2-ГП1, антител к аннексину V (а-АН V) и аутоантител к окЛНП (а-окЛНП) при АФС изучены недостаточно.

Цель исследования: изучить частоту и клиническую значимость различных аФЛ у больных СКВ с и без АФС.

Материал и методы

Работа основана на результатах клинико-лабораторного исследования 68 больных (14 муж., 58 жен., средний возраст $35,2 \pm 11,4$ лет), наблюдавшихся в ГУ Института ревматологии РАМН. У 45 из них была диагностирована СКВ и у 23 - ПАФС. У 24 из 45 больных СКВ имелись признаки АФС. Характеристика больных приведена в табл. 1. СКВ диагностировалась согласно критериям Американской Коллегии Ревматологов (1982г) пересмотра [10], АФС - по Международным критериям 1999г [1]. ПАФС верифицировался у больных АФС при отсутствии признаков других заболеваний [2]. Критерием включения в исследование была достоверность диагноза.

Тромботические исходы верифицировались только при их инструментальном подтверждении. У 43 из 68 (63,2%) обследованных больных регистрировались тромбозы в анамнезе. Кроме общепринятых методов исследования, у всех пациентов определяли уровень антител к нативной ДНК (а-ДНК), антинуклеарный фактор (АНФ), общий комплемент, циркулирующие иммунные комплексы, антикардиолипиновые антитела (аКЛ) и волчаночный антикоагулянт (ВА) в сыворотке крови.

Определение аКЛ проводилось иммуноферментным методом согласно методике, описанной ранее [11] в Институте ревматологии РАМН. За верхнюю границу нормы была принята концентрация аКЛ, превышавшая среднее значение данного показателя у доноров на 5 стандартных отклонений (SD) ($M+5SD$), что составило 23 GPL для IgG-аКЛ и 26 MPL для IgM-аКЛ. Оценка результатов исследования аКЛ по уровням позитивности проводилась согласно рекомендациям Международного Комитета по стандартизации аКЛ: низко-позитивные уровни - до 50 GPL или MPL, умеренно позитивные - от 50 до 80 и высоко-позитивные - уровни, превышавшие 80 GPL или MPL.

Исследование ВА проводилось вручную в фосфолипидзависимых тестах свертывания крови в плазме, бедной тромбоцитами, все образцы исследовались в дубликате. Были использованы наборы "Ренам". Тесты свертывания проводились с ядом гадюки Рассела "Sigma". Наличие ВА определялось согласно рекомендациям комитета по стандартизации ВА [12] и З.С. Баркагана и соавт. [13].

Определение в сыворотке крови IgG-аКЛ, IgG-анти- β 2-ГП1, IgG-а-АН V и IgG-а-окЛНП проводилось иммуноферментным методом в Институте ревматологии Польши в Варшаве. Наборы для определения указанных антител готовились в лаборатории иммунологии того же учреждения. В специальные плашки, покрытые очищенным β 2-ГП1, добавляли исследуемую сыворотку. Во время инкубации антитела, содержащиеся в сыворотке, связывались с β 2-ГП1. Не связанные белки удалялись отмывкой, после чего добавляли конъюгат антител к Ig G с пероксидазой. После инкубации несвязанный конъюгат отмывался и добавлялся субстрат, который изменяет цвет под действием пероксидазы. После остановки реакции измерялась оптическая плотность образцов. Уровень анти- β 2-ГП1 в крови более 0,184 ед. ОП ($M+5SD$) считался позитивным, от 0,147 до 0,184 ед. ОП - сомнительными и ниже 0,147 ед. ОП - отрицательными. Другие антитела определялись подобным же образом путем покрытия плашки соответствующим белком. Положительными для IgG-аКЛ были значения выше 0,109 ед. ОП, уровни от 0,092 до 0,109 ед. ОП считались сомнительными. Уровни а-АН V выше 0,425 ед.ОП определялись как позитивные, от 0,340 до 0,425 ед.ОП - как сомнительные. Значения менее 300 МЕ/мл для а-окЛНП были негативными, от 300 до 600 МЕ/мл - сомнительными и выше 600МЕ/мл - положительными. Позитивность по всем изученным антителам считалась сомнительной при значе-

ниях средних плюс три стандартных отклонения (SD). У 17 больных уровни вышеуказанных аутоантител были исследованы в динамике.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием параметрических и непараметрических методов статистической программы "Статистика".

Результаты

Как видно на рис. 1, частота выявления в крови IgG-аКЛ была достоверно выше по данным исследования в ГУ Института ревматологии РАМН и ассоциировалась с наличием АФС. Процент IgG-аКЛ - позитивности при исследовании в лаборатории Варшавы составил при СКВ -29, при СКВ+АФС- 33, при ПАФС - 39. При этом у половины больных позитивный уровень IgG-аКЛ, также как и других исследованных антител, относился к сомнительным или низко-позитивным (табл. 2).

