

УДК 576.3+576.8+616.1[®]

О. С. Воронкова

Дніпропетровський національний університет

РОЛЬ ТА МІСЦЕ АПОПТОЗУ В ПАТОГЕНЕЗІ АНТИФОСФОЛІПІДНОГО СИНДРОМУ

Огляд присвячено проблемам вивчення механізмів розвитку антифосфоліпідного синдрому. На сьогодні немає однозначної думки щодо цього питання. Метою роботи є розгляд та систематизація даних про роль та місце апоптозу в патогенезі АФС, а також про участь антифосфоліпідних антитіл в цьому процесі як посередників розвитку аутоімунної, судинної та акушерської патології.

This article is devoted to the problem of mechanism study of the antiphospholipid syndrome development. Nowadays there is no single mention of that issue. The purpose of our work is the data examination and generalization about the apoptosis place and role in APLS pathogenesis and about antibody antiphospholipid participation in this process as mediators of autoimmune development, vascular and obstetrics pathology.

Антифосфоліпідний синдром – це важке аутоімунне системне захворювання, що пов'язане з надлишковим синтезом антифосфоліпідних антитіл (аФЛа). Зараз аФЛа визначають як гетерогенну групу антитіл, реагуючих на мембранні фосфоліпіди. Більшість з цих антитіл належить до IgG- та IgM-класів [1; 3], рідше, як встановлено деякими дослідниками [1], до IgA-класу. Деякі дослідники вважають, що неможливо казати про істинний антиген [1], а деякі [3] називають кардіоліпін, і тому саме антикардіоліпінові антитіла отримали найбільше розповсюдження в діагностичній практиці, хоча і вважаються неспецифічним маркером, бо частота їх розповсюдження значно більше, ніж частота випадків АФС [1].

Важливо відмітити і те, що наявність аФЛа, то не завжди є маркер АФС. Іноді подібне антитілотворення можливе за умов дії екзогенних факторів (найчастіше відбувається стимуляція інфекційним агентом). У даному разі це не є аутоімунний процес і необхідне лікування лише від інфекції. Якщо через 6–8 тижнів не виявляють аФЛа, то діагноз «АФС» відпадає [1].

Клінічне визначення свідчить про те, що захворювання характерне венозними та артеріальними тромбозами, тромбоцитопенією та, окрім цього, можливе ураження багатьох систем органів, як-от: нервової, видільної. Виникає також дерматологічна, офтальмологічна, кардіологічна, акушерська та інші види патології [10; 13]. Так, ускладнення переважно виникають через розвиток тромбоемболії крупних судин різних органів. При ураженні судин легень розвивається недостатність органу, яка може призвести навіть до необхідності підключення до апарату штучної вентиляції легень. При офтальмологічних ураженнях найчастіше спостерігають розвиток оклюзії судин ока, що врешті може призвести до втрати зору. В кардіології спостерігаються випадки закупорки коронарних судин, що в майбутньому може стати причиною інфаркту міокарда, серцевої недостатності, порушень роботи клапанів. Серед неврологічних порушень можливий розвиток енцефалопатій, слабоумства, демієлінізуючої хвороби. Особливе місце АФС посідає і в гастроентерології: його вплив відмічено при патології печінки, при тромбозах органів черевної порожнини, при виникненні ішемії кишків. При тромбозі судин нирок відбувається загибель останніх, через що стає можливою і загибель пацієнта. Також патологічні зміни стосуються і надниркових залоз, що

призводить до змін у гормональному статусі і, враховуючи глобальне значення ендокринної системи для організму людини, очевидним стає згубний вплив АФС. Серед акушерських ускладнень спостерігається декілька різних проявів: невиношування вагітності, затримка розвитку плоду, гестози вагітних, стани еклампсії та прееклампсії у них тощо [1; 3].

Дещо інше визначення антифосфоліпідний синдром (АФС) має в лабораторній діагностиці. В даному разі під цим терміном розуміють групу аутоімунних зрушень, що характеризуються наявністю в крові в достатньо великому титрі антитіл до негативно заряджених фосфоліпідів, які знаходяться в плазмі [1; 3; 10]. Окрім цього, в лабораторії важливою характеристикою синдрому вважають порушення ряду параметрів зсідання крові, гіпокоагуляцію у фосфоліпід-залежних тестах, що виконуються на бідній тромбоцитами плазмі: тест із визначенням лебетоксового часу, каолінового часу та тромбоцитиновий тест [3].

Цікавим питанням постає механізм розвитку антифосфоліпідного синдрому. Єдиної думки щодо нього не існує, як взагалі не існує закінченої теорії про розвиток цієї хвороби. Деякі автори [8; 9; 10; 12] зараз вважають, що АФС є наслідком аномального перебігу апоптозу або порушень у функціонуванні імунної системи, чи порушень у системі гемостазу [6].

