

АНТИГЕН ФАКТОРА ВИЛЛЕБРАНДА ПРИ СИСТЕМНОЙ КРАСНОЙ ВОЛЧАНКЕ И АНТИФОСФОЛИПИДНОМ СИНДРОМЕ

А.А. Новиков, Е.Н. Александрова, Т.В. Попкова, Т.М. Решетняк, Н.Г. Ключкина, Д.С. Новикова,
И.Б. Штивельбанд, А.А. Баранов¹

ГУ Институт ревматологии РАМН, Москва

¹ГУ Ярославская государственная медицинская академия

Резюме

Цель. Изучить клиническое значение антигена фактора Виллебранда (ФВАг) при антифосфолипидном синдроме (АФС) и системной красной волчанке (СКВ).

Материал и методы. Сывороточную концентрацию ФВАг определяли иммуноферментным методом у 21 больного первичным АФС (ПАФС), 39 больных СКВ с АФС, 68 больных СКВ и 56 здоровых доноров.

Результаты. Уровень ФВАг у больных с ПАФС, СКВ с АФС и СКВ был достоверно выше, чем у доноров. В сыворотках больных СКВ без АФС концентрация ФВАг достоверно превышала данный показатель у больных ПАФС. Увеличение концентрации ФВАг отмечено у 52,4% больных ПАФС, у 56,4% больных СКВ с АФС и у 73,5% больных СКВ. При ПАФС и СКВ связи между уровнем ФВАг и наличием тромбозов, а также акушерской патологией не выявлено ($p > 0,05$). При СКВ с АФС увеличение концентрации ФВАг коррелировало с повышением уровня IgM aКЛ и с индексом активности SLEDAI ($p < 0,05$), при СКВ - с индексами SLEDAI ($p < 0,05$) и ECLAM ($p < 0,05$). У больных СКВ с поражением почек уровень ФВАг был достоверно выше, чем у больных СКВ без почечной патологии. При СКВ отмечена прямая корреляция между уровнями ФВАг и СОЭ ($p < 0,05$), а также концентрацией СРБ, измеренного высокочувствительным методом ($p < 0,05$). Не выявлено достоверных различий по уровню ФВАг у больных СКВ с наличием или отсутствием атеросклеротических бляшек в сонных артериях, и не обнаружена корреляция уровня ФВАг с толщиной комплекса интима-медиа (КИМ).

Заключение. Развитие иммунопатологического процесса при СКВ и АФС ассоциируется с гиперпродукцией ФВАг. При этом повышенный уровень ФВАг отражает воспалительную активность заболевания при СКВ, но не ассоциируется с наличием тромботических и атеротромботических осложнений при АФС.

Ключевые слова: антиген фактора Виллебранда, антифосфолипидный синдром, системная красная волчанка

Развитие патологического процесса при системных аутоиммунных ревматических заболеваниях, включая системную красную волчанку (СКВ) и антифосфолипидный синдром (АФС), характеризуется гиперпродукцией широкого спектра органонеспецифических аутоантител и иммунных комплексов, увеличением синтеза белков острой фазы воспаления, активацией клеточного иммунитета и дисфункцией эндотелия [1]. Важным фактором повреждения сосудистой стенки при СКВ и АФС является активация эндотелиальных клеток (ЭК), индуцированная провоспалительными цитокинами (ФНО- α , ИЛ-1, ИФН- γ), а также β 2-гликопротеин I (β 2-ГПИ) зависимыми антителами к фосфолипидам (аФЛ), антиэндотелиальными клеточными антителами (АЭКА) и антителами к ДНК, обладающими способностью перекрестно реагировать с ЭК [2, 3, 4]. Это приводит к дисфункции эндотелия, проявляющейся гиперэкспрессией клеточных молекул адгезии, синтезом провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 β , ИЛ-6), простагландинов, оксида азота, что вызывает развитие воспалительного, тромботического и атеросклеротического поражения сосудов при СКВ и АФС [5]. Одним из основных лабораторных маркеров эндотелиальной дисфункции является антиген фактора Виллебранда (ФВАг).