Частота позитивности IgG-анти- β 2-ГП1 была выше у больных АФС, независимо от его вариантов (ПАФС или вторичный на фоне СКВ). В группе больных ПАФС IgG-анти- β 2-ГП1 выявлялись у 39% пациентов, в группе - СКВ+АФС у 46%. С учетом сомнительных уровней этот процент значительно повышался, составляя 65 и 48 соответственно против 14% в группе СКВ без АФС. Все трое больных СКВ без АФС, позитивные по IgG-анти- β 2-ГП1, имели признаки обострения СКВ и не получали глюкокортикоиды и цитотоксины на момент исследования кро-

Рисунок 1
ЧАСТОТА ВЫЯВЛЕНИЯ IgG-аКЛ, IgG-анти- β 2-ГП1, IgG-а-АН V и IgG-а-окЛНП у ОБСЛЕДОВАННЫХ БОЛЬНЫХ



Примечание: IgG аКЛ процент позитивных больных в ГУ Института ревматологии РАМН, IgG-аКЛ1 - в лаборатории в Варшаве, в проценте позитивных суммированы число больных достоверно позитивных и сомнительных. IgG-анти- β 2-ГП1 - антитела к β 2-гликопротеину I, антител к аннексину V - IgG -а-АН V) и аутоантител к окисленным ЛНП IgG -а-окЛНП.

ви. Из этих троих больных высокопозитивные уровни IgG-анти- β 2-ГП1 (0,823 ед ОП) выявлялись у одной больной 54 лет, у которой обострение СКВ проявлялось выраженным генерализованным ливедо-васкулитом, экссудативным плевритом и пневмонитом. Сыворотка крови этой пациентки была низко-позитивной по IgG-аКЛ и антителам к аннексину. У двух других больных (в возрасте 17 лет), также имевших обострение СКВ, уровни IgG-анти- β 2-ГП1 составляли 0,334 и 0,200 ед.ОП и относились к низко-позитивным. В клинической картине одной из них превалировал волчаночный гломерулонефрит с нарушением азотовыделительной функции, у второй - язвенно-некротическое поражение кожи и слизистых. Из других исследованных антител у больной с нефритом обнаруживались а-окЛНП (1502 МЕ/мл).

Только две больные (1 - с СКВ+АФС и 1 - с ПАФС) из всех обследованных были позитивны по всем изученным антителам.

Тромбозы и IgG-аКЛ, IgG-анти- β 2-ГП1, IgG-а-АН V и IgG-а-окЛНП у обследованных больных

Тромбозы имели 43 из 68 обследованных больных. В группе ПАФС тромбозы были зарегистрированы у 23 больных: артериальной и венозной локализации - у 9, только артериальные - у 5 и только венозные - у 9 пациентов. В группе больных СКВ+АФС

ХАРАКТЕРИСТИКА ОБСЛЕДОВАННЫХ БОЛЬНЫХ

Таблица 1

Показатели	СКВ n=21	СКВ+АФС n=24	ПАФС n=23	Всего n=68
М/Ж	3/21	2/22	9/14	14/58
Средний возраст (годы)	37,1±13,2	33,6±3,2	36,7±10,4	35,2±11,4
Разброс	18-60	18-52	21-54	18-60
Средняя длительность болезни (годы)	8 6,4	12,0 8,1	8,1 4,6	9,3 6,7
Разброс	1-24	2-26	2-18	1-26
Тромбозы (n)	-	20	23	43
Синдром потери плода (n/n)*	0/9	9/15	9/12	18/36
Тромбоцитопения (n)	2	8	2	12
Положительный ВА (n)	-	18	20	38
Позитивность по аКЛ (n)	1	22	20	43
IgG+IgM-аКЛ	-	5	6	11
IgG-аКЛ	-	11	7	18
IgM-аКЛ	1	66	7	14

n - число больных; * в числителе число женщин с 2 и более случаями потери плода, в знаменателе число женщин с беременностями во время заболевания

ЧАСТОТА ВЫЯВЛЕНИЯ IgG-аКЛ, IgG-анти- β2-ГП, IgG-а-АН V и IgG-а-окЛНП у ОБСЛЕДОВАННЫХ БОЛЬНЫХ

Таблица 2

Показатели	СКВ n=21 n / %	СКВ+АФС n=24 n / %	ПАФС n=23 n / %	Всего n=68 n / %
IgG-аКЛ				
Позитивные	4 / 19	6 / 26	6 / 25	16 / 23
Сомнительные	2 / 10	2 / 13	3 / 8	7 / 11
Негативные	15 / 72	16 / 61	14 / 67	45 / 66
IgG-анти- β2-ГП				
Позитивные	3 / 14	11 / 46	9 / 39	23 / 34
Сомнительные	-	3 / 12	6 / 26	9 / 13
Негативные	16 / 76	10 / 42	8 / 35	34 / 50
IgG-а-АН V				
Позитивные	4 / 19	3 / 12	4 / 17	22 / 32
Сомнительные	3 / 14	-	3 / 13	15 / 22
Негативные	14 / 67	21 / 88	16 / 70	31 / 46
IgG-а-окЛНП				
Позитивные	8 / 38	8 / 33	6 / 26	11 / 16
Сомнительные	2 / 10	5 / 21	8 / 35	27 / 40
Негативные	11 / 52	11 / 46	9 / 39	30 / 44