Апоптоз – це один з видів загибелі клітини, що є запрограмованим. Активація цієї програми можлива як в ушкоджених, так і в нормальних клітинах. Запуск програми відбувається за рахунок зовнішнього чи внутрішнього сигналу. В якості зовнішніх сигналів можуть виступати власне індуктор апоптозу – специфічна молекула (Fas-ліганд), молекули, що подібні до останньої за структурою, але через свої рецептори. Апоптоз активується і проникненням у клітину таких речовин, як гранзими, що виділяються цитотоксичними клітинами. Відбувається апоптоз у декілька стадій, а саме: активація процесу загибелі, деструкція клітини (спочатку руйнація ядра, а потім клітинної оболонки) та утилізація рештків, що можуть спричинити розвиток імунної відповіді, шляхом фагоцитозу.

Що ж стосується ендогенної стимуляції апоптозу, то в даному випадку мова йде про деградацію мітохондрій з виходом у цитозоль цитохрому. Іноді вважають, що при цьому загибель настає через енергетичне виснаження клітини [2].

Отже, повернемося до питання про механізм розвитку АФС. Відомо, що фосфоліпіди складають внутрішній шар біологічної мембрани [12]. Негативно заряджені фосфоліпіди в нормі відсутні на поверхні, а у внутрішньому шарі вони зорієнтовані всередину клітини [12]. Отже, в нормі фосфоліпіди не доступні для механізмів імунітету в якості антигенних детермінант.

При вмиканні програми апоптозу з клітиною зв'язується особливий фактор – $\beta 2$ -глікопротеїн-1 [9; 12]. Одні автори [10; 12] вказують на те, що це зв'язування призводить до перерозподілу негативно заряджених фосфоліпідів у цитоплазматичній мембрані клітини, внаслідок якого згадана група ліпідів мігрує до поверхневого шару мембрани, де, у комплексі з білками, стає мішенню для дії аФЛа. Цю думку було перевірено групою італійських вчених [14], які вивчали експресію кардіоліпіну на поверхні апоптотичних клітин (експресію власне вивчали на поверхні хроматографічно очищених фракцій цитоплазматичної мембрани). Виявлення кардіоліпін-вмісних антигенів проводилося за допомогою аФЛа, які було отримано від пацієнтів з АФС (фракцію цих антитіл також було очищено). Виявлено, що антикардіоліпінові антитіла (аКЛа) класу IgG, взяті від пацієнтів з АФС, зв'язуються з апоптотичними клітинами. Цитофлюорометрично встановлено, що кардіоліпін з'являвся на поверхні під час фрагментації ДНК.

Тобто, як вважають автори [14], винесення кардіоліпіну на поверхню, то є рання подія апоптозу, що є тригером для синтезу аФЛа *in vivo*.

Про тригерну дію фосфоліпідів мембрани при синтезі аФЛа згадують і австралійські вчені [5]. Вони виходять з того, що наявність активуючого антигену, то вже є мінімальна умова для синтезу антитіл чутливими аутореактивними В-клітинами. Стан популяції В-лімфоцитів (фаза онтогенезу) визначається спектром та розподілом активності цих клітин, які в свою чергу визначаються наявністю відповідного антигену.

Здатність до синтезу аутоантитіл визначається для В-клітин їх аутолерантністю. Деякі клітини відбираються ще на стадії дозрівання в головних органах імунної системи і гинуть також через апоптотичну загибель, а інші клітини, що мають здатність зв'язувати аутоантигени просто стають менш чутливими до них і циркулюють в організмі ніби у «сплячому» стані, але повністю такі клітини не знищуються, можливо, через необхідність їх у процесах підтримання гомеостазу [5]. Так, при зтиканні аутореактивного В-лімфоциту з відповідним антигеном (розпізнавання йде через BCR-В-клітинні рецептори) індукується синтез антитіл, які опсонізують апоптотичні тільця для поглинання макрофагом. Надлишкові антитіла циркулюють у крові і зв'язуються зі знов виникаючими апоптотичними тільцями, які опсонізують, і знову в дію включаються макрофаги [5; 8; 9; 10; 11; 12]. Це нормальний шлях апоптозу: аФЛа при цьому є в крові у невеличких концентраціях.

Іноді деякі дефекти призводять до того, що апоптотичні тільця не утилізуються макрофагами, а накопичуються в периферійних органах та тканинах. Це призводить до подальшої індукції синтезу аутоантитіл аутореактивними В-клітинами, що в свою чергу призводить до деградації тканин, де накопичені апоптотичні тільця [5]. Тобто аномалії апоптозу призводять до подальшої стимуляції імунної відповіді і концентрація аФЛа перевищує пороговий рівень, завдяки чому власне і відбувається розвиток патологічного стану, відомого як АФС [11].

