

ԾԾ ԶՍ Է.Օ. ՉԻՆՆԻՍԻԱՆԻ ԶԵՆՈՒՄԻՆԻՍՏԱՆԻ ԶԵՆՈՒՄԻՆԻՍՏԱՆԻ ԶԵՆՈՒՄԻՆԻՍՏԱՆԻ ԶԵՆՈՒՄԻՆԻՍՏԱՆԻ

ՄԱԾՈՒՄԻՆԻՍՏԱՆԻ ԶԵՆՈՒՄԻՆԻՍՏԱՆԻ ԶԵՆՈՒՄԻՆԻՍՏԱՆԻ

ՀԱՅԿԱՍՏԱՆԻ ԶԵՆՈՒՄԻՆԻՍՏԱՆԻ ԱՐԴՅՈՒՆԻՍՏԱՆԻ ԶԵՆՈՒՄԻՆԻՍՏԱՆԻ
ԶԵՆՈՒՄԻՆԻՍՏԱՆԻ ԶԵՆՈՒՄԻՆԻՍՏԱՆԻ ԶԵՆՈՒՄԻՆԻՍՏԱՆԻ

ԶԵՆՈՒՄԻՆԻՍՏԱՆԻ

Հ. 00.03 – ՖԻԶԻԿԱԿԱՆ ԶԵՆՈՒՄԻՆԻՍՏԱՆԻ
ՄԱՍԻՆԻՍՏԱՆԻ ԶԵՆՈՒՄԻՆԻՍՏԱՆԻ ԶԵՆՈՒՄԻՆԻՍՏԱՆԻ
ԶԵՆՈՒՄԻՆԻՍՏԱՆԻ ԶԵՆՈՒՄԻՆԻՍՏԱՆԻ

ԶԵՆՈՒՄԻՆԻՍՏԱՆԻ-2011

НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИНСТИТУТ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ МЗ РА ИМ. С.Х.АВДАЛБЕКЯНА

СИМОНЯН ЛУСИНЕ ГЕКТОРОВНА

ЭФФЕКТИВНОСТЬ МЕМБРАННОГО ПЛАЗМАФЕРЕЗА ПРИ ЛЕЧЕНИИ
ГЕМОРРАГИЧЕСКОГО ВАСКУЛИТА

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук по специальности
14.00.03 – «Внутренние болезни»

ЕРЕВАН-2011

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Геморрагический васкулит (ГВ) (геморрагический иммунный микротромбоваскулит, болезнь (пурпура) Шенлейна-Геноха, анафилактоидная пурпура) - один из самых распространенных геморрагических заболеваний, относящихся к гиперсенситивным васкулитам, в основе которого лежит асептическое воспаление и дезорганизация стенок микрососудов, множественное микротромбообразование в сосудах кожи, суставов и внутренних органов [Воробьев А.И., 1994, 1998; Лыскина Г.А., 2004; Цымбал И.Н., 2006; Balmeli C., Laux-End R., et al, 1996; Donghi D., Schanz U. et al, 2009]. Он остается одним из наиболее часто встречаемых системных васкулитов во многих странах Европы и Азии, что может быть связано с экологическим неблагополучием, аллергизирующим действием лекарственных препаратов и пищевых продуктов, наличием хронических инфекций. По данным некоторых авторов [Браунвальда Ю., 2002; Назарова О.А., Бобков В.А. и др., 2006; Фаучи Э., Salvarani C., Crowson C.S. et al., 2004], распространенность ГВ колеблется от 14 до 25 и более случаев на 100 тыс. населения.

В настоящее время уже доказана принадлежность ГВ к иммунокомплексным заболеваниям, при котором микрососуды подвергаются асептическому воспалению с тромбированием и образованием экстравазатов вследствие повреждающего действия циркулирующих низкомолекулярных иммунных комплексов и активированных компонентов системы комплемента.

Наряду с указанным выше основным патогенетическим механизмом при ряде вариантов болезни отмечается более или менее выраженное участие в процессе клеточно-опосредованных иммунных механизмов. Активированные антигеном и иммунными комплексами моноциты и лимфоциты скапливаются в участках поражения, освобождают монокины, тканевый тромбопластин, лимфокины, лизосомальные ферменты и другие компоненты, в результате чего усиливаются дезорганизация сосудистой стенки и локальное тромбообразование, образуются периваскулярные гранулемы [Назарова О.А., Бобков В.А. и др., 2006; Pillebout E., 2008].

Традиционное медикаментозное лечение ГВ, в основном направлено на достижение гипокоагуляционного эффекта и блокирование запускающего иммунокомплексного механизма. Между тем возможности одного лишь медикаментозного лечения часто недостаточны для срочной коррекции метаболических, реологических, иммунологических расстройств, играющих существенную роль в патогенезе заболевания.

Наблюдаемый рост заболеваемости, недостаточная эффективность существующих методов терапии обуславливает необходимость поиска новых подходов к лечению этих больных.

Накопленный опыт применения технологий экстракорпоральной гемокоррекции в комплексном лечении больных с данной патологией позволяет говорить о том, что в такой ситуации лечебный плазмаферез (ПА) может явиться одним из наиболее эффективных методов терапии, который ускоряет процесс выздоровления, снижая возможность осложнений и рецидивов. При этом биологический эффект ПА обусловлен многофакторным влиянием на организм и включает иммуностимулирующий, противовоспалительный, детоксикационный

эффекты. Действие ПА обусловлено с одной стороны - уменьшением концентрации антигенов и антител, токсинов, конечных продуктов обмена веществ, факторов воспаления и прокоагулянтов; с другой - восстановлением чувствительности клеточных рецепторов к гормонам и лекарствам, восстановлением нарушенного обмена веществ. Реокорректирующий эффект плазмафильтрации обусловлен тем, что в ходе процесса удаляется фибриноген, грубодисперсные белки, что снижает вязкость плазмы. Кроме этого с изменением функциональных свойств мембран клеток крови повышается пластичность и снижаются агрегационные свойства эритроцитов, а так же происходит дезагрегация уже сформировавшихся эритроцитарных агрегатов из-за нарушения мостиков в агрегате вследствие сорбции фибрина и γ -глобулинов. То есть положительная динамика реологических и гемодинамических показателей приводит к улучшению микроциркуляции, повышению кислородного снабжения органов и тканей, нормализации тканевого метаболизма [Дворецкий Л.И., Воробьев П.А., Рожков В.В., 1987; Guvenc B, Unsal C. et al, 2004.; Donghi D., Schanz U. et al, 2009].

В клинической практике используются два основных метода ПА: дискретный или центрифужный и мембранный или фильтрационный ПА.

В настоящее время лечебный ПА включен в качестве основного или дополнительного метода терапии в протоколы лечения более 100 заболеваний. Однако, несмотря на широкое внедрение ПА в клиническую практику, механизм клинического действия ПА остается до конца не выясненным, не определены биохимические маркеры эффективности данной процедуры.

Цель и задачи исследования. Целью настоящего исследования является определить эффективность применения мембранного ПА в комплексе лечения ГВ, а также провести сравнительную оценку методов (мембранного и центрифужного) ПА в комплексном лечении с традиционной МТ у больных с ГВ.

Для достижения намеченной цели были поставлены следующие задачи:

- оценить влияние ПА на клиническое состояние больных ГВ
- определить воздействие ПА на реологические свойства крови (на структурно-метаболическое состояние мембран эритроцитов) путем изучения фосфолипидного профиля и активности некоторых мембранно-ассоциированных ферментов при ГВ и после применения различных вариантов лечения
- определить влияние ПА на некоторые показатели гуморально-опосредованных механизмов иммунного ответа, а именно: концентрации Ig классов А, М, G и концентрации ЦИК при ГВ и после применения различных вариантов лечения
- определить влияние ПА на некоторые параметры гемостаза (агрегация тромбоцитов с АДФ, концентрация фибриногена) при ГВ и после применения различных методов лечения
- провести сравнительную характеристику эффективности мембранного и центрифужного ПА и медикаментозной терапии при лечении ГВ
- определить информативность экто-5'-нуклеотидазного теста в качестве биохимического критерия эффективности ПА при ГВ.

Практическая ценность. Дана сравнительная оценка эффективности различных методов плазмафереза в комплексном лечении геморрагического васкулита.

Разработаны показания и методика эфферентной терапии, основанная на динамике клинических, иммунологических и биохимических показателей с учетом катамнестических данных. Предложен надежный и эффективный тест для определения эффективности плазмафереза.

Научная новизна. В настоящей работе на основании клинических и биохимических данных впервые изучено: влияние различных методов терапии на реологические и структурно-функциональные свойства крови при ГВ; действие различных методов терапии на гуморально-опосредованные механизмы иммунного ответа, а именно: концентрации Ig классов А, М, G и концентрации ЦИК при ГВ; оценка информативности экто-5'-нуклеотидазы в качестве биохимического критерия эффективности плазмафереза при ГВ; терапевтическая эффективность мембранного ПА в комплексном лечении ГВ.