ФВАг - мультимерный гликопротеин с молекулярной массой 229 кДа, который присутствует в мегакариоцитах, α -гранулах тромбоцитов и тельцах Weibel-Palade ЭК [6, 7]. В плазме здоровых людей антиген ФВАг обнаруживается в

концентрации < 2 МЕ/мл (10 мкг/мл). ФВ высвобождается из ЭК *in vitro* под действием различных стимулов (механическая травма, форболовый эфир, тромбин, эндотоксин, гистамин, ИЛ-1, ИФН- γ , мембраноатакующий комплекс комплемента, окислительный стресс др.) [4]. Кроме того, способностью индуцировать продукцию ФВАг в культуре ЭК обладает IgG-фракция, выделенная из сывороток больных АФС [8], и IgG-фракция, содержащая антитела к нДНК [9]. Повышение уровня ФВАг в сыворотке крови наблюдается при системных некротизирующих васкулитах (гранулематозе Вегенера, узелковом полиартрите), гигантоклеточном артериите, артериите Такаюсу, облитерирующем тромбангиите, болезни Бехчета, СКВ, ревматоидном артрите, болезни Шегрена, дерматомиозите, склеродермии, сахарном диабете, атеросклерозе и инфекциях [10, 11]. По данным литературы увеличение концентрации ФВАг при СКВ отражает, в основном, воспалительную активность заболевания [12]. Полагают, что повышение уровня ФВАг может являться фактором риска развития тромбозов и атеросклеротического поражения сосудов в рамках СКВ и АФС [13, 14]. Данные о связи гиперпродукции ФВАг с тромботическими осложнениями при АФС противоречивы и представлены немногочисленными работами, посвященными изучению уровня ФВАг у больных синдромом Снеддона [15] и СКВ с АФС [16, 17]. Специального исследования ФВАг у больных СКВ и АФС с атеросклеротическим поражением сосудов не проводилось.

Целью настоящего исследования явилось изучение клинического значения ФВАг при АФС и СКВ.

Материал и методы

Обследовано 128 больных, из них 21 с достоверным диагнозом первичного АФС (ПАФС) (6 муж.; средний возраст $41,0 \pm 11,0$ г.), 39 - вторичным АФС (ВАФС) (9 муж.; средний возраст $38,0 \pm 10,1$ г.) и 68 - СКВ (15 муж.; средний возраст $36,3 \pm 11,8$ г.). Диагноз СКВ основывался на критериях Американской Ревматологической Ассоциации [18], АФС - на критериях W. Wilson и соавт. [19]. У 41 больного с ПАФС и СКВ с АФС имелись тромботические осложнения, в том числе у 8 - артериальные, у 22 - венозные, у 11 артериальные и венозные тромбозы.

В контрольную группу вошли 56 доноров, сопоставимых по полу и возрасту с обследованными больными. ФВАг определяли количественным иммуноферментным методом (ИФМ) [10]. Концентрацию ФВАг измеряли в МЕ/мл. IgG- и IgM- антитела к кардиолипину (аКЛ) определяли количественным ИФМ, описанным нами ранее [20]. Концентрацию IgG- и IgM-аКЛ измеряли в международных стандартных единицах GPL и MPL. Концентрацию С-реактивного белка (СРБ) определяли высокочувствительным (high sensitive) ИФМ (hsСРБ) с использованием коммерческих наборов фирмы "Bender MedSystems GmbH" согласно инструкции изготовителя. Исследуемые сыворотки хранили при температуре -70°C . Статистическая обработка результатов проводилась с использованием программы "Statistica 6.0", включая методы параметрического и непараметрического анализа (коэффициент корреляции по Спирмену, тест Манн-Уитни). Статистически достоверными считались различия при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Результаты определения концентрации ФВАг в сыворотках крови больных и доноров представлены в табл. 1 и на рис. Верхняя граница нормы ($M+3SD$) для ФВАг составила 2,1 МЕ/мл. Уровень ФВАг у больных с ПАФС, СКВ с АФС и СКВ был достоверно выше, чем у доноров. В сыворотках больных СКВ без АФС концентрация ФВАг достоверно превышала данный показатель у больных ПАФС. Увеличение концентрации ФВАг отмечено у 11 (52,4%) из 21 больного ПАФС, у 22 (56,4%) из 39 больных СКВ с АФС и у 50 (73,5%) из 68 больных СКВ. Среди обследованных больных уровень ФВАг у мужчин (медиана - Ме 3,4; интерквартильный размах - ИР 1,8-3,9) и женщин