Ще однією з гіпотез виникнення АФС, пов'язаною з апоптозом, є дефекти Fas-сигналізації. На думку авторів [7], у одних хворих на АФС порушення виявляються вже на етапі реакції між Fas-рецептором (FasR) та Fas-лігандом (FasL), іноді у таких пацієнтів є дефект каспази-10. Ці дефекти є генетично зумовленими і в стані гетерозиготи не проявляються. В експериментах з цього приводу розвиток аутоімунітету виявлено у мишей з мутаціями в генах FasR та FasL.

Однак слід згадати, що серед вірогідних причин розвитку АФС автори [10; 12] згадують переокиснення ліпідів, порушення мембрани, порушення регуляції молекул адгезії ендотеліальних клітин, дисфункцію антикоагулянтів, аномальне згортання крові. Що ж стосується апоптозу, то деякі автори [12] навіть вважають, що його роль можна звести лише до ролі мішені аФЛа. Але, зважаючи на те, що апоптоз – це процес, присутній в нормі у багатьох організмів та властивий для найрізноманітніших клітин, ми схильні вважати, що автори мали на увазі роль апоптозу саме в цьому процесі.

Але ж повернемося до механізмів виникнення АФС.

У нормі, як вже зазначалося вище, шлях апоптотичних тілець до макрофагів опосередкований через взаємодію спочатку з $\beta 2$ -глікопротеїном-1, а потім з аФЛа. Групою вчених з Мілана [8; 9] було встановлено, що опсонізація апоптотичних клітин є двостадійною: аФЛа необхідні для поглинання макрофагом, але вони можуть приєднатися до апоптотичних клітин лише за умов попереднього зв'язування з ними $\beta 2$ -глікопротеїну-1. Ці вчені дослідили групу хворих на

системний червоний вівчак і визначили в сироватці цих людей анти- β 2-глікопротеїн-1 [8], який перешкоджає нормальному перебігові процесу. Титри аФЛа при цьому зростали. Доведено, що в нормі β 2-глікопротеїн-1 приєднується на ранніх стадіях апоптозу, а аФЛа – на пізніх (вже після деградації ДНК) [9].

Стосовно механізмів розвитку тромбозів існують такі дані дослідників з Канади [6]: на ендотеліальних клітинах існує білок Hsp60 (heat-shock protein, молекулярна вага 60 кД). Переважно було досліджено хворих на системний червоний вівчак, але антитіла до цього білка було знайдено і у хворих з іншими аутоімунними захворюваннями. Було визначено, що при зв'язку цього білка зі «своїм» антитілом індукується апоптоз клітин ендотелію, що в свою чергу призводить до переміщення мембранних фосфоліпідів на поверхню. Автори [6] вказують на значний вихід назовні фосфатидилсерину, що завершується зв'язуванням на поверхні аФЛа, а це вже запускає тромботичний каскад, що власне і призводить до виникнення тромбу – одного з проявів АФС.

Торкнемося також питання про зв'язок АФС, апоптозу та звичайного невиношування вагітності (ЗНВ). Вчені з Німеччини [13] досліджували рівні розчинних HLA-DR (sHLA-DR) та FasL (sFasL) у різних груп жінок: здорових вагітних та невагітних жінок, вагітних з АФС та у жінок з такими ускладненнями вагітності, як прееклампсія та затримка росту плоду. Було встановлено, що у вагітних з АФС рівень sHLA-DR втричі більший, ніж у невагітних ($1,48 \pm 0,15$ мкг/мл проти $0,54 \pm 0,6$ мкг/мл відповідно, а в групі нормально вагітних цей рівень складав $0,74 \pm 0,13$ мкг/мл). Дослідники довели наявність позитивної кореляції споміж рівнями sHLA-DR та sCD95L, а також з рівнем aKLa IgG-класу. Вони вважають, що sCD95L може відігравати певну роль у патогенезі вагітності [13]. Що ж стосується механізму втрати плоду, то, спираючись на дані Є. Ф. Лушнікова [2], можна припустити, що sFasL не здатний активувати апоптоз, а титр аФЛа все одно зростає і, сягаючи патологічного рівня, призводить до розвитку АФС і втрати вагітності.

Завершуючи огляд, згадаємо ще про одне питання у зв'язку «АФС – апоптоз». Це питання про лікування АФС. Взагалі-то тема лікування АФС потребує окремого вивчення, бо варіантів терапії досить багато. Щоб розкрити їх, необхідно укласти окремий огляд, а тому в даній роботі ми торкнемося лише того способу лікування, що пов'язаний з індукцією апоптозу. Отже, одна з можливих схем терапії базується на застосуванні глюкокортикоїдів. Визначено, що вони можуть справляти дію на імунну систему двома шляхами. По-перше, вони здатні інгібувати синтез імуноглобулінів, в тому ж числі і аФЛа, які можуть відноситися до IgG-, IgM- та рідше до IgA-класів. По-друге, глюкокортикоїди здатні індукувати апоптоз у клітинах імунної системи. Переважно вплив їх стосується Т-клітин (причому різні субпопуляції реагують по-різному, важливо також і те, чи активована клітина. Неактивовані Т-клітини майже не реагують на введення глюкокортикоїдів), але й В-клітини (знов-таки активовані) чутливі до дії препаратів. Вважають, що апоптотична загибель під впливом глюкокортикоїдів відбувається також у популяціях еозино- та базофілів, а також моноцитів [4].