Апробация работы. Апробация диссертации проведена на заседании ученого совета АОЗТ им. Р.О.Еоляна “Гематологический центр” МЗ РА. Основные положения диссертации доложены и обсуждены на XIX-ом региональном конгрессе международного сообщества трансфузиологов (Каир, 2009); международной конференции “Актуальные вопросы гематологии и трансфузиологии” (Ереван-Степанакерт, 2010); XXXIII-ом Всемирном конгрессе Международного сообщества гематологов (Иерусалим, 2010).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 8 научных работ.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 129 страницах компьютерного набора и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов работы, собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций. Работа иллюстрирована 22 рисунками (сгруппированными в 11 рисунков) и 15 таблицами. Библиография содержит 312 источников.

Материал и методы исследований. Исследования проведены на 104 больных ГВ, находившихся на лечении в Гематологическом центре им. проф. Р.О.Еоляна МЗ РА с 2004 по 2009 гг. Обследование больных основывалось на оценке клинических данных (опрос больного, осмотр, пальпация, перкуссия, аускультация), общепринятых лабораторных и инструментальных методах исследования. План и объем диагностических исследований определялись как тяжестью клинического состояния больных, так и особенностями форм ГВ. Помимо общепринятых лабораторных исследований у больных определялись также коагулограмма и иммунологические показатели крови.

В зависимости от клинической формы ГВ пациенты были разделены на 2 основные группы: в I группу вошли 61 (57%) больной с простой формой (ПФ) заболевания, т.е. больные, у которых наблюдались только изменения кожи и суставов, во II группу – 43 (43%) больных со смешанной формой (СФ), т.е. больные у которых имели место изменения и в других органах и системах. Среди обследованных было 58 мужчин и 46 женщин. При этом женщин с ПФ - 51%, со СФ - 35%; мужчин с ПФ –

49%, со СФ - 65%. В каждой группе было проведено распределение больных по давности заболевания и по степени активности процесса.

Пациенты каждой группы по варианту проводимой терапии в свою очередь были разделены на 3 подгруппы:

- I подгруппа – 36 больных (21 - с ПФ и 15 – со СФ болезни), получавших комплексное лечение с применением мембранного плазмафереза (МПА) на аппарате “Гемофеникс”
- II подгруппа – 36 больных (21 – с ПФ и 15 – со СФ), получавших комплексное лечение с применением центрифужного плазмафереза (ЦПА)
- III подгруппа – 32 больных (19 – с ПФ и 13 со СФ), получавших только медикаментозную терапию (МТ). МТ проводили с использованием общепринятых лекарственных препаратов.

Сеансы лечебного ПА проводили в отделении гравитационной хирургии Гематологического центра МЗ РА с соблюдением правил асептики и антисептики и мониторингом клинического состояния и гемодинамических показателей крови. У всех больных рассчитывался КОД до и после проводимого лечения. Для проведения ЦПА после пункции кубитальной вены производили эксфузию крови в пластиковые контейнеры “Гемакон-500”, содержащие гемоконсервант CPDA-1 (цитрат-фосфат-декстроза-аденин). После завершения эксфузии вводили плазмозаменяющий раствор со скоростью 20-40 капель в мин. Наполненный кровью контейнер центрифугировали в рефрижераторных центрифугах в режиме 1200 об/мин в течение 10 мин. После центрифугирования контейнер извлекали и помещали в плазмоекстрактор (ПЭ-1). Аутоэритроцитарную массу внутривенно капельно реинфузировали больному, количество удаляемой плазмы замещалась физ. раствором в соотношении 1:2. При необходимости после аутотрансфузии аналогичный цикл процедуры повторялся. Продолжительность процедуры составляла 2-3 ч. Плазмоексфузия за сеанс составляла от 150 до 550мл низкообъемный ПА, а за курс – до 3850 мл. Каждому больному проводили от 3 до 7 сеансов ПА с интервалами от 2 до 3 дней. Количество удаляемой плазмы, сеансов и ритм их проведения устанавливался в зависимости от степени выраженности клинических проявлений, тяжести заболевания, общего состояния и веса больного.

МПА проводили на аппарате “Гемофеникс”. После венепункции и подключения инфузионного узла к венозному катетеру пациента начинался этап собственно ПА. Нормальный режим работы сопровождался постепенно нарастающим дефицитом возвращаемого объема, который восполнялся периодическим порционным возмещением плазмозаменяющими растворами после удаления плазмы в объеме 100-300 мл (в зависимости от массы тела больного). Процесс восполнения удаленного объема плазмы сопровождался реставрацией как проходимости, так и фильтрационной способности плазмафильтра, что позволяло обеспечить получение за сеанс до 1 литра плазмы, среднеобъемный ПА в течение 40 мин. В аппарате используется насос желудочкового типа и производительность его определяется ударным объемом, составляющим 10 мл. Поэтому в течение каждой фазы забора крови требовалось добавление раствора натрия цитрата в соотношении 1:18 или 1:12 при использовании гепарина. При гиперкоагуляции дозу антикоагулянтов увеличивали, а при гипокоагуляции – уменьшали. В случаях с повышенной вязкостью крови (при гематокрите выше 45%) не было нужды увеличивать дозу натрия цитрата или гепарина, при этом забираемую кровь дополнительно разбавляли добавлением

изотонического раствора натрия хлорида, создавая “экстракорпоральную гемодилюцию”. Завершали процедуру возмещением удаляемой плазмы. МПА проводили от 2 до 3 сеансов на фоне базисной терапии. В зависимости от формы и степени активности заболевания, возраста, массы тела при фильтрационном методе удалялось за один сеанс 600-1200 мл плазмы. Процедуры проводились с интервалом от 2 до 3 дней.

В биохимической части исследований для сравнительной оценки показателей нами была обследована контрольная группа практически здоровых лиц, состоящая из 25 человек. Биохимическим исследованиям подвергалась сыворотка крови и мембраны эритроцитов, выделенных общепринятыми методами [Limber J.R., 1970].

Общие липиды экстрагировали из ацетоновых порошков эритроцитарных мембран в течение 2-5 часов. Фракционирование индивидуальных ФЛ осуществляли методом тонкослойной хроматографии [Шталя Э, 1965] в модификации Казаряна П.А. [Казарян П.А., 1982] на закрепленном слое силикагеля марки ЛС 5/40 мк. Для разделения ФЛ методом одномерной хроматографии использовали систему растворителей хлороформ : метанол : вода (65:25:4 по объему). Время разгонки составляло в среднем 60 минут. После высушивания пластинки ФЛ обнаруживали парами йода. В отдельных случаях фракции идентифицировали с помощью свидетелей, а также по величинам Rf. Содержание липидного фосфора определяли по Светашеву [Светашев В.И., 1973], фотометрируя при 815 нм. Содержание ФЛ выражали в процентах от суммы.

Активность Ca^{2+} -АТФазы определяли по разнице между общей и Mg^{2+} -АТФазной активностями [Muszbek L. et al., 1977]. Общую АТФазную активность определяли в среде, содержащей 3 мМ АТФ, 20 мМ трисHCl, 100 мМ KCl, 5 мМ MgCl_2 . В среду для определения Mg^{2+} -АТФазной активности, помимо названных веществ, добавляли 0,1 мМ CaCl_2 . Реакцию начинали добавлением субстрата (АТФ). Об АТФазной активности судили по накоплению неорганического фосфора в инкубационной среде. Определение активности экто-5'-нуклеотидазы проводили по методу [Fioretti, E., et al., 1972] в инкубационной среде, содержащей 5мМ АМФ, 25мМ трисHCl, 100 мМ CaCl_2 , 50 мМ MgCl_2 . Реакцию начинали добавлением АМФ. Об активности судили по накоплению неорганического фосфора в инкубационной среде. Оптическую плотность измеряли при длине 700 нм. Активность мембранно-ассоциированных ферментов выражали в мкг неорганического фосфора на 1 мг белка. Содержание белка в пробах определяли по методу Lowry et al. [Lowry O.H., 1951].

Определение содержания иммуноглобулинов классов А, М и G проводили методом радиальной иммунодиффузии в агарозном геле по Mancini с использованием моноспецифических сывороток против IgA, IgM, IgG [Mancini G., 1965]. Для определения ЦИК использовали метод преципитации ЦИК 3,5 %-ным раствором полиэтиленгликоля. После инкубации и центрифугирования выпавшие в осадок ЦИК растворяли в растворе NaOH и определяли их содержание на спектрофотометре при длине волны 280 нм, выражая количество ЦИК в единицах оптической плотности [Tarnaka B., 2002]. Агрегацию тромбоцитов с АДФ и концентрацию фибриногена в крови определяли тестами, принятыми в клинической практике.

Все данные подвергнуты тщательному анализу. Результаты, полученные при обследовании пациентов, вносились в базу данных персонального компьютера. Затем с помощью пакета программ для статистической обработки SPSS 11 проводился их анализ. Статистическая обработка проводилась с учетом расчетов средней ошибки (х),

среднего квадратического отклонения (σ), ошибки средней арифметической (m). Достоверность различий оценивалась по t критерию Стьюдента. Обработка проводилась с использованием программы Excel 7.0 фирмы Microsoft.