тромбозы сочетанной локализации (артериальные и венозные) отмечались у 5 больных, артериальные - у 8 и венозные - у 7. Среди тромбозов артериальной локализации преобладали церебральные артерии, среди венозных - глубокие вены голени. На рис. 2, 2а представлены уровни (медиана, границы интерквартильного отрезка, минимальные и максимальные значения) исследованных антител у больных с/без тромбозов. Тромботические осложнения у обследованных больных ассоциировались с наличием в крови IgG-анти- β2-ГП, средний уровень этих антител в группе больных с тромбозами составил 0,292 ед ОП (медиана -0,157; миним. значения -0,049, макс. - 0,994 и отрезок интерквартильного разброса 0,251), тогда как в группе больных без тромбозов средний уровень был 0,178 ед. ОП (медиана -0,112; минимальные значения -0,440, макс. - 0,834 и отрезок интерквартильного разброса 0,100) (p=0,003 по Манну-Уитни). Статистической зависимости между уровнем IgG-аКЛ, IgG-а-АН V и наличием тромбозов не отмечалось, но очень высокие уровни антител определялись в группе пациентов с тромбозами (рис.2).

Уровни IgG-а-окЛНП были достоверно выше в группе больных без тромбозов - 340,0 МЕ/мл (медиана - 100,0; миним. значения - 100,0 макс. - 1200 и отрезок интерквартильного разброса

550), тогда как у больных с тромбозами эти значения были ниже - 308,02 МЕ/мл (медиана - 102,0; миним. значения - 100,0, макс. - 1200,0 и отрезок интерквартильного разброса 350,0) (p<0,01 по Вальду-Вольфовицу).

Не отмечено взаимосвязи между клиническими проявлениями СКВ и уровнем исследованных антител. В то же время прослежена связь между активностью СКВ и повышенными уровнями IgG-а-окЛНП. 16 больных СКВ с высокими уровнями IgG-а-окЛНП активность заболевания по шкале SLEDAI 1 составила 22,6±4,34 баллов против 8,7±3,52 балла (p=0,0001) у 22 больных СКВ с негативными значениями этих антител.

Синдром потери плода и IgG-аКЛ, IgG-анти- β2-ГП, IgG-а-АН V и IgG-а-окЛНП у обследованных больных

Беременности за время болезни имели 36 из 53 женщин, включенных в исследование. Из них 18 (по 9 с ПАФС и СКВ+АФС) имели синдром потери плода (СПП), число случаев потери плода варьировало от 3 до 12. У трех из 18 женщин с потерями плода в анамнезе последние беременности на фоне терапии окончились рождением жизнеспособного плода (кровь у этих женщин исследовалась после завершения успешной беременности). У всех 18 женщин с СПП были зарегистрированы