(Ме 2,5; ИР 1,6-4,2) достоверно не различался ($p > 0,05$). Концентрация ФВАг коррелировала с индексом активности SLEDAI ($r=0,7$; $p < 0,05$) при СКВ с АФС и с индексами SLEDAI ($r=0,4$; $p < 0,05$) и ECLAM ($r=0,3$; $p < 0,05$) при СКВ. У больных СКВ с поражением почек уровень ФВАг (Ме 3,8; ИР 2,5-2,7) был достоверно выше, чем у больных СКВ без почечного поражения (Ме 2,6; ИР 1,5-4,3; $p=0,04$). Отмечена прямая корреляция между уровнями ФВАг и СОЭ ($r=0,4$; $p < 0,05$), а также hsСРБ ($r=0,3$; $p < 0,05$) при СКВ. При ПАФС и СКВ связи между уровнем ФВАг и наличием тромбозов (табл. 2.), а также акушерской патологией не выявлено ($p > 0,05$). Связь между концентрацией ФВАг и уровнем IgG отсутствовала, в то же время при СКВ с АФС увеличение концентрации ФВАг коррелировало с повышением уровня IgM аКЛ ($r=0,6$; $p < 0,05$). При СКВ не выявлено достоверных различий по уровню ФВАг у больных с наличием ($n=19$; Ме 2,9; ИР 1,6-4,4) и отсутствием атеросклеротических бляшек в сонных артериях ($n=31$; Ме 3,4; ИР 2,2-5,8), а также не обнаружена корреляция уровня ФВАг с толщиной комплекса интима-медиа (КИМ) сонной артерии и дислипидемией ($p > 0,05$).

Наши результаты и данные других авторов свидетельствуют о гиперпродукции ФВАг при СКВ и АФС [6, 12, 15, 17, 21]. В исследовании А.А. Баранова [12] повышение уровня ФВАг при СКВ и СКВ с АФС чаще наблюдалось у мужчин, чем у женщин. По нашим данным увеличение синтеза ФВАг не зависело от пола больных. Наибольшее увеличение концентрации и частоты выявления повышенных значений ФВАг отмечено нами у больных СКВ без АФС. Высокий уровень ФВАг при СКВ был связан с активностью заболевания, поражением почек и лабораторными маркерами воспаления (СОЭ, СРБ). Результаты, указывающие на повышение уровня ФВАг не только при СКВ с АФС, но и при ПАФС, а также материалы экспериментальных исследований, согласно которым аффинно-очищенные IgG аФЛ индуцируют синтез ФВАг в культуре ЭК [8], позволяют обсуждать патогенетическое значение ФВАг в развитии тромботической васкулопатии, характерной для АФС. По нашим данным увеличение концентрации ФВАг при ПАФС и СКВ с АФС не ассоциируется с тромбозами и акушерской патологией, что подтверждает результаты Л.А. Калашниковой и соавт. об отсутствии взаимосвязи между уровнем ФВАг и тяжестью клинических проявлений синдрома Снеддона [15]. В то же время согласно нашим ис-