Результаты собственных исследований. Анализ клинических данных до лечения свидетельствовал о том, что геморрагическая сыпь, одна из ведущих жалоб, встречалась у всех обследованных больных. Распространенность сыпи была различной. У 47% больных сыпь локализовалась лишь на конечностях и ягодице. У 34% больных сыпь распространялась по всему телу и у 19% больных - только в области разгибательных поверхностей суставов. У большинства больных (83%) наблюдалась повышенная температура тела.

Поражение суставов – второй по частоте встречаемости характерный признак ГВ. У всех больных отмечалось поражение суставов различного характера. У 83% обследованных наблюдалась болезненность того или иного сустава. Ограничение движений в суставах наблюдалось у 61% больных. При этом поражение голеностопного сустава было выявлено чаще всего - в 76% случаев, локтевого сустава - в 33%, коленного - в 30% и лучезапястного - в 21% случаев. У 75% больных имело место развитие околосуставного отека с изменением формы суставов, однако стойкой деформации суставов с нарушением их функции не наблюдалось.

Абдоминальный синдром – третий по частоте встречаемости признак ГВ. У больных отмечалась болезненность при пальпации брюшной полости, причем в основном это были больные со СФ (95%). У 27% обследованных выявлялась гепатомегалия, у 5% - спленомегалия. 33% больных жаловались на явления диспепсии.

При обследовании больных параклиническими методами были установлены (в основном у пациентов со СФ) следующие изменения: сонография брюшной полости у 35% обследуемых больных выявила картину изменения печени той или иной степени, спленомегалия встречалась реже - у 5% больных, изменение почек наблюдалось у 13% больных. Были обнаружены отклонения и лабораторных показателей. У подавляющего большинства пациентов отмечался умеренный (58%) и выраженный (29%) лейкоцитоз, а также повышение СОЭ (87% случаев).

Клинические наблюдения показали, что ПА оказывал многофакторное влияние на больных ГВ. Согласно нашим данным, после проведения ПА отмечалось улучшение всех клинических симптомов и лабораторных показателей. При этом положительная динамика была более выражена после проведения МПА. Так, выраженность кожного синдрома понижалась более чем в 2 раза, симптомы интоксикации - в 2,6 раз, субфебрильная температура оставалась лишь у 6% больных, болезненность в суставах уменьшалась почти в 2 раза. Существенно снижалась выраженность мочевого и абдоминального синдромов: в 3 и 6 раз соответственно. У более половины больных после процедуры МПА наблюдалась тенденция к нормализации СОЭ и количества лейкоцитов. Необходимо отметить, что в большинстве случаев улучшение клинического состояния наблюдалось уже после второго сеанса, т. е. на 4-6 день лечения.

Изучение данных больных, получавших курс ЦПА, выявило следующую картину: у 19% больных сохранились клинические симптомы интоксикации, у 11% больных отмечалась субфебрильная температура, 17% больных жаловались на болезненность при пальпации брюшной полости, у 56% больных оставался суставной

синдром, причем у 44% больных наблюдались ограничения движений в пораженных суставах. Изменения клинических данных наблюдались на 12-15 день лечения.

При сравнении терапевтического эффекта ПА с традиционным медикаментозным лечением данного заболевания нами было отмечено, что после медикаментозного лечения положительная динамика по ряду показателей была слабо выражена. В частности, не отмечено значительных изменений при суставном и мочевом синдромах, у большинства больных оставалось повышенным количество лейкоцитов. Полученные результаты свидетельствуют, что у больных получивших в комплексной терапии МПА наблюдалось укорочение сроков пребывания в стационаре по сравнению с больными получавшими ЦПА или только МТ.

Анализ клинических данных с учетом формы ГВ показал, что после процедуры плазмафереза у больных как с ПФ, так и со СФ наблюдалось улучшение всех клинических симптомов. Так, отмечено положительное влияние ПА на кожный синдром, причем изменению подвержены как характер сыпи, так и ее интенсивность и распространенность. После курсов МПА невыраженная сыпь присутствовала лишь у 19% пациентов с ПФ и 27% пациентов со СФ, в то время как после ЦПА сыпь оставалась у 33% больных с ПФ болезни и у 33% со СФ.

Положительная динамика регистрировалась и в отношении суставного синдрома: после МПА выраженность суставного синдрома снижалась до 43% при ПФ и до 47% при СФ, после сеансов ЦПА – до 52% и 60% соответственно. Более существенным изменениям подверглись такие симптомы как интоксикация и температура тела.

У 67% больных после проведения МПА наблюдалась нормализация количества лейкоцитов, у 69%-СОЭ. После проведения ЦПА у 56% больных отмечалась нормализация количества лейкоцитов и у 67% - СОЭ. Мочевой синдром оставался у 4 больных со СФ после проведения МПА. Таким образом, у больных, получивших курс ЦПА, нормализация основных клинических симптомов происходила медленнее, чем после МПА (рис. 1а, 1б).



Рис. 1а. Клинические изменения у больных с простой формой ГВ после различных вариантов терапии.

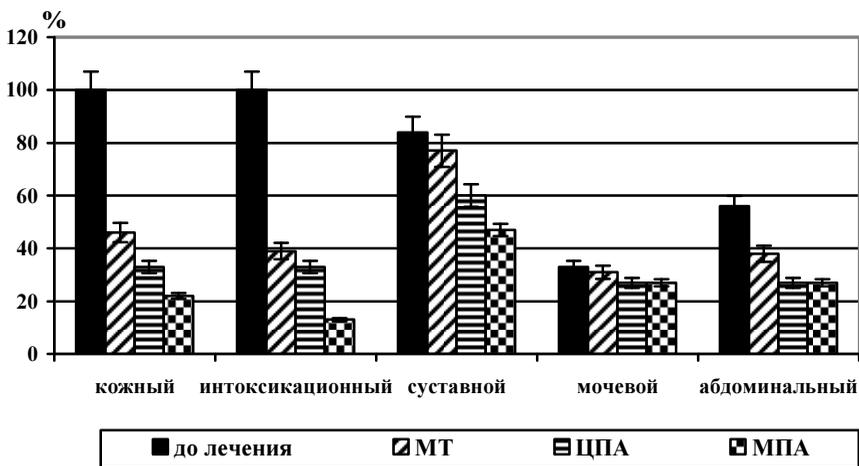


Рис. 16. Клинические изменения у больных со смешанной формой ГВ после различных вариантов терапии.

МТ с применением общепринятых схем лечения выявила следующую картину: сыпь наблюдалась у 47% пациентов с ПФ (у 1 больного - явно выраженная буллезная сыпь) и 46% - со СФ; суставной синдром – у 58% и 77% соответственно, при этом у 56% пациентов отмечались ограничения движения в пораженных суставах (рис 2а,2б). Необходимо отметить, что лабораторные показатели имели большую тенденцию к нормализации.

Для полной оценки эффективности проводимого лечения анализ полученных данных был произведен не только в зависимости от формы заболевания, но и от степени активности патологического процесса.

У 25% больных I степени активности болезни сыпь после проведения ЦПА оставалась выраженной, тогда как после МПА сыпь не наблюдалась у 100% больных. Умеренная сыпь оставалась у 40% больных с III степенью активности после центрифужного и у 30% больных – после мембранного ПА. После проведения МПА лишь у 45% больных со II степенью активности и у 50% с III степенью наблюдались невыраженные поражения того или иного сустава, тогда как после ЦПА - у 55% и 70% соответственно. Более выраженным изменениям подверглись такие симптомы как интоксикация и температура тела. У 67% больных после проведения МПА отмечалась нормализация уровня лейкоцитов, у 69% - СОЭ. После проведения ЦПА - у 56% и 67% соответственно.

Результаты исследования клинического состояния больных, получавших общепринятую МТ, позволяют констатировать, что, несмотря на положительную динамику всех клинических и лабораторных показателей, выявленные изменения были не столь выражены, как у больных, получавших курсы эфферентной терапии, в особенности МПА.

Таким образом, результаты исследования клинических данных больных ГВ свидетельствуют о том, что ПА является крайне эффективным методом лечения данного заболевания. После курса проведения ПА регистрируются явная положительная динамика клинических показателей у всех больных ГВ. Наиболее выраженные положительные изменения наблюдаются у больных с ПФ заболевания и I - II степенью активности заболевания. Т.о. можно заключить, что эффективность ПА зависит как от формы заболевания и активности патологического процесса, так и от метода его проведения (центрифужный или мембранный). После сеансов МПА положительная динамика всех клинических симптомов более выражена, а также наблюдается укорочение сроков пребывания больных в стационаре. У больных, получавших только медикаментозное лечение, улучшение состояния было не столь выраженным.

Согласно литературным данным и данным собственных исследований, одним из центральных звеньев патогенеза ГВ является увеличение в крови содержания основных классов Ig, преимущественно Ig A, циркулирующих иммунных комплексов, усиление процессов тромбообразования и снижение деформальности эритроцитов вследствие изменения структурно-функционального статуса их мембран. В связи с этим мы провели комплексное исследование структурно-метаболического статуса эритроцитарных мембран, а также некоторых иммунопатологических составляющих ГВ для выявления их возможной роли в патогенезе заболевания и формировании гемореологических расстройств. Вместе с этим предпринята попытка оценить эффективность различных методик проведения ПА для коррекции нарушенных метаболических процессов при ГВ и сравнить их с действием традиционной МТ.