Рисунок 2

УРОВНИ IgG-аКЛ, IgG-а-бета2-ГП I и IgG-а-АН V У ОБСЛЕДОВАННЫХ БОЛЬНЫХ
В ЗАВИСИМОСТИ ОТ НАЛИЧИЯ ТРОМБОЗОВ

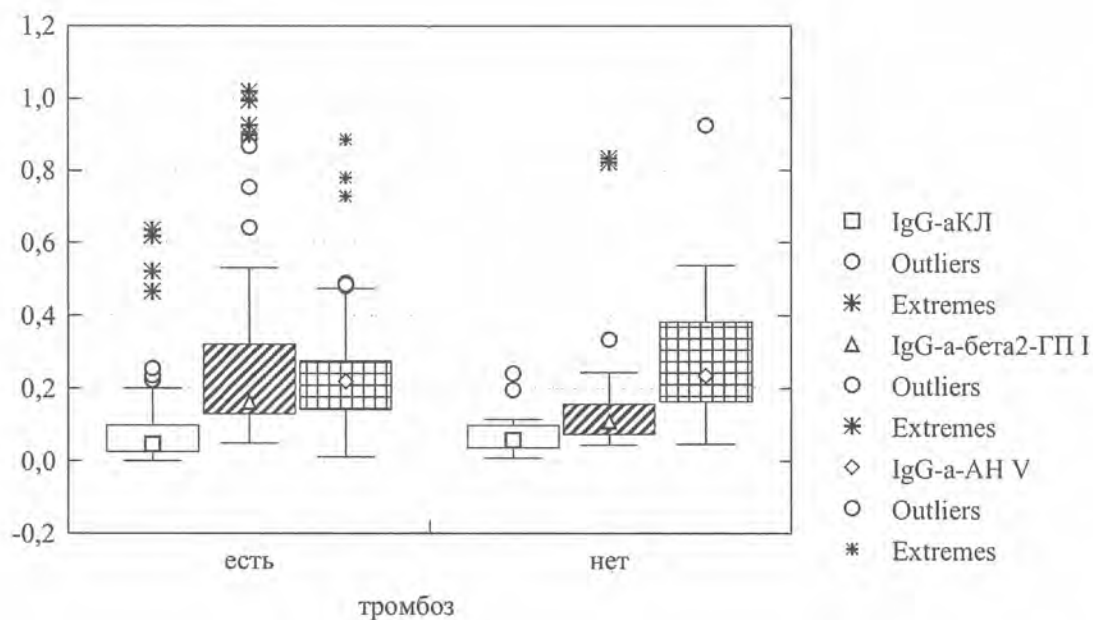
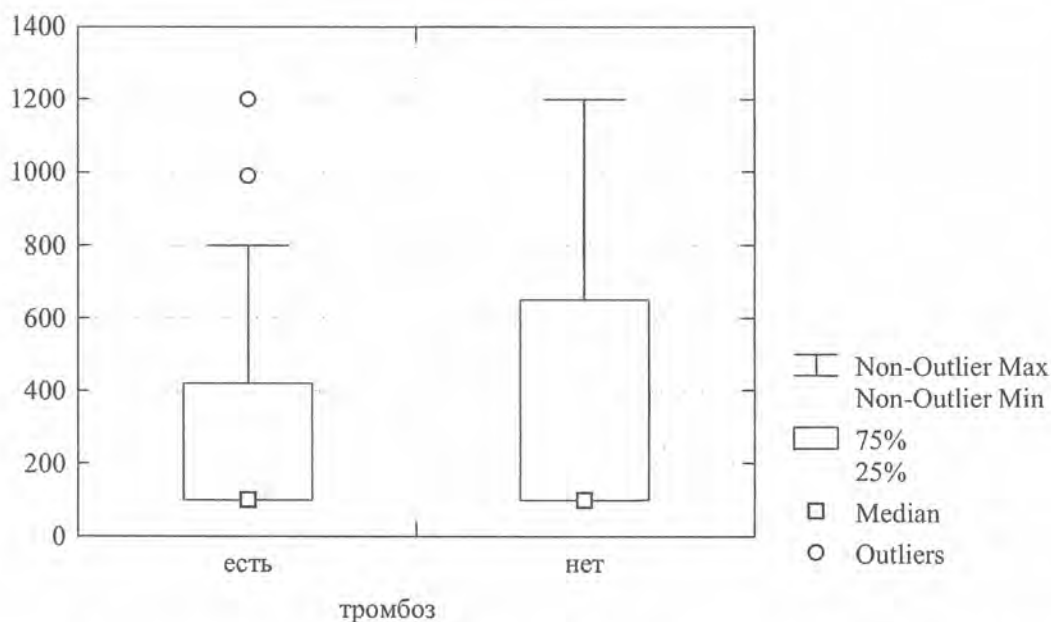


Рисунок 2 а

УРОВНИ IgG-а-окЛНП у ОБСЛЕДОВАННЫХ БОЛЬНЫХ
В ЗАВИСИМОСТИ ОТ НАЛИЧИЯ ТРОМБОЗОВ



тромботические осложнения (у 7 рецидивирующие флеботромбозы глубоких вен ног, у 6 - рецидивирующие нарушения мозгового кровообращения (НМК) и флеботромбозы, у 5 - артериальные тромбозы). Группу сравнения составили 18 женщин (3 - с ПАФС, 9 - с СКВ, 6 - с СКВ+АФС), у которых беременность за время болезни завершилась рождением живых детей. У 4 из 6 пациенток с СКВ и АФС, у которых беременность завершилась рождением детей, развитие признаков АФС происходило в сроки от 6 мес. до 5 лет после родов. Зависимости между уровнями исследованных антител и СПП не отмечено (табл.3).

Анализ исследования антител в динамике у некоторых больных
У 11 больных (6 - с ПАФС, 4 - с СКВ+АФС и 1 с СКВ) аФЛ

в сыворотке крови были исследованы в динамике. Одна из них наблюдалась с 8 недели гестации, исследование антител в крови у нее проводилось трижды: в начале беременности (8 нед.), на 36 нед. гестации и через месяц после родов. Уровни антител и клиническая характеристика 11 больных приведена в табл. 4, из которой видно, что у 8 из 11 больных регистрировались тромботические осложнения, длительность после эпизода тромбоза до взятия крови на исследование у них колебалась от 1 до 6 мес. При этом антитела обнаружены у большинства из 11 больных: позитивность по IgG-анти-β2-ГП I установлена у 8, IgG-а-окЛНП - у 7 и IgG-а-АН V - у 5. У 5 из 8 больных с тромбозами во время включения в исследование не было рецидивов окклю-

Таблица 3

ЧАСТОТА ПОЗИТИВНОСТИ IgG-аКЛ, IgG-анти- β 2-ГП1, IgG-а-АН V и IgG-а-окЛНП У ЖЕНЩИН, ИМЕВШИХ БЕРЕМЕННОСТИ В АНАМНЕЗЕ, С И БЕЗ СИНДРОМА ПОТЕРИ ПЛОДА (СПП)