Таблица 1

УРОВЕНЬ И ЧАСТОТА ВЫЯВЛЕНИЯ ПОВЫШЕННЫХ ЗНАЧЕНИЙ ФВАг
У БОЛЬНЫХ ПАФС, СКВ С АФС, СКВ И ЗДОРОВЫХ ДОНОРОВ

Диагноз	ПАФС	ВАФС	СКВ	Контрольная группа
Количество пациентов, n	21	39	68	56
ФВАг (МЕ/мл) Ме (ИР)	2,3* (1,4-3,5)	2,7* (1,6-4,2)	3,0* (2,0-4,4)	1,0 (0,8-1,2)
ФВАг $> 2,1$ (МЕ/мл), n (%)	11 (52,4)	22 (56,4)	50 (73,5)	0 (0,0)

Примечания: Ме - медиана, ИР - интерквартильный размах, * $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой, * $p < 0,02$ по сравнению с СКВ.

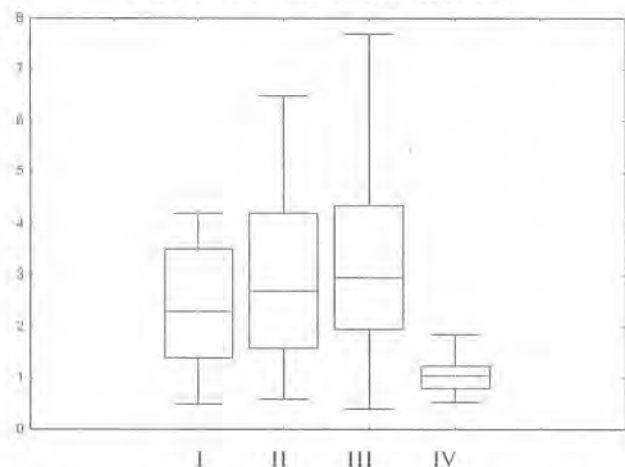
Таблица 2

УРОВЕНЬ И ЧАСТОТА ВЫЯВЛЕНИЯ ФВАг ПРИ АРТЕРИАЛЬНЫХ И ВЕНОЗНЫХ ТРОМБОЗАХ У БОЛЬНЫХ АФС

АФС	ТРОМБОЗЫ			
	артериальные	венозные	артериальные+венозные	нет
Количество пациентов, n	9	28	9	5
Ме (ИР)	1,8 (1,6-2,3)	3,45 (1,6-4,1)	1,9 (1,4-3,0)	2,4 (1,9-3,7)
ФВАг $> 2,1$ (МЕ/мл)	4 (44,4)	19 (68,0)	4 (44,4)	3 (60)

Рисунок 1

КОНЦЕНТРАЦИЯ ФВАГ У БОЛЬНЫХ С ПАФС, СКВ С АФС, СКВ И У ДОНОРОВ



П р и м е ч а н и е :
По оси ординат — концентрация ФВАг (Ме/мл). По оси абсцисс: I — ПАФС, II — СКВ с АФС, III — СКВ, IV — Доноры. 50% результатов измерения ФВАг представлены внутри боксов, горизонтальная линия внутри боксов соответствует медиане, нижняя граница боксов — 25-му перцентилю, верхняя граница боксов — 75-му перцентилю. Горизонтальные линии внизу иверху боксов — 96% определения ФВАг.