Результаты исследований свидетельствовали о том, что развитие ГВ сопровождалось значительными изменениями уровня индивидуальных фосфолипидов эритроцитов как при ПФ, так и при СФ заболевания. Так, при ПФ заболевания выявлено статистически достоверное повышение процентного содержания лизофосфатидилхолинов, фосфатидилинозитидов, фосфатидилэтаноламинов, фосфатидилсеринов и фосфатидных кислот с одновременным уменьшением (в 1,4 раза) доли фосфатидилхолинов. При этом наиболее выраженные изменения регистрировались при III-й степени активности заболевания. СФ васкулита характеризовалась дальнейшим повышением уровня фосфатидилинозитидов (почти в 2 раза), сфингомиелинов (в 2,4 раза), а также лизофосфатидилхолинов – цитотоксичных продуктов липолиза (в 3,6 раз) (табл.1). Увеличение содержания последних сопровождало существенное понижение количества фосфатидилхолинов (почти в 3 раза). Обнаруженное нами статистически достоверное увеличение доли дифосфатидилглицеринов на фоне уменьшения основного компонента фосфолипидного пула – фосфатидилхолинов, по-видимому, может отражать компенсаторные сдвиги, направленные на поддержание стабильности эритроцитарных мембран за счет взаимодействия дифосфатидилглицеринов с белковыми компонентами.

Таблица 1

Изменение содержания индивидуальных фосфолипидов мембран эритроцитов до и после лечения при смешанной форме геморрагического васкулита (в % от суммы)

ФЛ	контроль n=25	до лечения n=25	после лечения		
			МПА n=15	ЦПА n=15	МТ n=13
ЛФХ	3,68±0,26	13,10±0,44***	6,53±0,20**	6,25±0,39**	8,57±0,41***
ФИ	8,13±0,25	15,50±0,58**	10,33±1,54*	10,40±0,58*	12,27±0,92
СМ	11,15±0,34	27,23±0,82***	12,80±1,78	20,55±0,51**	20,63±0,94**
ФХ	44,86±1,04	15,53±0,86***	37,53±1,35*	30,95±0,46**	28,77±1,34**
ФЭ	15,81±0,37	3,93±0,50***	11,10±1,70*	6,80±0,58**	6,60±1,20**
ФС	8,17±0,26	5,63±0,46*	8,57±2,07	8,10±0,36	6,10±0,84
ФК	3,26±0,18	5,47±0,53*	5,70±0,22*	6,50±0,43**	6,30±1,22**
ДФГ	4,35±0,17	13,47±0,66***	7,50±1,61**	10,80±0,68***	11,97±1,23***

Примечание: * - P<0.05, ** - P<0.01, *** - P<0.001; без обозначений – данные статистически не достоверны. P – сравнение данных с контролем.

Примечательно, что при СФ заболевания отмечается резкое снижение уровней фосфатидилэтаноламинов (в 4 раза) и фосфатидилсеринов (в 1,5 раза). Снижение основных фосфолипидных фракций приводит к нарушению жидкостных свойств клеточных мембран, уменьшению величины суммарного отрицательного заряда и, как следствие, к изменению агрегационной активности эритроцитов. В ряде работ показано, что снижение общего содержания фосфолипидов в мембране эритроцитов, происходящее, преимущественно за счет уменьшения доли фосфатидилхолинов и фосфатидилэтаноламинов, является одним из признаков старения эритроцитов. При этом резкое снижение доли фосфатидилэтаноламинов обуславливает нарушение внутриэритроцитарного гомеостаза, угнетение антиокислительной активности липидов.

Статистически достоверное повышение концентрации одного из ключевых метаболитов фосфатидогенеза – фосфатидных кислот, отмечаемое как при ПФ, так и СФ васкулита, указывало на нарушение структуры мембраны, обусловленное действием эндогенной фосфолипазы Д. Известно, что фосфатидные кислоты являются Ca²⁺-ионоформами и вместе с фосфатидилинозитами играют существенную роль в регуляции концентрации кальция. Следовательно, можно предположить, что аккумуляция кальция за счет повышения уровней фосфатидилинозитидов и фосфатидных кислот может явиться своего рода пусковым механизмом активации Са-зависимых фосфолипаз, перекисного окисления, а также модулировать проницаемость мембран, приводя к внутриклеточным потерям физиологически важных ионов калия. Увеличение внутриклеточного кальция, в свою очередь, снижает деформируемость мембран эритроцитов.

Согласно общепризнанной концепции, для нормального функционирования различных органов и систем организма большое значение имеет физиологически установившееся постоянство соотношений между отдельными представителями

фосфолипидов. Наши исследования показали, что ГВ сопровождается статистически достоверным понижением величины соотношения нейтральные фосфолипиды/кислые фосфолипиды при обеих формах болезни, что связано как с убылью фосфатидилхолинов и фосфатидилэтаноламинов – основных фосфолипидов эритроцитов, так и с нарастанием метаболически более активных дифосфатидилглицеринов, фосфатидных кислот и фосфатидинозитидов. При смешанной форме выявлено также существенное повышение (в 2,4 раза) отношения холинсодержащих фосфолипидов, дислоцирующихся в поверхностном слое мембраны, к аминсодержащим, локализованным во внутреннем слое, что свидетельствует о повышении ригидности мембраны и, следовательно, о выраженном снижении деформабельности эритроцитов при данной форме ГВ. В противоположность этому, при простой форме болезни отношение холинсодержащих фосфолипидов к аминсодержащим не подвергается значительным изменениям и колеблется в пределах контрольных величин.

Благодаря асимметричному расположению фосфатидилхолинов и фосфатидилэтаноламинов, а также фосфатидилсеринов в бислойной мембране, изменение их соотношения может существенно влиять на величину площадей липидных монослоев, играющих важную роль в обеспечении физических свойств клетки. Более того, регистрирующийся в таких случаях переход фосфатидилсеринов в наружный липидный бислой, в свою очередь, может инициировать активацию Ca^{2+} -зависимой внутриклеточной сигнальной системы, повышая агрегационную активность эритроцитов. Так, если при ПФ заболевания коэффициент отношения фосфатидилэтаноламинов/фосфатидилхолины не подвергается каким-либо заметным изменениям, то при смешанной форме отмечается его некоторое снижение, свидетельствующее о повышении микровязкости эритроцитарных мембран. Что касается величины отношения фосфатидилсерины/фосфатидилхолины, то при обеих формах болезни отмечается ее двукратное повышение, наиболее отчетливо выраженное при III-й степени активности процесса, указывая на повышение агрегационной активности эритроцитов. Можно предположить, что у больных, в особенности при СФ, наблюдается увеличение популяции старых эритроцитов, характерной особенностью которых является повышенная микровязкость плазматической мембраны. Последние, как известно, обладают иммуностимулирующей активностью, в свою очередь провоцируя развитие патологии. Об увеличении вязкости наружного слоя мембраны указывает повышение отношения сфингомиелины/фосфатидилхолины как при ПФ, так и при СФ болезни в 2 и 7 раз соответственно (табл.2). Увеличение уровня сфингомиелинов в мембране способствует уменьшению подвижности ацильных цепей жирных кислот фосфолипидов, что в конечном итоге может привести к повышению упорядоченности липидных молекул и снижению текучести мембраны эритроцитов. Между тем изменение вязкоэластичных свойств мембраны эритроцитов и потеря деформируемости в конечном итоге приведет к нарушению микроциркуляции.

Таблица 2

**Изменение фосфолипид-фосфолипидных соотношений
в мембранах эритроцитов до и после лечения при смешанной форме
геморрагического васкулита**

ФЛ	контроль n=25	до лечения n=25	после лечения		
			МПА n=15	ЦПА n=15	МТ n=13
НФЛ/КФЛ	3,16±0,11	1,49±0,02**	2,12±0,08	1,80±0,07**	1,76±0,07**
холинсод./ аминсод.	2,49±0,08	5,84±0,45**	2,89±0,11	3,88±0,12*	4,57±0,16**
ЛФХ/ФХ	0,08±0,02	0,84±0,22***	0,17±0,06**	0,20±0,03**	0,30±0,11***
ФК/ФХ	0,07±0,03	0,35±0,10***	0,15±0,05**	0,21±0,05***	0,22±0,08***
ФЭ/ФХ	0,35±0,15	0,25±0,07*	0,30±0,10	0,22±0,07*	0,23±0,04*
ФС/ФХ	0,18±0,07	0,36±0,13**	0,23±0,08	0,26±0,04*	0,21±0,04
СМ/ФХ	0,25±0,07	1,75±0,08***	0,34±0,14*	0,66±0,09**	0,72±0,11**

Примечание: * - P<0,05, ** - P<0,01, *** - P<0,001; без обозначений – данные статистически не достоверны. P – сравнение данных с контролем.