Показатели	Женщины с СПП; n=18 n / %	Женщины, у кого беременность окончилась рождением ребенка; n=18 n / %
IgG-аКЛ		
Позитивные	5 / 28	4 / 22
Сомнительные	0	2 / 11
негативные	13 / 72	12 / 67
IgG-анти-β2-ГП1		
Позитивные	8 / 44	4 / 22
Сомнительные	3 / 17	2 / 11
негативные	7 / 39	12 / 67
IgG-а-АН V		
Позитивные	4 / 17	5 / 28
Сомнительные	1 / 5	0
негативные	14 / 78	13 / 72
IgG-а-окЛНП		
Позитивные	6 / 33	7 / 39
Сомнительные	7 / 39	1 / 5
негативные	5 / 28	10 / 56

зий сосудов за период наблюдения, и уровни исследованных антител имели тенденцию к их снижению. Высокие уровни IgG-а-окЛНП (>1200) преобладали у больных с язвенным поражением кожи.

Обсуждение

Серологические маркеры для верификации больных с аутоиммунно-индуцированным тромбозом используются с 1983г. Именно их определение позволило выделить симптомокомплекс, называемый АФС. Многие пациенты, которым ранее диагностировали тромботическую болезнь, с выявлением аФЛ перешли в разряд больных с АФС. Вместе с тем поиск других маркеров АФС для прогнозирования тромбозов и СПП на разных сроках гестации привел к выделению еще ряда антител, которые в настоящее время также относятся к семейству аФЛ.

Вопрос о стандартизации определения аКЛ иммуноферментным методом (ИФМ), введенным в 1987г [14,15] и предложенным к применению на последующих международных совещаниях по аФЛ [16,17], остается на настоящий момент одним из актуальных. Значение стандартизации всех видов аФЛ возросло со времени описания новых антител к белкам крови [18]. Существование различных коммерческих китов и тестов, производимых самими лабораториями, часто приводят к несопоставимости результатов исследований, что подчеркивается некоторыми авторами [19]. По результатам наших совместных исследований также можно говорить о несопоставимости результатов по IgG-аКЛ в двух лабораториях. Позитивность по этим антителам одного центра составила для СКВ+АФС - 67% и для ПАФС - 56% (табл.1). В то же время процент IgG-аКЛ - позитивности при исследовании в Варшаве оказался заметно ниже и составил при СКВ - 29%, при СКВ+АФС - 33%, при ПАФС - 39%. Эти данные в какой-то мере согласуются с результатами, приводимыми A. Tincani [20] по определению аКЛ в 24 лабораториях Европы. Исследование 10 сывороток с результатами, выраженными в международных единицах (МЕ), с использованием собственных тестов, показало, что 100% сопоставимость по IgG-аКЛ имела место только в 6 из 24 лабораторий. И хотя нами не исследовались IgM-аКЛ, следует отметить, что с этим изотипом проблем еще больше. Ни в одной из лабораторий по результатам указанной работы не получено сопоставимости по уровням IgM-аКЛ.

Антитела к плазменному белку - β 2-ГП1 - признанный маркер АФС, и по данным ряда авторов считается одним из специфических тестов АФС [6,7]. β 2-ГП1 - одноцепочечный гликопротеин с молекулярной массой 42kd, состоит из 326 аминокис-

лот, присутствует в нормальной плазме в концентрации примерно 200 мкг/мл. В кровяном русле β 2-ГП1 циркулирует в комплексе с липопротеидами. Поэтому он также обозначается как аполипопротеин Н [3]. Наши предыдущие [21] и настоящие данные согласуются с результатами других исследований [5,6,7] о значимости этих антител для диагноза АФС. Частота позитивности IgG-анти- β 2-ГП1 была выше у больных АФС независимо от его вариантов. С учетом сомнительных уровней процент IgG-анти- β 2-ГП1-позитивности при СКВ+АФС и ПАФС составил 65 и 48 соответственно против 14% в группе СКВ без АФС. Наличие в крови IgG-анти- β 2-ГП1 ассоциировалось с тромбозами различной локализации (венозные или артериальные). Уровни IgG-анти- β 2-ГП1 были достоверно выше у больных с тромбозами по сравнению с пациентами, не имевшими подобных осложнений.

Большой интерес в настоящее время вызывают аннексины и антитела к ним. Аннексины - семейство кальций-зависимых, фосфолипидсвязывающих внутриклеточных белков, участвующих в регуляции внутриклеточного экзитолиза. Среди них аннексин V (плацентарный антикоагулянтный белок I), которому отводилась роль в развитии акушерской патологии при АФС [22]. Оказалось, что этот белок может быть обнаружен и во внеклеточной жидкости: сыворотке крови или амниотической жидкости. Происхождение внеклеточного аннексина V остается неизвестным: секретируется ли он клетками или появляется в результате их разрушения, требует уточнения, как и его роль в гемостазе. Мнения о вкладе антител к аннексину V в формирование АФС противоречивы, одни авторы обнаружили его у больных с АФС [23,24], другие - нет [25]. Результаты нашего исследования не выявили связи между присутствием этих антител и клиническими проявлениями АФС, возможно, это связано еще и с тем, что в момент исследования только одна больная имела беременность (№10 в табл. 4), причем она была негативна по IgG-а-АН V, но позитивна по IgG-аКЛ и IgG-анти- β 2-ГП1.