Таким чином, ми бачимо, що роль апоптозу в нормі та в патології досить велика. Як ми вже могли переконатися, місце апоптозу в розвитку АФС ще до кінця не з'ясоване, але деякі гіпотези, розглянуті вище, вже можуть стати базисом для доказових досліджень. Так, є гіпотези щодо можливих механізмів зростання титрів аФЛа за межі норми, процесів тромбоутворення при АФС, причин ЗНВ та можливостей лікування. Звичайно, при клінічних чи модельних дослідках можна

буде підтвердити чи спростувати ці передбачення і при значному накопиченні матеріалу укласти струнку теорію патогенезу АФС.

Бібліографічні посилання

1. Агаджанова А. А. Современные подходы к диагностике и лечению АФС при невынашивании беременности // Вестник Российской ассоциации акушеров-гинекологов. – 1999. – №2. – С. 37–48.
2. Лушников Е. Ф. Гибель клетки (апоптоз) / Е. Ф. Лушников, А. Ю. Абросимов. – М.: Медицина, 2001.
3. Решетняк Т. М. АФС: серологические маркеры, критерии диагностики, клинические проявления, классификации, прогноз / Т. М. Решетняк, З. С. Алекберова // Терапевтический архив. – 1998. – №12. – С. 74–78.
4. Cancer Medicine / D. W. Kufe, R. E. Pollock, R. R. Weichselbaum, R. C. Jr. Bast, T. S. Gansler. – Hamilton (Canada): BC Decker Inc., 2003.
5. Cook M. C. B-cell biology, apoptosis and autoantibodies to phospholipides // Thrombosis research. – 2004. – 114 (5–6). – P. 307–319.
6. Dieude M. Induction of endothelial cell apoptosis by heat-shock protein 60-reactive antibodies from antiendothelial cell autoantibodypositive systemic lupus erythematosus patients / M. Dieude, J. L., Senecal, Y. Raymond // Arthritis Rheumatology. – 2004. – Oct. 8, 50(10). – P. 3221–3231.
7. Janeway C. A. Immunobiology. The immune system in health and disease / C. A. Janeway, P. Travers, M. Walport, M. Schlomchic. – New-York: Garland publication, 2001.
8. Manfredi A. A. Apoptotic cell clearance in systemic lupus erythematosus. I. Opsonization by antiphospholipid antibodies / A. A. Manfredi, P. Rovere, G. Galati, etc. // Arthritis Rheumatology. – 1998. – Feb. 41(2). – P. 205–214.
9. Manfredi A. A. Apoptotic cell clearance in systemic lupus erythematosus. II. Role of β_2 -glycoprotein-I / A. A. Manfredi, P. Rovere, S. Heltai, etc. // Arthritis Rheumatology. – 1998. – Feb. 41(2). – P. 215–223.
10. Mansen J. J. Antiphospholipid syndrome / J. J. Mansen, D. A. Isenberg // International journal of Biochem and cell biology. – 2003. – Jul. 35 (7). – P. 1015 – 1020.
11. Pitteni V. Apoptosis and antiphospholipid antibodies / V. Pitteni, D. Isenberg // Seminar arthritis Rheumatology. – 1998. – Dec. 28(3). – P. 163–178.
12. Rauch J. Apoptosis and the antiphospholipid syndrome / J. Rauch, R. Subang, P. D'Aquill, J. S. Koh, J. A. Levine // Autoimmunity. – 2000. – Sep. 15 (2). – P. 231–235.
13. Rebmann V. Soluble HLA-DR and soluble CD₉₅ ligand levels in pregnant women with antiphospholipid syndrome / V. Rebmann, E. Ronin-Walknovska, O. Sipak-Szmigiel, A. Miklaszewicz, E. Czajkowska, H. Gross-Wilde // Tissue Antigens. – 2003. – Dec. 62 (16). – P. 536–541.
14. Sorice M. Cardiolipine on the surface of apoptotic cells as a possible trigger for antiphospholipid antibodies / M. Sorice, A. Circella, R. Misasi, V. Pitteni, T. Garofalo, A. Cirelli, A. Pavan, G. M. Pontieri, G. Valesini // Clinical experimental immunology. – 2000. – Nov. 122(2). – P. 277–284.

Надійшла до редакції 14.02.05