Таким образом, при ГВ в мембранах эритроцитов наблюдаются нарушения количественных соотношений между различными фосфолипидами, что, несомненно, может стать одной из причин патологических изменений эритроцитов при данной патологии.

Изучение корректирующего влияния ПА на структурно-метаболические характеристики эритроцитарных мембран позволило выявить ряд особенностей. Было установлено, что как мембранный, так и центрифужный ПА существенно нормализуют качественный и количественный состав фосфолипидов эритроцитарных мембран. Так, у больных с ПФ болезни на фоне лечения наблюдалась почти полная нормализация уровней всех основных классов ФЛ. Было установлено существенное увеличение фракции фосфатидилхолинов после плазмафереза. В этих условиях концентрация лизофосфатидилхолинов резко снижается, что свидетельствует о подавлении активности фосфолипазы А₂ и активировании ацилтрансфераз, участвующих в их рецилировании до фосфатидилхолинов. Отмечена также почти полная нормализация уровней легкоокисляемых фосфатидилэтаноламинов, фосфатидилсеринов и фосфатидных кислот. При этом изменения наиболее выражены у больных, получавших МПА. У пациентов, проходившие курсы ЦПА, регистрируются несколько повышенный уровень фосфатидинозитидов и фосфатидилсеринов.

Как указывалось выше, изменение липидного профиля у больных со СФ носило более выраженный характер, свидетельствовавший о явной дезорганизации мембран. При этом наиболее значительным изменениям подвергались кислые фракции фосфолипидов, которым, по современным представлениям, отводится

регуляторная роль в реакциях тканевого и организменного иммунитета. После применения ПА наблюдается определенная коррекция метаболизма мембранных фосфолипидов у пациентов данной группы. При этом положительные сдвиги в фосфолипидном спектре регистрируются при использовании обеих методик ПА, однако отчетливо выражены после применении МПА. Так, после курсов МПА наблюдается заметная тенденция к нормализации уровней почти всех основных классов фосфолипидов, наиболее выраженная во фракциях фосфатидилсеринов, сфингомиелинов, фосфатидилинозитидов и фосфатидилэтаноламинов. Между тем при использовании ЦПА определенная коррекция отмечается лишь в содержании лизофосфатидилхолинов, фосфатидилинозитидов, фосфатидилсеринов, в то время как у основных фосфолипидов эритроцитарных мембран – фосфатидилхолинов, сфингомиелинов и фосфатидилэтаноламинов, регистрируется лишь слабо выраженная тенденция к нормализации. Необходимо отметить, что, несмотря на выраженный корригирующий эффект ПА на большинство фракций фосфолипидов, уровень дифосфатидилглицерина после лечения остается на повышенном уровне.

Другая картина наблюдается после применения медикаментозной терапии. Так, при СФ болезни количество основных фосфолипидов эритроцитов – фосфатидилхолинов и фосфатидилэтаноламинов, остается ниже контрольных величин в 1,6 и 2,4 раз соответственно. Одновременно регистрируется повышенный уровень цитотоксичных лизофосфатидилхолинов (превышают норму в 2,3 раза). Между тем известно, что последние могут способствовать выбросу ряда провоспалительных факторов, усугубляя течение патологического процесса и приводя к развитию осложнений. С другой стороны, почти в 2 раза превышающий контрольные величины уровень сфингомиелинов, находящихся преимущественно в наружном слое мембраны, свидетельствует о снижении текучести данного монослоя, что, несомненно, отразится на деформационных свойствах эритроцитов. Об этом же свидетельствуют заметно повышенные уровни дифосфатидилглицеринов, фосфатидных кислот и фосфатидилинозитидов, которые способствуют увеличению концентрации внутриклеточного кальция, также влияя на физические характеристики эритроцитов. Ослабление последних неизбежно приведет к изменению реологического поведения эритроцитов, способствуя повышению вязкости крови и, возможно, усугубляя степень тромбофилии у больных со СФ заболевания.

После предпринятой терапии обнаружена также почти полная нормализация коэффициентов изученных фосфолипид-фосфолипидных отношений, указывая на восстановление физических и структурно-метаболических характеристик эритроцитарных мембран. При этом со всей уверенностью можно констатировать, что наибольшая коррекция достигается именно после применения ПА, и преимущественно – МПА.

С учетом всей важности нормального функционирования мембранно-связанных ферментов в жизнедеятельности эритроцитов наши дальнейшие исследования были посвящены изучению активностей транспортных общей, Mg^{2+} - и Ca^{2+} -АТФаз, а также экто-5'-нуклеотидазы при ГВ до и после различных вариантов терапии.

Согласно полученным данным, в мембране эритроцитов больных ГВ выявлено отчетливое угнетение активности мембранно-ассоциированных ферментов по сравнению с аналогичными показателями у лиц контрольной группы. Установлено, что наиболее существенным изменениям подвергается активность одного из маркеров

плазматической мембраны – экто-5'-нуклеотидазы: она снижается 3,4 раз у больных с ПФ ($p < 0,001$) и более чем в 5 раз – у пациентов со СФ. Как известно, активность экто-5'-нуклеотидазы регулируется состоянием текучести наружного слоя мембраны (фосфатидилхолины/сфингомиелины). Несомненно, что подавление активности фермента обусловлено повышенной ригидностью наружного слоя мембраны в эритроцитах, отмечаемой в наших исследованиях при обеих формах ГВ.

Таблица 3

Изменение активности мембранно-ассоциированных ферментов эритроцитов до и после лечения при смешанной форме геморрагического васкулита (в мкмольях Фн/г)

ФЛ	контроль n=25	до лечения n=25	после лечения		
			МПА n=15	ЦПА n=15	МТ n=13
общая АТФаза	2,00±0,04	1,64±0,03*	1,94±0,04	2,51±0,08*	2,0±0,08
Mg²⁺-АТФаза	1,56±0,02	1,28±0,02*	1,39±0,03*	1,82±0,08*	1,65±0,08*
Ca²⁺-АТФаза	0,44±0,04	0,36±0,02	0,56±0,03	0,70±0,04*	0,35±0,02
экто-5'- нуклеотидаза	1,63±0,29	0,31±0,02***	1,18±0,05*	0,91±0,06*	0,60±0,02**

Примечание: * - $P < 0,05$, ** - $P < 0,01$, *** - $P < 0,001$; без обозначений – данные статистически не достоверны. P – сравнение данных с контролем.

Интересно отметить, что ПФ болезни характеризуется незначительными колебаниями активности всех изученных АТФ-аз. Изменения при СФ более выражены, наблюдается некоторое понижение их активности (табл.3). Несомненно, что снижению активности исследуемых АТФ-аз способствует окислительная деструкция основных классов фосфатидов-глицеридов и накопление лизофосфолипидов, имеющее место в наших исследованиях. Последнее чревато переходом липидного бислоя в монослой, активацией проницаемости мембраны для катионов, солюбилизацией мембранно-ассоциированных ферментов.

Таким образом, изменение липидного спектра эритроцитарных мембран в совокупности с изменением профиля липид-липидных взаимоотношений в эритроцитарных мембранах при ГВ закономерно приводит к утрате способности клеток регулировать ионный гомеостаз, нарушению деятельности мембранно-ассоциированных ферментов, что в конечном итоге является причиной необратимых изменений структурно-метаболического статуса эритроцитов.

Интересная картина разворачивается на фоне терапии. Так, после процедуры ПА у больных как с ПФ, так и со СФ регистрировались превышающие контрольные величины активности общей АТФазы. Ca²⁺-АТФазная активность также превышала норму. Мы полагаем, что это явление носит компенсаторно-адаптивный характер и направлено на поддержание трансмембранной асимметрии ионов после терапии и сохранение осмотической резистентности эритроцитов. Ведь снижение скорости выхода ионов кальция, имеющее место в результате трансмембранных перестроек

фосфолипидов, и изменение ригидности мембраны вызывает и повышение внутриклеточной концентрации ионов натрия, приводя к изменению проницаемости эритроцитов для воды. Изменения Mg^{2+} -АТФазной активности, ответственной за пассивный транспорт, менее выражены и колеблются в пределах контрольных величин. После МТ корригирующий эффект менее выражен, особенно у больных со СФ.

Интересная закономерность обнаружена при исследовании активности экто-5'-нуклеотидазы при ГВ, расположенной в наружном липидном монослое. Как показали наши исследования, активность фермента снижалась пропорционально увеличению степени активности процесса. При этом наименьшая активность регистрировалась у больных со СФ при III-й степени активности (меньше контрольных величин в 4,7 раз).

У больных с ПФ активность фермента после МПА составила $1,50 \pm 0,04$ мкмоль Фн/г против $1,63 \pm 0,29$ нормы, после ЦПА – $1,43 \pm 0,04$, и после МТ – $0,78 \pm 0,05$. У больных со СФ наименьшая экто-5'-нуклеотидазная активность наблюдалась после медикаментозного лечения. Дефицит фермента в мембранах эритроцитов после традиционной терапии, несомненно, приведет к снижению аденилатного энергетического заряда и повышению их агрегационных свойств. После применения обеих методик ПА в комплексной терапии наблюдалась явно выраженная тенденция к нормализации активности фермента.