Представляется интересным изменение в липид-белковом спектре крови больных АФС. Окисление ЛНП приводит к образованию большого количества разнообразных соединений и неопитов, которые могут участвовать в атерогенезе различными путями, и неизвестно, какой вариант окЛНП является наиболее атерогенным. Среди окЛНП выделяют окисленную Лп(а), фрагментированные апо В 100- реактивные альдегиды, которые могут образовывать дополнительное соединение с апо В, или другими протеинами; окисленные жирные кислоты, липидные пероксиды, оксистеролы и окисленный холестерин; лизолипи-

Таблица 4

УРОВНИ АНТИТЕЛ ИСХОДНО И В ДИНАМИКЕ, А ТАКЖЕ КЛИНИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ У 11 БОЛЬНЫХ

№, Больной, пол, возраст, диагноз	Уровни антител					Клинические проявления	В динамике
	IgG-аКЛ (GPL)	IgG-аКЛ1 (ед/ОП)	IgG-анти- β2-ГП1 (ед/ОП)	IgG-а-АН V (ед/ОП)	IgG-а-окЛНП (МЕ/мл)	Исходно	
1.С, ж, 34, ПАФС	128 78 - -	0,105 - - -	0,182 0,157 0,148 0,140	0,728 - - -	- - - -	НМК, ТФ, СЛ, периферическая полинейропатия, язвы голени	Остаточные явления НМК, СЛ, Повышение АД
2.Ф,ж, 47, ПАФС	64 -	0,521 -	0,269 0,163	0,440 0,271	420 -	В анамнезе 12 случаев СПП, НМК, обострение ТФ, СЛ	Без ухудшения
3.Я,ж,43, ПАФС	124 38- -	- - -	0,868 0,995 0,401	- - -	- - -	2 случая СПП, НМК, СЛ, миг.порок	Без ухудшения
4.М,м, 23, ПАФС	45 -	-	0,194	0,336 -	>1200 375	ТФ, язвы голени	Не рецидивировали
5.Б,ж, 42, ПАФС	156 46	- -	0,194 0,165	0,464 0,336	>1200 >1200	Тромбоз артерии пальца, сухая гангрена пальца, СЛ	Рецив язвочки на I пальце
6.С,ж, 33, СКВ	- -	0,108 -	- -	- -	>1200 410	Язвенно-некротическое поражение кожи, ДКВ	Заживление язв
7.В,ж, 36, ПАФС	46 36	0,099 -	0,176 0,152	- -	>1200 990	ТФ, ПНМК, язва голени	Не рецидивировали, АНК
8.*К,ж, 34, СКВ+АФС	- -	- -	0,165 -	0,489 -	>1200 990	3 случая СПП, ТЦП, ТФ, язвы голени	Язвы голени рецидивируют
9.Д,ж,18, СКВ+АФС	34 46	- -	0,321 0,19	- -	- -	Хорея, НМК, язвенно-некротическое поражение кожи	Рецидив хореи, язв кожи
10.Б,ж,24,СКВ+АФС	48 98 128	- - -	0,926 1,019 0,186	- - -	680 - 300	ТЦП, беременность с 8 недель	Роды кесаревым сечением, после родов эпилепсия, рецидивирующее НМК с развитием деменции, атрофия ДЗН
11.*Т,ж,24,СКВ+АФС	--	--	- -	0,400 0,230	450 300	ТЦП, АНК головок обеих бедренных костей	Операция протезирования ТБС

Примечание: *- диагноз АФС был основан на позитивности по IgM-аКЛ и наличию ВА: IgG аКЛ позитивность в ГУ Института ревматологии РАМН, IgG-аКЛ1 - в лаборатории Варшавы, IgG- анти- 2-ГП1 - антитела к 2-гликопротеину I, антител к аннексину V - IgG -а-АН V) и аутоантител к окисленным ЛНП IgG -а-окЛНП. НМК-нарушение мозгового кровообращения, ТФ - тромбозы вен ног, СПП - синдром потери плода, АНК - аваскулярные некрозы костей, ДЗН - диск зрительного нерва, СЛ - сетчатое ли- ведро, ТЦП-тромбоцитопения. Отметка "-" означает, что уровень антител негативный.