ЛИТЕРАТУРА

- Насонов Е.Л. Современные направления иммунологических исследований при хронических воспалительных и аутоиммунных заболеваниях человека. Тер. архив, 2001, 8, 43-46
- Malik A.B., Lo S.K. Vascular endothelial adhesion molecules and tissue inflammation. Lab. Invest., 1996, 48, 213-229
- Cinez D.B., Pollak E.S., Buck C.A. et al. Endothelial cells in physiology and in the pathophysiology of vascular disorders. Blood, 1998, 91, 3527-3561
- Salogin K.V., Nasonov E.L., Belenkov Yu.N. The role of endothelial cell in immunopathology. Sov. Arch. Int. Med., 1992, 64, 1, 16-24
- Hahn B.N. Systemic lupus erythematosus and accelerated atherosclerosis. New. Engl. J. Med., 2003, 349, 2379-2380
- Насонов Е.Л., Баранов А.А., Шилкина Н.П. Маркеры активации эндотелия (тромбомодулин, антиген фактора Виллебранда и ангиотензинпревращающий фермент): клиническое значение. Клини. мед., 1998, 11, 4-10
- Mannucci P.M. Von Willebrand factor. A marker of endothelial damage? Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol., 1998, 18, 1359-1362
- Lindsey N.L., Henderson F.I., Dowson R. et al. International Symposium on Antiphospholipid Antibodies, 5-th. San Antonio, 1992, 1-32
- Lai K.N., Leung J.C., Lai K.B. et al. Upregulation of adhesion molecule expression on endothelial cells by anti-DNA autoantibodies in systemic lupus erythematosus. Clin. Immunol. Immunopathol., 1996, 81, 229-38
- Баранов А.А., Насонов Е.Л., Шилкина Н.П. и др. Антиген фактора Виллебранда у больных ревматоидным васкулитом: метод определения и клиническое значение. Тер. архив, 1993, 3, 69-73
- Geggel R.L., Carvalho A.C., Hoyer L.W., Reid L.M. von Willebrand factor abnormalities in primary pulmonary hypertension. Am. Rev. Respir. Dis., 1987, 135, 294-299
- Баранов А.А. Клинико-иммунные аспекты патологии сосудов при системных васкулитах и некоторых ревматических заболеваниях. Автореф. дисс. д.м.н. Ярославль, 1998

следованиям и данным литературы [12, 22] увеличение концентрации ФВАг в сыворотках больных АФС коррелирует с повышением уровня IgG/IgM аКЛ, являющихся патогенетическим медиатором тромбозов при АФС. Имеются данные о том, что увеличение концентрации ФВАг у больных СКВ и АФС связано с повышением риска развития атеротромботических осложнений [23]. В этой связи определенный интерес представляют наши результаты о наличии у больных СКВ корреляции между уровнем ФВАг и hsCRP, который рассматривается не только как наиболее чувствительный маркер субклинического воспаления сосудистой стенки, но и как возможный медиатор тромбоза и атеротромбоза при АФС и СКВ. Ранее нами было показано, что повышение уровня CRP ассоциируется с развитием тромбозов, обнаружением IgG аКЛ и гиперпродукцией pVCAM-1 и pE-селектина у больных СКВ и АФС [24, 25]. Вместе с тем нами не выявлено достоверной связи между уровнем ФВАг и количеством атеросклеротических бляшек, толщиной КИМ и дислипидемией при СКВ.

Таким образом, гиперпродукция ФВАг, отражающая дисфункцию эндотелия, коррелирует с активностью патологического процесса при СКВ, однако не ассоциируется с тромботическими и атеротромботическими нарушениями при СКВ и АФС. Клиническое и прогностическое значение ФВАг в отношении риска развития тромботических осложнений и атеросклеротического поражения сосудов требует дальнейшего изучения.