Учитывая важное значение Ig и ЦИК в развитии ГВ и их роли в осуществлении гуморально-опосредованного иммунного ответа, а также принимая во внимание наблюдающуюся коррелятивную связь между уровнем фибриногена, СОЭ и тромбогенезом, нами было проведено исследование концентрации иммуноглобулинов классов А, М, G, ЦИК, фибриногена и скорости агрегации тромбоцитов в зависимости от различной степени активности патологического процесса.

Результаты исследований указывают на значительное повышение концентрации фибриногена в плазме больных ГВ при обеих формах заболевания, при этом максимальные значения регистрируются при III-й степени активности процесса. Как известно, фибриноген является одним из важных факторов свертывания, кофактором агрегации тромбоцитов и определяет вязкость крови. Примечательно, что рост концентрации фибриногена коррелируется с повышением СОЭ, указывая на изменение реологических характеристик крови. Известно, что увеличение содержания асимметричных белков, в частности фибриногена, приводит к повышению прочности связей между эритроцитами, вызывая агглютинацию и слипание эритроцитов, следовательно, к более высокой скорости оседания. На этом фоне было выявлено существенное возрастание скорости агрегации тромбоцитов.

Таблица 4

Изменение некоторых биохимических параметров в крови больных до и после лечения при смешанной форме геморрагического васкулита

показатели	контроль n=25	до лечения n=25	после лечения		
			МПА n=15	ЦПА n=15	МТ n=13
фибриноген	3,0±0,07	5,7±0,7*	3,2±0,3	3,9±0,3	4,5±0,6*
агрегация тромбоцитов с АДФ	19,0±0,3	26,5±1,4*	18,3±0,2	19,8±0,7	21,1±0,2
экто-5'- нуклеотидаза	0,54±0,04	1,17±0,1**	0,74±0,1*	0,80±0,1**	1,01±0,1**

Примечание: * - P<0.05, ** - P<0.01, *** - P<0.001; без обозначений – данные статистически не достоверны. P – сравнение данных с контролем

После проведения ПА наблюдается снижение уровня фибриногена до референтных значений (табл.4). Справедливо отметить, что после ЦПА уровень фибриногена колеблется в пределах верхней границы нормы. После МТ не наблюдается полноценной нормализации. После МПА полностью нормализуются все перечисленные показатели.

Ввиду того, что нарушения в системе иммунитета лежат в основе патогенеза ГВ, определяют тяжесть органических поражений, контроль над данной системой имеет первостепенное значение как в определении степени тяжести заболевания и активности процесса, так и при выборе тактики терапии и адекватной оценке ее эффективности.

Таблица 5

Изменение концентрации иммуноглобулинов и ЦИК в крови больных до и после лечения при смешанной форме геморрагического васкулита

показатели	контроль n=25	до лечения n=25	после лечения		
			МПА n=15	ЦПА n=15	МТ n=13
Ig A	2,49±0,4	6,43±1,4***	2,97±0,8	4,40±0,6*	6,97±0,4**
Ig M	1,25±0,1	2,47±0,3*	1,60±0,2	1,65±0,1	1,43±0,1
Ig G	10,45±0,5	2,50±0,7***	8,0±1,3	7,65±0,4	7,30±0,3
ЦИК	135,1±1,2	507,53±19,5***	141,0±1,8	161,95±6,5	202,90±16,3*

Примечание: * - P<0.05, ** - P<0.01, *** - P<0.001; без обозначений – данные статистически не достоверны. P – сравнение данных с контролем

Согласно нашим данным, при ПФ заболевания отмечается резкое возрастание уровня ЦИК (в 3,4 раза) в крови, преимущественно за счет усиленной продукции IgA, концентрация которых повышается в 5,5 раз. В этих условиях отмечается почти

двукратное увеличение уровня IgM, в то время как концентрация IgG снижается в 1,8 раз. Обнаруженные изменения, вероятно, обусловлены снижением активности гуморального звена иммунитета при ГВ. Схожая закономерность наблюдается и при СФ болезни, при этом изменения в содержании ЦИК и Ig более ярко выражены. Так, концентрация ЦИК повышена в 4 раза, а уровень IgA - в 6,6 раз (табл.5). На этом фоне наблюдается более чем четырехкратное снижение IgG, играющих, как известно, основополагающую роль в гуморальном иммунитете при инфекционных заболеваниях, вызывая гибель возбудителя.

Необходимо напомнить, что главным показанием к использованию ПА при аутоиммунных заболеваниях, является его иммунокорректирующий эффект. Результаты данных изучения гуморально-опосредованных механизмов иммунного ответа при ГВ свидетельствует о достижении полного иммунокорректирующего эффекта после применения ПА. Так, уровни IgA и M снижались достоверно, при этом эффект наиболее выражен после применения МПА, а уровень IgG повышался, приближаясь к норме. Количество ЦИК в процессе МПА снижался до нормальных величин, а после центрифужного – в 2,6-3 раза, указывая о снижении активности системного воспалительного ответа и переходе в стадию ремиссии. После использовании традиционной МТ в крови больных обеих групп регистрировался все еще повышенный уровень IgA и ЦИК, отмечалась лишь тенденция к нормализации.

Таким образом, наблюдаемая нормализация уровня ЦИК, являющееся характерным неспецифическим маркером системных заболеваний сосудов, и уровней основных классов Ig, с одной стороны, а также концентрации фибриногена – основного острофазного белка и фактора свертывания крови и скорости агрегации тромбоцитов – с другой, свидетельствуют о выраженном положительном влиянии плазмафереза, преимущественно мембранного, на гемореологические и коагуляционные характеристики крови.

Интересная закономерность прослеживается при исследовании активности сывороточной экто-5[′]-нуклеотидазы у больных ГВ. Согласно данным последних лет [Зубаиров Д.М., Зубаирова Л.Д., 2000; Furie V., Furie B.C., 2005; Sinauridze E.I., 2007], в качестве важнейших участников инициальных событий активации свертывания крови и тромбообразования рассматриваются содержащие экто-5[′]-нуклеотидазу, микровезикулы – мембранные фрагменты, отделяемые при активации и апоптозе клеток. Экто-5[′]-нуклеотидаза рассматривается в качестве одного из чувствительных показателей активности системы свертывания крови. Следовательно, можно предположить, что активность экто-5[′]-нуклеотидазы в крови больных ГВ коррелируется с гиперкоагулемической реакцией. С другой стороны, активность экто-5[′]-нуклеотидазы в сыворотке крови является отражением функциональной активности клеток иммунной системы [Тапбергенов Т.С., Тапбергенов С.О., 2005; Zborovsky A.B, Zavadovsky B.V. et al., 2006; Daghbashyan S.S., Peparyan F.F. et al, 2009]. Показано, что активация сывороточной экто-5[′]-нуклеотидазы является показателем снижения фагоцитарной активности макрофагов. При этом указывается на определенную корреляцию с повышенным уровнем ЦИК и СОЭ.

Согласно полученным данным, как при ПФ, так и при СФ болезни наблюдалось повышение активности фермента. При этом, как показано на рисунке 2, активность фермента в сыворотке возрастала по мере усугубления заболевания.

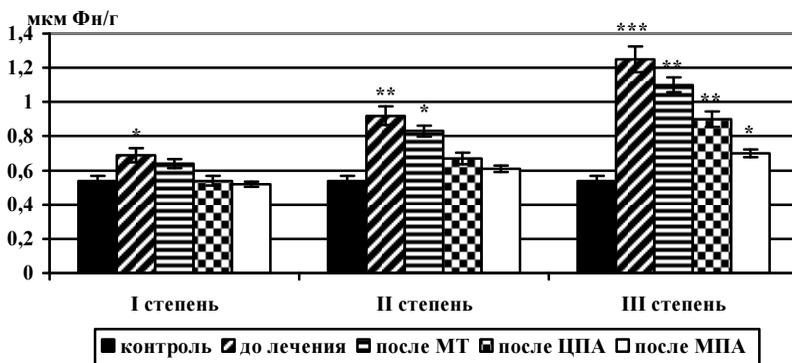


Рис. 2. Активность экто-5'-нуклеотидазы в сыворотке больных ГВ в зависимости от степени активности процесса до и после лечения (в мкм Фн/г).

Примечание: * - $P < 0.05$, ** - $P < 0.01$, *** - $P < 0.001$; без обозначений – данные статистически не достоверны. P – сравнение данных с контролем.

С другой стороны, изменение экто-5'-нуклеотидазной активности полностью коррелировало с изменением основных иммунологических и реологических показателей. Та же закономерность наблюдалась после использования различных методов терапии. При этом необходимо отметить, что после МПА активность экто-5'-нуклеотидазы приближалась к норме максимально.

В учете вышеизложенного необходимо отметить, что активность экто-5'-нуклеотидазы в сыворотке крови является весьма чувствительным показателем, одновременно отражающим как функциональную полноценность иммунитета, так и активность гемостатической реакции в организме. Мы полагаем, что активность экто-5'-нуклеотидазы не только может стать дополнительным тестом, отражающим активность процесса при ГВ, но и явиться надежным критерием оценки эффективности терапии, в частности эффективности ПА, при данном заболевании.