ды, включая лизофосфатидилхолин (ЛФХ) [9]. Предполагают, что антитела, связывающие оКЛНП, могут относиться к АФЛ, так как в состав ЛНП входят фосфолипиды и белок - аполипопротеин В, который и может быть эпитопом в окисленной модификации ЛНП [26,27]. В нашем исследовании 16% из 68 больных имели достоверно повышенные уровни IgG-а-оКЛНП, 40% - сомнительные и 44% - негативные значения. Нами, в отличие от данных других исследователей [26], не прослежена связь наличия IgG-а-оКЛНП в крови с признаками АФС. Примерно с одинаковой частотой эти антитела выявлялись у больных СКВ с и без АФС, а также с ПАФС. G. Haem и соавт. [25] выявили антитела к оКЛНП у 39% больных СКВ с АФС против 12,5% у пациентов СКВ без АФС. Авторы отметили корреляцию между антителами к оКЛНП и анти-β2-ГП1 и венозными тромбозами. Наши данные в какой-то степени согласуются с результатами J.M.Gomez-Zumaquero с соавт. [27], которые, исследовав 49 больных СКВ дважды с промежутком времени в 3-4 мес., нашли

связь между наличием в крови антител к оКЛНП и степенью активности СКВ и уровнем компонентов системы комплемента. Эта закономерность прослежена нами и при исследовании больных в динамике (табл.4). В целом, наши результаты аналогичны данным F.I.Romero и соавт. [28]. Авторы, обследовав 118 больных СКВ, среди которых 40 имели АФС, у 17% выявили в крови повышенные уровни IgG-анти-β2-ГП1, которые ассоциировались с артериальными тромбозами. 53% больных СКВ оказались позитивными по IgG-а-оКЛНП, но наличие этих антител не было связано с тромбозами и не коррелировало с другими АФЛ.

Таким образом, результаты данной работы еще раз продемонстрировали необходимость дальнейшей стандартизации АФЛ, с возможностью исследования не только изотипов IgG, но IgM и IgA. Выявлена ассоциация между наличием в крови IgG-анти-β2-ГП1 и тромбозами независимо от их локализации. У больных СКВ выявление в крови IgG-а-оКЛНП ассоциировалось с активностью болезни.

ЛИТЕРАТУРА

1. Wilson W.A., Gharavi A.E., Koike T. et al. International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome. *Arthr. Rheum.*, 1999, 42, 1309-1311
2. Asherson R.A., Cervera R. 'Primary', 'secondary' and other variants of the antiphospholipid syndrome. *Lupus*, 1994, 3, 293-298
3. Насонов Е.Л. Антифосфолипидный синдром. М., Литтера, 2004, 440с
4. Tsutsumi A., Matsuura E., Ichikawa K., et al. Antibodies to beta2-glycoprotein I and clinical manifestations in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthr. Rheum.*, 1996, 39, 1466-1474
5. Balestrieri G., Tincani A., Spatola L. et al. Anti β2-glycoprotein I antibodies: a marker of antiphospholipid syndrome? *Lupus*, 1995, 4, 122-130
6. Le Tonqueze M., Salozhin K., Dueymes M. et al. Role of beta2-glycoprotein I in the antiphospholipid antibody binding to endothelial cells. *Lupus*, 1995, 4, 179-186
7. de Groot P.G., Derksen R.H.W.M. Protein C pathway, antiphospholipid antibodies and thrombosis. *Lupus*, 1994, 3, 229-233
8. Roubey R.A. Immunology of the antiphospholipid antibody syndrome. *Arthr. Rheum.*, 1996, 39, 1444-1454
9. Radulescu L., Stancu C., Antohe F. Antibodies against human oxidized low-density lipoprotein (LDL) as markers for human plasma modified lipoproteins. *Med.Sci.Monit.*, 2004, 10(7), 207-214
10. Tan E.M., Cohen A.S., Fries J.F. et al. The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthr. Rheum.*, 1982, 25, 1271-1277
11. Александрова Е.Н., Насонов Е.Л., Ковалев В.Ю. Количественный иммуноферментный метод определения антител к кардиолипину в сыворотке крови. *Клин. ревматол.*, 1995, 4 35-39
12. Brandt J.T., Triplett D.A., Aving B., Scharrer I. Criteria for the diagnosis of lupus anticoagulant: An update. *Thromb. Haemost.*, 1995, 74, 1185-1190
13. Баркаган З.С., Момот А.П. Основы диагностики нарушений гемостаза. Москва. "Ньюдиамед-АО", 1999, 215с
14. Harris E.N., Gharavi A.E., Boey M.L. et al. Anticardiolipin antibodies: detection by radioimmunoassay and association with thrombosis in systemic lupus erythematosus. *Lancet*, 1983, 2, 1211-1214
15. Harris E.N., Gharavi A.E., Patel S.P., Hughes G.R.V. Anticardiolipin antibody testing. The need for standardization. *Arthr. Rheum.*, 1987, 30, 835-836
16. Harris E.N., Gharavi A.E., Patel S.P., Hughes G.R.V. Evaluation of the anticardiolipin antibody test: Report of standardization workshop held in April 1986. *Clin. Expe. Immunol.*, 1987, 68, 215-222
17. Harris E.N., Pierangeli S., Birch D. Anticardiolipin Wet Workshop Report. Fifth International Symposium on Antiphospholipid antibodies. *Am.J.Clin.Pathol.*, 1994, 101, 616-624
18. Carreras L.O., Forastiero R.R., Martinuzzo M.E. Which are the best biological markers of the antiphospholipid syndrome? *J.Autoimmunity*, 2000, 15, 163-172
19. Coulam C.B., McIntyre J.A., Wagenknecht D., Rote N. Interlaboratory inconsistencies in detection of anticardiolipin antibodies. *Lancet*, 1990, 335, 865
20. Tincani A., Balestrieri G., Allegri F. et al. Overview on Anticardiolipin ELISA Standardisation. *J.Autoimmunity*, 2000, 15, 195-197
21. Решетняк Т.М., Алекберова З.С., Е.Л.Насонов и соавт. Антитела к β2-гликопротеину I новый тип антифосфолипидных антител. *Клин. мед.*, 1998, 3, 36-40
22. Reutelingsperger CPM. Annexins: Key regulators of haemostasis, thrombosis, and apoptosis. *Thromb. Haemost.*, 2001, 86, 413-419
23. Lakos G., Kiss E., Regoczy N. et al. Antiprothrombin and antiannexin V antibodies imply risk of thrombosis in patients with systemic autoimmune disease. *J.Rheumatol.*, 2000, 27, 924-929
24. Rand J.H. Antiphospholipid antibody - mediated disruption of the annexin V antithrombotic shield. A thrombogenic mechanism for antiphospholipid syndrome. *J.Autoimmunity*, 2000, 15, 107-111
25. Siaka C., Lambert M., Caron C. et al. Low prevalence of anti-annexin V antibodies in antiphospholipid syndrome with fetal loss. *RevMed.Interne*, 1999, 20, 762-765
26. Haem G., Nicaise-Roland P., Palazzo E. et al. Antioxidized low-density-lipoprotein (OxLDL) antibodies in systemic lupus erythematosus with and without antiphospholipid syndrome. *Lupus*, 2001, 10, 346-351
27. Gomez-Zumaquero J.M., Tinahones F.J., De Ramon E. et al. Association of biological markers of activity of systemic lupus erythematosus with levels of anti-oxidized low-density lipoprotein antibodies. *Rheumatology (Oxford)*, 2004, 43 (4), 510-513
28. Romero F.I., Amengual O., Atsumi T. et al. Arterial disease in lupus and secondary antiphospholipid syndrome: association with anti beta2-glycoprotein I antibodies but not with antibodies against oxidized low-density lipoprotein. *Br.J.Rheumatol.*, 1998, 37, 883-888