- Wagner D.D., Bonfanti R. Von Willebrand factor and the endothelium. Mayo. Clin. Proc., 1991, 66, 621-627
- Насонов Е.Л., Саложин К.В., Штутман В.З. и др. Антитела к эндотелию, тромбомодулину и антиген фактора Виллебранда при полимиозите и дерматомиозите. Клини. мед., 1996, 6, 32-34
- Калашникова Л.А., Насонов Е.Л., Баранов А.А. и др. Синдром Снеддона и антиген фактора Виллебранда. Клини. мед., 1994, 3, 24-27
- Baranov A.A., Nasonov E.L., Shitman V.Z. et al. Von Willebrand factor antigen in polymyositis/dermatomyositis: correlation with extramuscular manifestation. IX EULAR Symposium. Madrid, 1996, p. 84.
- Mackworth-Young C.G., Andreotti F., Harmer I. et al. Endothelial-derived haemostatic factors and the antiphospholipid syndrome. Brit. J. Rheumatol., 1995, 34, 201-206
- 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
- Wilson W. A., Azzudin E. Gharavi A.E, Koike T. et al. International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome. Arthr. Rheum., 1999, 42, 1309-1311
- Александрова Е.Н., Насонов Е.Л., Ковалев В.Ю. Количественный иммуноферментный метод определения антител к кардиолипину в сыворотке крови. Клини. ревматол., 1986, 4, 35-39
- Woolf A.D., Wakerley G., Wallington T.B. et al. Factor VIII related antigen in the assessment of vasculitis. Ann. Rheum. Dis., 1987, 46, 441-447
- Nasonov E., Baranov A., Kovaliov V. von Willebrand factor antigen and antiphospholipid antibodies in systemic lupus erythematosus. Clin. Exp. Rheumatol., 1994, 12 (suppl 11), 97 (abst)
- Roman M.J., Salmon J.E., Sobel R. et al. Prevalence and relation to risk factors of carotid atherosclerosis and left ventricular hypertrophy in systemic lupus erythematosus and antiphospholipid antibody syndrome. Am. J. Cardiol., 2001, 87(5), 663-666
- Клюквина Н.Г., Баранов А.А., Александрова Е.Н. и др.

С-реактивный белок при системной красной волчанке: связь с тромботическими осложнениями. Клини. мед., 1997, 8, 24-27

25. Александрова Е.Н., Новиков А.А., Решетняк Т.М. и др.

Растворимые молекулы адгезии при антифосфолипидном синдроме, связанном с системной красной волчанкой, и первичном антифосфолипидном синдроме. Тер. архив, 2002, 5, 23-27

Поступила 5.05.04

Abstract

A.A. Novikov, E.N. Alexandrova, T.V. Popkova, T.M. Reshetnyak, N.G. Klyukvina, D.S. Novikova, I.B. Shtivelband, A.A. Baranov

Von Willebrand factor antigen in systemic lupus erythematosus and antiphospholipid syndrome.

Objective. To study clinical significance of von Willebrand factor antigen (WFA) in antiphospholipid syndrome and systemic lupus erythematosus (SLE).

Material and methods. Serum concentration of WFA was determined with immune-enzyme assay in 21 pts with primary APS (PAPS), 39 SLE pts with APS, 68 SLE pts and 56 healthy donors.

Results. WFA level in PAPS, SLE+APS and SLE was significantly higher than in donors. WFA concentration in serum of SLE pts without APS significantly exceeded that in PAPS. WFA concentration elevation was revealed in 52,4% of PAPS, 56,4% SLE+APS and 73,5% SLE pts. There was no association between WFA level, thromboses and obstetric pathology in PAPS and SLE. WFA concentration increase in SLE with APS correlated with IgM anticardiolipin antibodies and SLEDAI activity index ($p<0,05$), in SLE - with SLEDAI and ECLAM activity indices ($p<0,05$). WFA level in SLE pts with renal disease was significantly higher than in SLE pts without renal disease. There was a direct correlation between WFA level and ESR ($p<0,05$) so as with CRP ($p<0,05$) in SLE. There were no significant differences of WFA level in SLE pts with and without atherosclerotic plaques. WFA level did not correlate with intima-media complex thickness.

Conclusion. Development of immunopathological process in SLE and APS is associated with WFA hyperproduction. WFA elevated level reflects inflammatory activity of the disease in SLE but is not associated with presence of thrombotic and atherothrombotic complications in APS.

Key words: *von Willebrand factor antigen, antiphospholipid syndrome, systemic lupus erythematosus*