Таким образом, с учетом многофакторного влияния ПА на организм, обусловленного его иммунокорректирующей, реокорректирующей и детоксикационной направленностью, можно заключить, что при ГВ данное лечение может применяться в качестве основного метода патогенетической терапии. При этом МПА является наиболее физиологичным, позволяет в кратчайшие сроки (за счет наибольшего объема эксфузируемой плазмы) не только полностью купировать развитие иммунопатологических процессов, но и существенным образом стабилизировать структурно-метаболические характеристики эритроцитарных мембран, тем самым, предотвращая развитие микроциркуляторных нарушений и коагуляционных осложнений.

Исходя из вышеизложенного, можно заключить, что включение мембранного плазмафереза в комплексную терапию является наиболее эффективным методом лечения ГВ.

ВЫВОДЫ

1. Плазмаферез является эффективным лечением геморрагического васкулита и может применяться в качестве основного метода патогенетической терапии. По сравнению с традиционным медикаментозным лечением применение плазмафереза в комплексной терапии при геморрагическом васкулите имеет более выраженный терапевтический эффект.

2. Эффективность плазмафереза зависит от формы заболевания, активности патологического процесса, а также от методики его проведения (центрифужный или мембранный). Наиболее выраженные положительные изменения наблюдаются у больных с простой формой заболевания и при I - II степени активности процесса.

3. Плазмаферез оказывает выраженное корригирующее действие на структурно-функциональный статус мембран эритроцитов, а именно:

а) наблюдается существенная тенденция к нормализации уровней почти всех основных классов фосфолипидов, а также фосфолипид-фосфолипидных соотношений,

б) заметно повышается активность мембранно-ассоциированных ионотранспортных АТФ-аз и экто-5'-нуклеотидазы.

4. После проведения мембранного плазмафереза отмечается нормализация показателей, характеризующих состояние гуморального звена иммунного ответа, а именно: концентрации иммуноглобулинов классов А, М, G и ЦИК.

5. Наиболее выраженная коррекция коагуляционного звена гемостаза, снижение концентрации фибриногена и скорости агрегации тромбоцитов до уровня контрольных величин наблюдаются после мембранного плазмафереза.

6. После проведения комплексного лечения с использованием мембранного плазмафереза положительная динамика клинических симптомов и биохимических показателей более выражена по сравнению с данными полученными при применении центрифужного плазмафереза и медикаментозной терапии.

7. Определение активности экто-5'-нуклеотидазы в сыворотке крови может стать надежным биохимическим тестом, отражающим эффективность плазмафереза при геморрагическом васкулите.

Практические рекомендации.

1. Сопоставление результатов биохимических исследований с клиническими данными позволяет рекомендовать включение мембранного плазмафереза в комплекс мероприятий при лечении геморрагического васкулита, что повышает клинический эффект, предупреждает прогрессирование болезни, развитие осложнений, а также приводит к укорочению сроков пребывания в стационаре.

2. В качестве критерия оценки эффективности плазмафереза можно применять определение активности экто-5'-нуклеотидазы в сыворотке крови.



Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Дагбашян С.С., Симонян Л.Г., Амирханян Е.С., Айнаджян А.О. Необходимость применения мембранного плазмафереза в лечении геморрагического васкулита // Журнал “Кровь”, Ереван, N1(7), 2008, с.22-28.
2. Симонян Л.Г. Изменение молекулярной организации эритроцитарных мембран при болезни Шейлена-Геноха // Журнал “Медицинская наука Армении”, Ереван, 2010, N1, с. 90-97.
3. Симонян Л.Г. Биохимические критерии оценки эффективности плазмафереза при геморрагическом васкулите // *ՀԱՅԿԱՍՏԱՆԻ ՀԱՆՐԱՊԵՏՈՒԹՅԱՆ ԳԵՄԱՏՈԼՈԳԻԱ ԵՎ ԻՏԻՄԱՏՈԼՈԳԻԱ*, 6, 2010, չգ 43-46:
4. Симонян Л.Г. Действие плазмафереза на иммунологические показатели при геморрагическом васкулите // Материалы международной конференции “Актуальные вопросы гематологии и трансфузиологии”, Ереван-Степанакерт, Журнал «Кровь», 1(10), 2010, стр.67-70.
5. Simonyan L.H., Daghbashyan S.S., Simonyan L.H. The study of membranous plasmapheresis action on rheological properties of blood in patient with hemorrhagic vasculitis // The International Journal of Transfusion Medicine “Vox Sanguinis”, XIXth Regional Congress of the International Society of Blood Transfusion /Eastern Mediterranean and Europe/, Cairo, Egypt, 2009, p.243.
6. Simonyan L.H., Daghbashyan S.S., Simonyan L.H., Khachatryan L.Ch. Changes of phospholipids level in the erythrocyte membranes in patients with hemorrhagic vaculitis using membranous plasmapheresis // The new Armenian Journal, Yerevan, volum 4, N3, Sep.2010, p.18.
7. Симонян Л.Г., Дагбашян С.С., Пепанян А.А., Симонян Л.Г. Эффективность мембранного плазмафереза при лечении больных геморрагическим васкулитом // Материалы международной конференции “Актуальные вопросы гематологии и трансфузиологии”, Ереван-Степанакерт, Журнал «Кровь», 1(10), 2010, стр.25.
8. Simonyan L.H., Daghbashyan S.S., Simonyan L.H. Changes of CIC level in patients with Henoch-Schonlein purpura using filtration plasmapheresis // XXXIII World congress of the international society of haematology, Jerusalem, Israel, october 10-13, 2010, p.198.



Անփոփում
ՀՀ ՍԱԿՏԱՆԻ ԱՄԵՐԻԿԱՆ ԿՈՄՊԵՆԻՅԱՆ ԱՆՏՐԱԿՆԵՐԵՐԻ
ԵՄԵՆԻ ԿՈՄՊԵՆԻՅԱՆ ԿՈՆՏՐԱԿՏԱՆԻ ԿՈՆՏՐԱԿՏԱՆԻ

Հետևազգի վասկուլիտը իմունոկոմպլեքսային հիվանդություն է, որի ժամանակ միկրոանոթները ենթարկվում են ասեպտիկ բորբոքման, անոթի պատի դեստրուկցիայի:

Հետազոտության նպատակն է հիմնավորել պլազմաֆերեզի օգտագործման անհրաժեշտությունը, որպես պաթոգենետիկ բուժման հիմնական կոմպոնենտ հեմոռագիկ վասկուլիտի ժամանակ: Միաժամանակ տրված է բուժական էֆեկտի համեմատական գնահատականը. մի կողմից պլազմաֆերեզի երկու հիմնական տեսակների՝ ցենտրիֆուգային և թաղանթային, մյուս կողմից՝ տրադիցիոն դեղորայքային թերապիայի ազդեցությունը:

Կլինիկական հետազոտությունները ցույց են տվել, որ պլազմաֆերեզն ունի բազմազործոնային ազդեցություն հեմոռագիկ վասկուլիտով հիվանդների վրա: Հետազոտված բոլոր 104 հիվանդների մոտ պլազմաֆերեզից հետո նկատվում է բոլոր կլինիկական և լաբորատոր ցուցանիշների լավացում: Դրական դինամիկան առավել շատ էր արտահայտված թաղանթային պլազմաֆերեզից հետո: Համեմատաբար պլազմաֆերեզի դրական բուժական էֆեկտի հետ, տրադիցիոն դեղորայքային բուժումից հետո նկատվում է ոչ այդքան արտահայտված դրական դինամիկա:

Պլազմաֆերեզի էֆեկտիվության լիարժեք գնահատման համար ցուցանիշների վերլուծությունը կատարվել է ոչ միայն կախված հիվանդության ձևից, այլ նաև ըստ ախտաբանական պրոցեսի ակտիվության աստիճանի:

Կլինիկական հետազոտությունների ցուցանիշները հեմոռագիկ վասկուլիտով հիվանդների մոտ թույլ են տալիս եզրակացնել, որ պլազմաֆերեզից հետո նկատվում է կլինիկական ցուցանիշների արտահայտված դրական փոփոխություններ բոլոր հետազոտված հիվանդների մոտ: Դրական փոփոխությունները առավել արտահայտված են հիվանդության պարզ ձևի և ախտաբանական պրոցեսի ակտիվության I-II աստիճանի ժամանակ: Էֆեկտիվությունը նաև կախված է պլազմաֆերեզի անցկացման մեթոդից՝ թաղանթային կամ ցենտրիֆուգային: Թաղանթային պլազմաֆերեզից հետո կլինիկական ցուցանիշների դրական դինամիկան առավել արտահայտված է:

Հետազոտությունների արդյունքները ցույց են տալիս, որ հեմոռագիկ վասկուլիտի զարգացումը ուղեկցվում է էրիթրոցիտների ինդիվիդուալ ֆոսֆոլիպիդների մակարդակի արտահայտված փոփոխություններով, ինչպես հիվանդության պարզ, անպես էլ խառը ձևի ժամանակ: Կատարած հետազոտությունները, ըստ հիվանդության պաթոլոգիկ պրոցեսի ակտիվության աստիճանի, ցույց տվեցին, որ առավել արտահայտված փոփոխությունները արձանագրվում են հիվանդության III աստիճանի ժամանակ: Պլազմաֆերեզից հետո, ինչպես թաղանթային, այնպես էլ ցենտրիֆուգային, նկատվում է

երիթրոցիտների թաղանթային ֆոսֆոլիպիդների քանակական և որակական բաղադրության արտահայտված նորմավորում: Հիվանդության պարզ ձևի ժամանակ բուժման ֆունի վրա նկատվում է ֆոսֆոլիպիդների բոլոր հիմնական դասերի մակարդակի լրիվ նորմավորում: Այդ փոփոխությունները առավել արտահայտված են այն հիվանդների մոտ, որոնց կոմպլեքսային բուժման մեջ կիրառվել է թաղանթային պլազմաֆերեզ: Նաև հետազոտվել են Mg^{2+} - և Ca^{2+} -ԱԵՖ-ազան և Էկտո-5'-նուկլեոտիդազան հեմոռագիկ վասկուլիտով հիվանդների մոտ տարբեր տեսակի բուժումներից հետո: Հիմնվելով հետազոտությունների արդյունքների վրա՝ կարելի է եզրակացնել, որ էրիթրոցիտների թաղանթում հեմոռագիկ վասկուլիտով հիվանդների մոտ տեղի է ունենում թաղանթա-առոցիացված ֆերմենտների ակտիվության արտահայտված ընկճում: Պլազմաֆերեզի օգտագործումից հետո նկատվում է հետազոտված ցուցանիշների նորմավորում:

Հետաքրքիր օրինաչափություն է դիտվում հեմոռագիկ վասկուլիտով հիվանդների մոտ Էկտո-5'-նուկլեոտիդազայի ակտիվության հետազոտության ժամանակ, որը դիտվում է որպես պլազմատիկ թաղանթի բիոքիմիական մարկեր և գտնվում է արտաքին լիպիդային շերտում: Հետազոտությունները ցույց տվեցին, որ ֆերմենտի ակտիվությունը նվազում է հիվանդության ակտիվության աստիճանի բարձրացմանը ուղիղ համեմատական:

Հեմոռագիկ վասկուլիտի ախտաճազման հիմքում ընկած է իմունային համակարգի խանգարումները, այդ պատճառով հետազոտվել է նաև իմունոգլոբուլինների ակտիվությունը: Հաստատված է, որ հիվանդության պարզ ձևի ժամանակ նկատվում է արյան մեջ շրջանառող իմուն կոմպլեքսների (ՇԻԿ) մակարդակի կտրուկ բարձրացում հիմնականում IgA-ի արտադրության արագացման պատճառով: Նկատվում է IgM-ի մակակնդակի ավելացում, այն ժամանակ, երբ IgG-ի կոնցենտրացիան իջնում է: Նույնատիպ օրինաչափություն է նկատվում հիվանդության խառը ձևի ժամանակ, բայց այս դեպքում ՇԻԿ-ի և Ig-ի քանակի փոփոխությունները ավելի ուժեղ են արտահայտված: Իմունային պատասխանի հումորալ մեխանիզմով հետազոտված ցուցանիշները վկայում են պլազմաֆերեզի օգտագործումից հետո լիովին իմունային կարգավորման մասին հեմոռագիկ վասկուլիտի ժամանակ: Թաղանթային պլազմաֆերեզը առավել ֆիզիոլոգիական է և թույլ է տալիս կարճ ժամկետներում (ի հաշիվ մեծ քանակի պլազմայի էքսֆուզիայի) ոչ միայն լիովին արգելակել իմունոախտաբանական պրոցեսի զարգացումը, այլ նաև զգալիորեն կարգավորում է էրիթրոցիտների թաղանթների կառուցվածքային և մետաբոլիկ ցուցանիշները՝ կանխարգելով միկրոցիրկուլյատոր խանգարումները և կոագուլյացիոն բարդությունները: Հիմնվելով այս ամենի վրա՝ կարելի է եզրակացնել, որ թաղանթային պլազմաֆերեզը առավել արդյունավետ բուժական մեթոդ է հեմոռագիկ վասկուլիտի ժամանակ:



SUMMARY

MEMBRANOUS PLASMAPHERESIS IN THE TREATMENT OF HEMORRHAGIC VASCULITIS

Hemorrhagic vasculitis is an immune-complex disease which leads to aseptic inflammation of microvessels with their walls destruction.

Observable growth of the disease, insufficient efficiency of existing methods of therapy causes necessity to search the new approaches for the treatment of these patients.

Biological effects of plasmapheresis are mediated through the multiple factors and include immunostimulatory, antiinflammatory and detoxicative effects.

We have aimed to research the necessity of the usage of plasmapheresis as the basic component of pathogenetic therapy in hemorrhagic vasculitis. At the same time we want to compare the therapeutic effect of two basic techniques of plasmapheresis – centrifugal and membranous, on the one side, and influence of traditional drug therapy - on another side.

Clinical research has shown that plasmapheresis makes multifactorial influence on patients with hemorrhagic vasculitis. There were marked improvement of all clinical symptoms and laboratory datas in all 104 patients after plasmapheresis. Positive dynamics has been more expressed after using membranous plasmapheresis. When we compare the therapeutic effect of plasmapheresis with traditional drug therapy, which was given in this disease, we have noticed that after drug therapy positive dynamics is not so expressed.

For the full estimation of efficiency of plasmapheresis the analysis of the datas has been done not only depending on the disease form, but also from the degree of activity of pathological process.

Thus, the results of research of the clinical data in patients with hemorrhagic vasculitis conclude that there are marked positive changes of clinical features in all patients with hemorrhagic vasculitis after plasmapheresis. The most expressed positive changes are observed in all patients with the simple form of disease, I - II degrees of disease activity. Thus, it is possible to conclude that efficiency of plasmapheresis depends on the form of disease, activity of pathological process, and also from a method of its using (centrifugal or membranous). Positive dynamics of clinical symptoms are more expressed when we use membranous plasmapheresis. Patients receiving only drug therapy improvement were not so expressed.

Results of research show that development of hemorrhagic vasculitis is accompanied by considerable changes of individual phospholipids level of erythrocytes both with simple and mixed form of disease. So, in the simple form of disease increase in percentage of lisophosphatidilcholines, phosphotidilinosites, phosphatidiletanolamines, phosphatidilserines, phosphatides acids and at the same time reduction of phosphatidilcholines is revealed. Thus, most expressed changes are registered at the 3rd degree of disease activity. Research concerning influence of correcting plasmapheresis reveals a number of features. It has been established that both membranous and centrifugal plasmapheresis essentially normalize qualitative and quantitative structure of

phospholipids of erythrocytes membranes. So, in patients with the simple form of illness after treatment almost full normalization of the levels of all main classes of phospholipids is observed. Thus changes are most expressed at the patients receiving membranous plasmapheresis.

Taking into account all the importance of normal functioning of membrano-connected enzymes in vital activity of erythrocytes, our further researches have been devoted to studying activity of the general Mg^{2+} - and Ca^{2+} -ATP-ase, and also ecto-5'-nucleotidase in hemorrhagic vasculitis before and after various variants of therapy. Patients with hemorrhagic vasculitis are characterised by depression of activity of membrano-associated enzymes in erythrocytes membrane. After plasmapheresis there is a normalization of all investigated features.

Interesting pattern of relationship is found during investigation of activity of ecto-5'-nucleotidase in hemorrhagic vasculitis, which is a biochemical marker of plasmatic membrane and located in external lipid layer. Our research is shown that the activity of enzyme decreases proportionally to increase in the degree of process activity.

Changes in the immune system underlie pathogenesis of hemorrhagic vasculitis, control over this system is very important both in definition of severity of the disease level and for the choice of tactics of therapy and an adequate estimation of its efficiency. According to our data, in the simple form of disease sharp increase in level of circulating immune complexes (CIC) in blood, mainly at the expense of increase production of IgA, is observed. The level of IgM is increases while concentration of IgG decreases. Similar changes are observed and in the mixed form of disease, but changes in the level of CIC and Ig are more expressed.

The main indication to plasmapheresis is autoimmune diseases, as it has immunomodulatory effect. A result of the data studying humoral-mediated mechanisms of immune answer in hemorrhagic vasculitis testifies achievement of complete immune regulatory effect after plasmapheresis.

Membranous plasmapheresis is more physiologic and allows in the shortest period (at the expense of the greatest volume plasma exfusion) not only completely inhibit development of immunopathologic processes, but also essentially stabilizes structural and metabolic characteristics of erythrocytes membranes, thereby preventing development of microcirculation disturbances and complications of coagulation.

Treatment of hemorrhagic vasculitis with filtrational plasmapheresis leads to normalization of all biochemical and clinical features. It is the most effective method of treatment in patients with hemorrhagic vasculitis.