Поступила 24.02.05

Abstract

Objective. To study frequency and clinical significance of different antiphospholipid antibodies (APHLA): anti-cardiolipin (ACA), anti- β_2 glycoprotein (AB2), anti-annexin V (AAV) and autoantibodies to oxidized low density lipoproteins (AOLDPL) in pts with systemic lupus erythematosus (SLE) with and without antiphospholipid syndrome (APS).

Material and methods. 68 pts (14 male, 54 female, mean age $35,2 \pm 11,4$ years) followed up in the Institute of Rheumatology were included. 45 of them had SLE and 23 - primary APS. 24 from 45 SLE pts had signs of APS. Only instrumentally verified thromboembolic events were recorded. 43 from 68 (63,2%) pts had history of thrombosis. ACA, AB2, AAV and AOLDPL serum level was examined with immuno-enzyme assay. IgG ACA level was in the Institute of Rheumatology of RAMS and in the Institute of Rheumatology of Warsaw. Lupus anticoagulant was tested with phospholipids-dependent method in platelet depleted plasma.

Results. IgG ACA were more frequently revealed in the Institute of Rheumatology of RAMS and were associated with the presence of APS. In the Warsaw laboratory IgG positivity in SLE was revealed in 29%, in SLE+APS - in 33%, in primary APS - in 39%. in half of the pts IgG ACA level was doubtful or low-positive. Thromboembolic events were associated with the presence of IgG AB2 (mean level 0,292 U of OP, median 0,157, minimum - 0,049, maximum 0,994, interquartile dispersion 0,251). Mean level in the absence of thrombosis was 0,178 U of OP (median 0,112, minimum - 0,440, maximum 0,834, interquartile dispersion 0,100), $p=0,003$ according to Mann-Whitney test. There was no statistical dependence between IgG ACA, IgG AAV and thromboembolic events but very high levels of antibodies were present in the group of pts with thromboses. There was a correlation between SLE activity and high AOLDPL level. Mean value of SLEDAI scale in 16 SLE pts with high AOLDPL level was $22,6 \pm 4,34$ compared with $8,37 \pm 3,52$ ($p=0,0001$) in 22 SLE pts not having these antibodies.

Conclusion. Presence of IgG AB2 is associated with thromboses independently of their localization. Presence of AOLDPL was associated with disease activity.

Key words: antiphospholipid syndrome, antiphospholipid antibodies, anti- β_2 glycoprotein antibodies, anti-annexin V antibodies, autoantibodies to oxidized low density lipoproteins